

REBIOL

REVISTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA



Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de Trujillo

Volumen 35, Número 1

Enero - Junio, 2015



ISSN: 2313-3171(En Línea)

REBIOL EN SU CUARTA ETAPA

Con el nombre de REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS se editó, en 1964, el primer número de la revista científica oficial de nuestra Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo: REBIOL, bajo la dirección del querido maestro Felipe Ancieta Calderón. Han transcurrido 49 años y nuestra Revista Científica sigue editándose gracias al esfuerzo de distinguidos colegas que confían sus artículos para su publicación. Esta constituye la primera fase y se caracterizó por que estuvo conformada por pocos números: escasamente dos, que correspondieron al Volumen I. Ello se debió a que la edición no surgía por falta de artículos, sino por lo difícil y costoso que era, pues el único medio de edición “elegante” era a través del uso de un único viejo linotipo que tenía que cumplir con los escritos de libros y revistas de toda la Universidad.

La segunda etapa corresponde a cuando entra en vigencia el sistema departamentalista en lugar del facultativo en la universidad peruana y un nuevo grupo de docentes del Departamento de Ciencias Biológicas asume la edición, le da el definitivo nombre de REBIOL y lo adscribe al departamento mencionado. Este grupo de docentes, con algunos cambios, logra la publicación de los volúmenes 2, 3, 4 y 5, compuestos cada uno de dos números con un promedio de cinco artículos por número, siempre con dificultades de apoyo económico y de apoyo logístico.

Cuando se restituye el sistema facultativo, el Decanato decide reeditar REBIOL y nombra un nuevo Comité Editor. Este, cumple con publicar el N° 1 del Volumen 6 en junio de 1986, con siete artículos y, como ahora se conoce, adscrita a la Facultad de Ciencias Biológicas. En esta tercera fase, cuya edición se hace con la ayuda inicialmente de las máquinas electrónicas y luego de la computadora, el Comité Editor le da el formato definido que hoy tiene la Revista y logra una más o menos regularidad en la edición, porque, siempre con los problemas del apoyo económico y logístico, tiene que unir dos números en uno para cumplir con su edición.

La cuarta etapa corresponde a la actual en la que, como se aprecia, la edición es solamente virtual. Debe señalarse que este modo de edición es poco costoso, permite publicar, por ello, mayor número de artículos y ha permitido actualizarnos en la edición y gracias a ello se ha logrado obtener su N° ISSN, que significa que nos conocen en distintas partes del mundo. Sin embargo, se requiere cumplir otras metas importantes, por ejemplo: (i) editar mayor número de artículos de instituciones diferentes a la Facultad de Ciencias Biológicas, (ii) someter los trabajos ya no al Comité Editorial sino a árbitros, aspecto que no es fácil debido a que conseguirlos, que deben ser de preferencia extranjeros, no es fácil porque no se ha contemplado a la labor de arbitraje como un mérito dentro del Reglamento y (iii) procurar la edición de cuatro números por volumen, requisito indispensable para poder aspirar a su indización internacional.

Seguimos considerando que REBIOL está cumpliendo con su compromiso de difundir lo que en materia de investigación se realiza en nuestra Facultad, la mejora planteada se logrará, sin embargo, con el esfuerzo, entusiasmo y cooperación de todos los que conformamos la Facultad. Esto se requiere para producir una mayor cantidad y calidad de trabajos de investigación y continuar con la edición.

Foto de la portada: "Algodón peruano" *Gossypium barbadense* var. *peruvianum* (Cav.) Mauer, family: Malvaceae Juss., genus: *Gossypium* L.. Foto tomada por Luis Pollack Velásquez.

César A. Jara
El Editor

REBIOL

Volumen N° 35, Número 1, Enero-Junio, 2015

Contenido/Contents

ARTÍCULOS ORIGINALES/ORIGINAL PAPERS

- **Impacto en la salud del uso de biocombustibles en el interior de las viviendas de la comunidad nativa de Lamas, San Martín, Perú: 2013** / Impact on health of biofuels use in the interior of the houses of the Lamas (San Martin, Peru) native community: 2013. Angelita T. Cabrera C., Anselmo H. Carrasco S. y Jackeline Cipriano C.....Pag. 6
- **Efecto del plomo y cobre en los cambios de color y crecimiento de la raíz y tallo de *Spilanthus urens* en condiciones de laboratorio** / Effect of lead and copper on color changes and growth of the roots and stems of *Spilanthus urens* under laboratory conditions. Santos E. Padilla-Sagástegui y Chris C. Valderrama-Pereyra.Pág. 14
- **Caracterización físico-química y bacteriológica del agua marina en la zona litoral costera de Huanchaco y Huanchaquito, Trujillo, Perú.** / Physico-chemical and bacteriological characterization of seawater in the coastal zone Huanchaco and Huanchaquito, Trujillo, Peru. Geysy P. Trujillo-López y Ana M. Guerrero-Padilla..... Pág. 23
- **Actividad antagonista in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinérea*.** / Antagonistic in vitro activity of *Clonostachys rosea* on *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* and *Botrytis cinérea*. Walter Flores-Bazauri, Julio Chico-Ruíz y Lisi Cerna-Rebaza.....Pág. 34
- **Efecto citotóxico de Tartrazina en el índice mitótico de células meristemáticas de *Allium cepa*.** / Cytotoxic effect of Tartrazine in the mitotic index of meristematic cells of *Allium cepa*. Lam Ulloa Carbajal, Fátima Zavala de la Cruz y Manuel Sisniegas.Pág. 43
- **Efecto de una dieta rica en carne de pescado y aceite de maíz sobre el perfil lipídico de jóvenes Universitarios voluntarios.** / Effect of a diet rich in fish meat and corn oil on the lipid profile of young university-volunteers. Walter Obeso Terrones, Oscar Panta Guardado, Marina Uribe Orellana y Myriam Obeso Uribe.Pág. 49
- **Eficacia de la ingesta de aceituna, *Oleo europea*, sobre el perfil lipídico en adultos jóvenes.** / Effectiveness of *Oleo europea* intake on serum lipids in young adults. Walter Obeso Terrones, Oscar Panta Guardado, Marina Uribe Orellana y Myriam Obeso Uribe Pág. 55

- **Producción de pectinasas por *Bacillus* spp. a partir de cáscaras de naranja y de toronja como fuente de carbono.** / Pectinase production by *Bacillus* spp. from orange and grapefruit peels as a carbon source. Julio Arellano, Steban Ilich, Marco Salazar, Icela Rodríguez, Patricia Torres y Willman Alarcón. Pág. 62
- **Sensibilidad antibacteriana de cultivos de *Listeria* proveniente de lugares de expendio de pescado de mercados de la ciudad de Trujillo (Perú).** / Antibacterial sensibility of *Listeria* cultures isolated places of fish-expenditure of markets from Trujillo city (Peru). Pedro Mercado-Martínez, Yulissa L. Moreno-Córdova. Pág. 70
- **Eclosión de huevos de *Diphyllobothrium pacificum* en agua de mar a valores de pH modificados.** / *Diphyllobothrium pacificum* eggs hatching in seawater at pH values modified. Alice Barranzuela, Carmen Benites, Beatriz Guevara, Mayra Gutiérrez, Angie Julca y César A. Jara Pág. 77
- **Efecto repelente del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), bajo condiciones experimentales.** / Repellent effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) endosperm-oil in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), under experimental conditions. Judith Roldán Rodríguez, Richar Morales Rodríguez Y Gisela Otiniano Cerna..... Pág. 82
- **Producción de semilla de *Pterophyllum scalare* "pez ángel" en sistema cerrado, Trujillo-Perú.** / Seed production of *Pterophyllum scalare* "angelfish" in closed system, Trujillo-Peru. Alina Zafra Trelles y Kriss Vela Alva..... Pág. 91
- **Tallas de comercialización y porcentaje de juveniles de la pesca artesanal en los mercados de los distritos El Porvenir y La Esperanza (Trujillo, Perú). 2014.** / Sizes marketing and juvenile percentages of artisanal fisheri in the Markets from El Porvenir and La Esperanza Districts (Trujillo, Peru). 2014. Bilmia Veneros Urbina, Elena Icochea Barbaran y Geiner Bopp Vidal. Pág. 99
- **Flora vascular de los humedales Tres Palos, Ascope, Perú, 2013.** / Vascular Flora of Wetlands Tres Palos, Ascope, Peru, 2013. Katia L. Monzón Liceral y Freddy Peláez Pág. 108

POLITICA EDITORIAL

- Guía para los autores. Pág. 117



Impacto en la salud del uso de biocombustibles en el interior de las viviendas de la comunidad nativa de Lamas, San Martín, Perú: 2013.

Impact on health of biofuels use in the interior of the houses of the Lamas (San Martin, Peru) native community: 2013.

Angelita T. Cabrera C., Anselmo H. Carrasco S. y Jackeline Cipriano C.
Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

El uso de leña para la preparación de alimentos es una costumbre ancestral en zonas rurales del Perú que se mantiene vigente, sin embargo, aún no se han estudiado en muchas de esas zonas sus repercusiones en la salud de la población. La presente investigación se realizó en 168 viviendas del "Centro poblado el Wayku", del distrito y provincia de Lamas (Departamento de San Martín, Perú) durante el 2013, a fin de determinar las repercusiones en la salud de la población del uso de la leña como biocombustible, a través de una entrevista personal y una encuesta casa por casa. Se encontró que: la población está compuesta en su mayoría por adultos (51%) seguida por niños menores de cinco años (41%), el 82% de las familias utilizan leña para cocer sus alimentos (aproximadamente 5,94 kg de leña/día, es decir, 2.17 T/año, con una emisión a la atmósfera 3,96 T/año de CO₂), las viviendas en su mayoría (67%) carecen de ventanas y la cocina no está en una habitación aparte y que el 86,4% presentan alguna enfermedad respiratoria. Se concluye que las tales dolencias respiratorias están directamente relacionadas ($p < 0,05$) con: (i) la edad de las personas, (ii) la ventilación de la vivienda, (iii) la ubicación de la cocina, (iv) el tipo de combustible y (v) con la presencia o ausencia de chimenea.

Palabras clave: biocombustibles, cocinas mejoradas, calidad del aire

ABSTRACT

The use of firewood for food preparation is an ancient custom in rural areas of Peru which remains valid, however, have not yet been studied in many of these areas its impact on population health. This research was conducted in 168 homes of "village center the Wayku" district and province of Lamas (Department of San Martin, Peru) during 2013 to determine the impact on the health of the population of use wood as biofuel, through a personal interview and a house to house survey. It was found that: 82% of households use firewood to cook their food (about 5.94 kg of wood/day, ie 2.17 T/year, with an air emission 3.96 T/year of CO₂), housing mostly (67%) has no windows and the kitchen is not in a separate room and 86.4% have a respiratory illness. It was concluded that such respiratory ailments are directly related ($p < 0.05$) with: (i) age of individuals, (ii) ventilation of the home, (iii) the location of the kitchen, (iv) fuel type and (v) the presence or absence of fire.

Keywords: biofuels, improved stoves, air quality

INTRODUCCIÓN

Miles de personas de poblaciones indígenas de América Latina y El Caribe, además de tener muchas de sus necesidades básicas insatisfechas, están expuestas al riesgo de la contaminación del aire interior de sus viviendas generado por la quema inadecuada de biomasa, lo cual constituye una gran preocupación para la Organización Panamericana de la Salud¹. En efecto, estudios desarrollados en países de América (Guatemala, México, El Salvador, Perú) y Asia (China, India y Tailandia) encuentran relación entre contaminantes del aire interior de las viviendas provenientes de la quema de biomasa y carbón, con los efectos adversos en la salud de la población expuesta² y se ha estimado en 400 millones de niños expuestos, con aproximadamente dos a cinco millones de muertes prematuras^{3,4,5,6}.

La combustión de la biomasa en fogones abiertos se da de manera incompleta e incontrolada y genera, por ello, una gran cantidad de partículas y gases contaminantes, de los cuales, 17 son consideradas "contaminantes prioritarios" por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), para las cuales existe evidencia de toxicidad: más de catorce compuestos carcinógenos, seis tóxicos para los cilios y agentes mucocoagulantes y cuatro precursores del cáncer⁷.

Los productos de la combustión de biocombustibles son, el monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre (SO₂), dióxido de nitrógeno (NO₂), material particulado (PM), hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs) y contaminantes orgánicos volátiles (COV), que pueden producir efectos indeseados en la salud los cuales y han sido divididos en siete categorías: infecciones respiratorias agudas, consecuencias adversas en el embarazo (nacimiento prematuro, muerte neonatal, bajo peso al nacer), cáncer al pulmón, enfermedades crónicas al pulmón (bronquitis crónica y asma), enfermedades asociadas al corazón, cáncer del tracto nasofaríngeo y de la laringe, enfermedades oculares y tuberculosis pulmonar^{8,9}.

Se ha determinado que muchos de los contaminantes producidos por los biocombustibles caseros (leña en particular) son similares a los producidos por el humo del tabaco y, según la EPA, es 12 veces más carcinogénico: si sólo durante una hora se quema 10 Lb de madera se genera 4.300 veces más carcinogénico policíclico e hidrocarburos aromáticos que 30 cigarros^{10, 11}. Entonces, el tiempo de exposición, la vulnerabilidad, la edad (los niños son más vulnerables), el sexo, el estado socioeconómico, la historia clínica y el estilo de vida son algunos factores determinantes que influyen en la vulnerabilidad de una persona^{12,13,14,15,16}.

Así, en México, se halló asociación entre la tuberculosis y el uso de la biomasa como combustible para cocinar¹⁷; en El Salvador, por su lado, se encontró la asociación entre el combustible utilizado para cocinar con diversos problemas respiratorios y se observó una diferencia altamente significativa de riesgo de padecer tos si el sujeto estaba expuesto al humo de la leña, en comparación al que usaba gas natural para cocinar¹⁸.

Las poblaciones más pobres del Perú usan leña como fuente primaria de energía; en efecto: nueve de cada 10 personas dependen de la biomasa como fuente principal de combustible, el 30 % cocinan y se calientan con leña, y el 70 % de la población de zonas interandinas y alto andinas usa biomasa para calefacción, cocción y otras labores artesanales y costumbristas¹⁹. El departamento de San Martín tiene una población rural del 37,1% (integra el tercer grupo de los departamentos que tienen entre 24,1 y 31% de su población pobre), 22,8% de desnutrición crónica y el 34,9% de la población utiliza leña, hojas secas, tusas de maíz etc., para preparar sus alimentos, constituyendo esta condición un factor de riesgo para la salud de las personas, quienes se hallan expuestas al humo generado por la quema de esta biomasa en ambientes con escasa ventilación^{20,21}. Con estos antecedentes, la Universidad Cayetano Heredia del Perú implementó una habitación simulando una vivienda y efectuó mediciones de CO, SO₂ y PTS, producto de las emisiones de la combustión de briquetas de carbón mineral y vegetal, kerosene, gas propano y carbón vegetal: las concentraciones halladas de CO, SO₂ y PTS sobrepasaron los valores de las normas de calidad de aire en interiores tomadas como referencia; asimismo, Cabrera²³ encontró una correlación significativa entre el incremento de las enfermedades respiratorias y la ausencia de chimeneas, así como con el tipo de combustible y la edad de la población de Huamachuco²³.

A nivel mundial, el empleo de biomasa como combustible no sólo causa efectos adversos a la salud humana, sino también tiene consecuencias negativas para el ambiente, ya que el consumo de leña implica la extracción indiscriminada de forestales, que ocasionan deforestación, erosión, modificación de cuencas hidrográficas, pérdida de biomasa que regenera los suelos, así como la emisión al ambiente exterior de gases contaminantes de efecto invernadero, precursores de ozono, que conllevan impactos al ambiente global como los cambios climáticos, el agotamiento de la capa de ozono o lluvia ácida²⁴.

El centro poblado comunidad quechua “Wayku” cuenta con una población de 1106 habitantes, de los cuales, 78 son menores de tres años; de éstos el 40.5% padece de desnutrición aguda, el 29.4% de desnutrición crónica, y el 6.08% padece de enfermedad diarreica aguda (EDA) y/o infección respiratoria aguda (IRA)²⁵. Por lo tanto, con el propósito de conocer el grado de contaminación del aire en ciudades de la selva peruana a fin de que se tomen medidas preventivas y evitar el deterioro de la salud de la población, se diseñó una investigación en el Centro Poblado Wayky (Lamas, San Martín, Perú) en el 2013, dirigida a: (i) determinar la composición de la población, (ii) relacionar el uso de leña como biocombustible en el interior de las casas con la presencia de enfermedades respiratorias y determinar los factores de riesgo, (iii) cuantificar el uso de la leña por día, mes y año y la cantidad de CO₂ emitida a la atmósfera por el uso de biocombustibles internos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Area de estudio

La investigación se realizó en el centro poblado el “Wayku” que está ubicado en el distrito y provincia de Lamas, en la zona norte del Perú, entre los 310 a 920 msnm en el Departamento de San Martín, a 20 km de distancia de Tarapoto, la capital de Departamento: 6°25′25.26″S y 76°31′22.44″O²⁸. Es el principal **centro étnico** el Poblado Menor Kechwa Wuayku, también denominado como el Barrio del Wayku, el cual se encuentra próximo a la zona urbana de Lamas. En el barrio del Wayku se encuentra un gran grupo de descendientes de los Pocras y Hanan Chancas los que aún conservan el idioma Kechwa lamista (Quechua Chanca o Ayacuchano con mezcla de Cahuapana), donde además desarrollan sus actividades festivas y familiares. Esta localidad se caracteriza por su clima tropical y temperaturas de promedio de 21 a 23°C durante todo el año, respecto a las estaciones, en verano se caracteriza por sus temperaturas suaves y el clima húmedo de la zona, mientras que en invierno es frecuente sus precipitaciones²⁹.

Población

El universo muestral estuvo conformado por todos los habitantes del centro poblado el “Wayku” habitantes durante el 2014, correspondiendo 1106 habitantes, agrupados en 221 familias con un promedio de 05 integrantes por familia incluidos los padres. El muestreo fue el aleatorio simple y la muestra (n) fue deducida mediante la siguiente fórmula³⁰

$$n = \frac{NZ^2pq}{h^2N + Z^2pq}$$

Donde:

n = # de viviendas para el estudio.

P = proporción característica de interés ($q = 1 - p$) = 0.50

Z = 1.96 con un grado de confianza del 95%

N = # total de viviendas del Wayku (221)

h = error permitido (5%)

Se ha considerado el valor máximo de “ n ” haciendo $p = 0.50$.

Remplazando:

$$n = \frac{(221)(1.96)^2(0.50)(0.50)}{(0.05)^2(221) + (1.96)^2(0.50)(0.50)}$$
$$n = \frac{221 * 3.84 * 0.25}{(0.0025 * 221) + (3.84 * 0.25)}$$
$$n = \frac{212.16}{1.5125}$$

$n = 140$ viviendas. A esta cantidad, se le agregó un 20% del total para el caso de familias que no quisieran dar información o eliminar algunas encuestas por ser observaciones sospechosas. Quedando el tamaño de muestra en **168 viviendas**, que se seleccionaron de manera aleatoria del área de estudio.

Recolección y análisis de datos

Con la finalidad de obtener información sobre las cantidades y usos de leña, se realizó un viaje en el mes de junio del 2013, principalmente en los meses en que el clima es bueno para viajar y desplazarse al centro poblado el “Wayku”. Se recolectó datos primarios obtenidos directamente de los habitantes que conforman la muestra de estudio, es una información de primera mano y específica para nuestro estudio. Para recolectar información relacionados con las variables de estudio, específicamente sobre las cantidades y usos de leña, así como las costumbres para cocinar, se aplicaron encuestas tipo cuestionarios según la propuesta por la Dirección de Salud Ambiental (DESA, 2008) “Metodologías para el recojo de información para una Evaluación de la Calidad de Aire Intradomiciliario”. Así mismo, para determinar los impactos sobre la salud de las personas por exposición al CO en interiores y estimar la tasa de deforestación de los bosques se recurrió a datos primarios provenientes del estudio. Se cuenta con un modelo matemático, para determinar la tasa de deforestación. En consecuencia, se usó la estrategia de establecer una o dos preguntas respecto al número de rajas de leña que utilizan diariamente.

Variables del estudio

Se ha considerado las siguientes variables de interés a desarrollar la encuesta:

En los Hogares: tipos de cocina, tipo de combustible, cantidad de combustible que usa diariamente para cocinar, enfermedades respiratorias que se diagnosticaron en el último año y si son niños, adultos o ancianos las personas que se enfermaron, cuantas personas viven en casa, con qué frecuencia abre sus ventanas exteriores. **En la Vivienda:** cuantas habitaciones y ventanas tiene la casa, la cocina tienen chimenea o alguna forma de escape de los humos o gases que produce, la cocina está en una habitación independiente, si la vivienda está cerca de una avenida, carretera etc. y de la entrevista a profundidad: número de habitantes por hogar.



Fig. 1: Encuesta a los miembros de la comunidad "Wayku" (Lamas, San Martín, Perú), 2013. (izquierda). Vivienda de la misma comunidad sin ventanas (derecha).

RESULTADOS

Características de la Población

Del total de la población estudiada (874 personas), el 41% corresponde a niños menores de 5 años, el 51% a adultos y 7.5% a adulto mayor.

Salud

De las 168 familias a las que se les aplicó la encuesta, el 48.5% presentó al menos un miembro con al menos un síntoma de una enfermedad respiratoria. La enfermedad respiratoria más frecuente fue la gripe con un 34.6 % seguida del asma con un 32.9% (Tabla 1). Cabe mencionar que se encontraron tres casos de tuberculosis y un caso de cardiopatía.

Los niños menores de cinco años conformaron la población más sensible ($p < 0,05$) para este tipo de enfermedades respiratorias, con un 47.86 % fueron niños menores de 5 años. Se encontró que algunos niños pequeños frecuentan la cocina por estar cerca de la madre, o los padres acondicionan una hamaca para tenerlo cerca cuando la madre prepara sus alimentos, la permanencia de los niños menores de 5 años cerca de la madre, incrementa los riesgos para contraer una enfermedad respiratoria (Fig. 2).

Tabla 1: Frecuencia de enfermedades respiratorias, según edad, en la población de Wayku (Lamas, San Martín, Perú), 2013.

	Niños		Adultos		Ancianos		Total de personas con enfermedad	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Enfermedad respiratoria	112	47.86	102	43.59	20	8.55	234	26.8
Rinitis	39	34.8	13	12.7	0	0	52	22.2
faringitis	6	5.4	13	12.7	5	25	24	10.3
Asma	23	20.5	39	38.2	15	75	77	32.9
Otros (gripe)	44	39.3	37	36.3	0	0	81	34.6
Total de encuestados	362	100	446	100	66	100	874	100.0
%	41.4		51		7.6		100	



Fig. 2: Participación de los niños en la cocina, en la población Wayku (Lamas, San Martín, Perú), 2013.

Frecuencia de abrir sus ventanas exteriores

El 67.3 % de las familias carecen de ventanas sus viviendas, de los cuales el 52% de las familias presentaron algún síntoma de enfermedad respiratoria ($p < 0,05$).

Tipo de combustible para cocinar

De las 168 viviendas encuestadas, el 82 % usan leña, el 12 % usan gas y el 6 % de la población utilizan de manera combinada los dos combustibles, habiéndose calculado que los valores son significativamente distintos ($p < 0,05$).

Consumo de leña por familia

Se encontró que el consumo de leña fue, en promedio, de 5.9 kg/día, 41.5 kg/semana y 178.2 kg/mes y que *Nectandra longifolia* “moena”, *Schizolobium parahyba* “pino chuncho” o “pashaco” y *Calycophyllum spruceanum* “capirona” son las especies mayormente usadas.

Estimación de la cantidad de CO₂ emitida a la atmósfera^{26, 18}

Teniendo en cuenta a Dieter Saifert (2002), la combustión de un kilogramo de leña emite 1,83 kg de CO₂ eso se debe a que en la leña la mitad de masa es carbón (C) y si la relación entre el peso molecular del CO₂ y el C es de 44/12 entonces, 1 kg de leña produce 0,5 (44/12 kg de CO₂) = 1,83 kg de CO₂. La equivalencia entre el carbono y el CO₂ es:

$$\frac{\text{peso molecular del CO}_2}{\text{peso molecular del C}} = \frac{44 (\text{para el CO}_2)}{12 (\text{para el C})} = 3,667$$

Entonces si en cada kilogramo de leña el 50% es carbono (C), entonces la razón será de 3,667 x 0,5 = 1,83 kg de CO₂/kg de leña.

Considerando los resultados de la tabla 8, en promedio una familia de 5 personas que habita en el centro poblado del “Wayku” consume 2 168,1 al año entonces la cantidad de CO₂ que emite la familia es de:

Masa de CO₂ = 2 168,1 x 1,83 = 3 967,62 kg/año = 3,96 t/año

La masa total Mt de CO₂ que emiten las 168 familias = 3,96 x 168 = **665,28 t/año**

DISCUSIÓN

La información revisada respecto al uso de leña para cocer los alimentos, concluye que se tiene una relación muy fuerte entre la presencia de enfermedades respiratorias y el uso de este tipo de combustible.

Los efectos adversos a la salud que pueden ocasionar la exposición al humo de la leña, han sido estudiados por Monti y Corra (2008) ellos reportan que los niños son más vulnerables que los adultos a la acción de sustancias tóxicas del ambiente; coincidiendo con el presente estudio, en la cual son los niños menores de 5 años, son los más sensibles a la contaminación del aire que hay en sus viviendas. Los cuales, pasan un mayor número de horas con la madre cuando prepara los alimentos, de igual manera lo afirma Cabrera, A. (2010, 2012) en los trabajos realizados en Huamachuco y el Sauce respectivamente.

La presencia de enfermedades respiratorias se debe a la inflamación o irritación de la faringe, rinitis y asma, producida por las partículas inferiores a 10 μ generadas por la combustión de la leña, la mayor parte de la población estudiada ha sufrido de gripe, seguido de rinitis, asma y escasos enfermos con faringitis.

La cobertura o entorno de las viviendas en otros estudios, se ha visto que influye directamente en la presencia de este tipo de enfermedades, sin embargo para el caso del “Wayku” no se ha encontrado algún tipo de asociación, habiéndose realizado el análisis estadístico se encontró que eran variables muy independientes.

Respecto al uso de leña por familia se encontró que; el 82% de las familias utilizan leña para cocer sus alimentos, el valor es mayor que el reporte que realizó la OMS (2011) para San Martín de 34,9% y mayor que los valores reportados para la sierra del Perú por así: Ruiz (2001), que considera que el 49 % de los hogares de la sierra del Perú utilizan leña para cocinar y Cabrera (2010) que encontró que el 59% de las familias de la ciudad de Huamachuco utilizan leña, constituyendo esta condición un factor de riesgo para la salud de las personas, quienes se hallan expuestas al humo generado por la quema de esta biomasa,

dado que existe una asociación significativa, según el análisis estadístico realizado. Estudios realizados previamente demuestran también una fuerte correlación con los combustibles utilizados¹⁶.

El departamento de San Martín, tiene una población rural del 37,1%, e integra el tercer grupo de los departamentos que tienen entre 24,1 – 31% de su población pobre, tiene un elevado índice de mortalidad infantil de 26 y en la niñez de 36 por cada mil nacidos vivos, respecto al índice nacional que es de 16 y 26 respectivamente¹². La condición de pobreza que se encontró en las familias del Wayku explica el uso de combustibles baratos como la leña. La mayor parte de las familias el 90% se dedican a la agricultura (“sacha-inchi” y “café”) y el 10% viven del turismo vendiendo artículos de artesanía. Incrementando la desnutrición crónica que alcanza un 22.8% en San Martín².

En la selva peruana, los factores geográficos y climatológicos como la temperatura debería de alguna manera permitir que las viviendas sean frescas y ventiladas, tal como se puede observar en la mayoría de ciudades de la selva; sin embargo, las costumbres del centro poblado del “Wayku” vienen de generación en generación como la construcción de sus viviendas de barro, pero carentes de ventanas (67,26%). De este conjunto de familias el 52% de ellas tienen alguna enfermedad respiratoria, incrementando directamente la cantidad de familias con enfermedades respiratorias. Los resultados del análisis estadístico muestran una correlación entre estas variables, así mismo, el hecho de que la cocina este o no en ambiente aparte.

Otro problema que se está evaluando a nivel global, es la emisión de Gases de Efecto Invernadero, debido al proceso de combustión incompleta que se da durante la quema de biomasa, que genera en mayor porcentaje CO y CO₂, NOx entre otros. Cabe señalar que si bien las emisiones que se generan en una vivienda tienen impacto directo sobre la población expuesta en el interior de la misma, sin embargo, también tienen su impacto a nivel global coincidiendo con la EPA⁶. En el presente estudio se realizaron los cálculos y se determinó que las 168 familias encuestadas producen una masa total de CO₂ de 665,28 toneladas por año.

En algunos lugares como India, Guatemala y otros países, ayudan con el problema de la contaminación en interiores^{6, 11,23} implementando “cocinas mejoradas”; sin embargo, para lugares rurales de la selva peruana, me atrevo a recomendar un cambio de combustible podría ser por ejemplo “cocinas con energía solar” o utilizar “gas”, aparte de la recomendación anterior habría que agregar la ventilación en las viviendas, con los que hay una relación muy significativa.

En consecuencia, es preciso adoptar medidas para promover el uso de combustibles más limpios (como el gas), una gestión más eficiente de la energía doméstica mediante la aislación de la cocina en otro ambiente aparte, ventilación de las viviendas diariamente y otro tipo de medidas. Cuando estas medidas comiencen a traducirse en una reducción de las emisiones y concentraciones anuales, los beneficios para la salud comenzarán a notarse de manera inmediata.

CONCLUSIONES

- La calidad del aire interior de las viviendas es influenciada por las fuentes de contaminación interior y las costumbres de la familia.
- Con relación a los impactos en la salud, el 48.51% de los hogares entrevistados, alguna persona de la familia tuvo algún síntoma de una enfermedad respiratoria como: rinitis alérgica, bronquios, asma u otros como la gripe, la información obtenida permite establecer una relación específica entre las enfermedades respiratorias y la edad de las personas. Siendo los niños menores de 5 años la población sensible o de mayor riesgo para este tipo de contaminación de interiores. Del total de las personas que tuvieron alguna enfermedad respiratoria, el 47,86% fueron niños, y el 8,55% fueron adulto mayor.
- Existe una asociación significativa de las enfermedades respiratorias y el tipo de combustible, el mayor número de casos (86,5%) con problemas respiratorios son las familias que usan leña
- Cada familia consumen en promedio 5,94 kg/día de leña, lo que hacen 2, 168 toneladas/año, cantidad considerable que incrementan la deforestación del lugar. La masa total de CO₂ que emiten a la atmósfera las 168 familias es de 665,25 t/año.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud – Organización Mundial de la Salud (OPS-OMS) 2003. Sistemas tradicionales de salud en América latina y el caribe: Información de base. Washington. 1999.
2. Korc M, Quiñones M. Diagnóstico comparativo de la calidad del aire de los interiores de las viviendas de dos poblaciones indígenas del Perú. CEPIS Perú. 2003.
3. Kirk R. Indoor air pollution in developing countries: growing evidence of its role in the global disease burden. The International Conference on Indoor Air Quality and Climate. Nagoya. 1996.
4. Organización Mundial de la Salud –OMS-. Calidad del aire y salud, Nota descriptiva N°313 Septiembre. EE.UU. 2011.
5. International Institute for Applied Systems Analysis –IIASA-. Global Energy Assessment. Laxenburg, Austria: International Institute for Applied Systems Analysis. 2012.
6. Unger N, Bond T, Wang J, Koch D, et al. Attribution of Climate Forcing to Economic Sectors. Proceed Nat Acad Sci, 2010.
7. Bruce N, Pérez-Padilla R, Albalack, R. Indoor air pollution in developing countries: a major environmental and public health challenge. Bull WHO. 2000.
8. Lionel D. Contaminación del aire en espacios exteriores e interiores en la ciudad de Temuco. Ambiente y Desarrollo, 1997; 13(1): 70-78.
9. Naeher L, Brauer M, Lipsett M. Woodsmoke Health Effects: A Review. J Inhalation Toxicol, 2007; 19(1): 67-106.
10. Agencia de Protección Ambiental (EPA). Calidad del aire interior. 2009.
11. Organización Panamericana de la Salud-Organización Mundial de la Salud (OPS-OMS). Informe de la 37° sesión del Subcomité de Planificación y Programación del Comité Ejecutivo de la OPS – OMS; Punto 7 “La familia y la salud” del 11 de Febrero de 2 003. EE.UU. 2003.
12. Smith KR, Peel JL. Mind the Gap. Environmental Health WHO, 2010
13. Monti V, Corra L. La Salud Ambiental de la Niñez en la Argentina: Evaluación de la Exposición a Plaguicidas Organofosforados en Niños de Colonos Tabacaleros. Argentina. 2008.
14. Parikh J, Bhattacharya K. South Asian Energy and Emissions perspectives for 21st Century, IEW workshop at IIASA. Austria. 2003.
15. Molina E, Meneses E. Evaluación epidemiológica del impacto de los contaminantes del aire. Propuesta metodológica. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2003.
16. Pérez J. La inhalación doméstica del humo de leña y otros materiales biológicos. Un riesgo para el desarrollo de enfermedades respiratorias / Domestic inhalation of wood smoke and other biological materials: A risk for respiratory disease development. Mexico. 1999.
17. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales y el Consejo de turismo de El Salvador. Geo Salvador. 2007.
18. Torres H, Agreda J, Polo C. Impacto Ambiental producido por el uso de leña en el área de conservación Regional Vilacota-Maure De La Región Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Perú. 2010.
19. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES). Perú. 2011.
20. Dirección General de Epidemiología, Red Nacional de Epidemiología, Ministerio de Salud Lima, Perú. Vol 20, Número 21, 2011/Semana epidemiológica 21 Mayo de 2011.
21. Torres L. Determinantes que favorecen la presencia de infección respiratoria aguda en el menor de 5 años de edad. Distrito de Independencia, Octubre – Diciembre 1.986. Lima, 1987.
22. Alcocer R. Estudio de los factores de riesgo frente a las IRAS en niños de 3 años de edad en el AAHH 10 de Octubre, Canto Grande. Lima. 1987.
23. Cabrera A. Diagnóstico de la calidad del aire de los interiores de las viviendas de Huamachuco, provincia de Sánchez Carrión, departamento de La Libertad. 2009. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2010.
24. Gerencia de Desarrollo Social y Participación ciudadana de la Municipalidad de Lamas, Informe anual. 2009.
25. Catanhede A, Monge G, Sandoval y Caycho C. Procedimientos estadísticos para los estudios ambientales”. Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, desarrollo y práctica. Vol 1, N° 1, año 2006. UNAM Mexico. 2006.
26. Dieter Seifert. Test of Solar Concentrator cooker. Alemania. 2002.



Efecto del plomo y cobre en los cambios de color y crecimiento de la raíz y tallo de *Spilanthus urens* en condiciones de laboratorio

Effect of lead and copper on color changes and growth of the roots and stems of *Spilanthus urens* under laboratory conditions

Santos E. Padilla-Sagástegui y Chris C. Valderrama-Pereyra

Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

El efecto de metales pesados sobre los sistemas biológicos ha sido ampliamente abordado. En la presente investigación se evaluó el efecto en los cambios de color y crecimiento de *Spilanthus urens* estimulados por diferentes concentraciones de plomo (Pb) y cobre (Cu). Se utilizó un diseño experimental de estímulo creciente y selección simple al azar, distribuido en cinco tratamientos con diez repeticiones, en cuyas unidades experimentales se procesaron los análisis químicos siguiendo la metodología de Bunsen y Kirchhoff y la calificación de Likert. Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y regresión lineal simple. Se encontró que existe diferencias entre las concentraciones de Pb y Cu aplicados en el diseño experimental; diferencias significativas entre tratamientos, metales, tiempo transcurrido y partes de la planta; asimismo, que no existe relación causa-efecto entre la influencia de los elementos químicos y el crecimiento de las partes de la planta, pero causa cambio de color en las raíces del vegetal. Se concluye que el Pb y el Cu causan cambios de color en las raíces y tallo durante el crecimiento de *S. urens*.

Palabra clave: Plomo, Cobre, cambio de color, *Spilanthus urens*

ABSTRACT

The effect of heavy metals on biological systems has been extensively addressed. In this research the effect on color changes and growth of *Spilanthus urens* stimulated by various concentrations of lead (Pb) and copper (Cu) was evaluated. An experimental design of increased stimulation, simple random selection, distributed in five treatments with ten repetitions, whose experimental units chemical analyzes were processed following the methodology of Bunsen and Kirchhoff and Likert rating was used. Data were subjected to analysis of variance and linear regression. It was found that there is difference between the concentrations of Pb and Cu used in experimental design; significant differences between treatments, metals, elapsed time and plant parts; also, that there is no causal link between the influence of the chemical elements and growth of the parts of the plant, but cause color change in the roots of the plant. It was concluded that Pb and Cu cause color changes in the roots and stems during the growth of *S. urens*.

Keyword: Lead, Copper, color change, *Spilanthus urens*

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados se encuentran generalmente como componentes naturales de la corteza terrestre, en forma de minerales, sales u otros compuestos por tiempos indefinidos y no se degradan ni destruyen fácilmente de forma natural o biológica, ya que no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos¹.

Entre los elementos químicos existentes, los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse en diferentes seres vivos, siendo de especial trascendencia los cultivos agrícolas, porque significan una pérdida de calidad del producto y de todo el organismo en cierto periodo de tiempo, comparada a la concentración de dicho producto químico en el ambiente²; a la vez que en proporciones diversas, se pueden incorporar a otros organismos vivos (plantas y animales) por vía del alimento, agua y aire como medios de traslocación, dependiendo de su movilidad en dichos medios³.

En algunos casos, muchos metales pesados se encuentran en pequeñas cantidades (traza), como cobre (Cu), selenio (Se) y zinc (Zn) y son esenciales para mantener un correcto metabolismo en los seres vivos y en particular en el cuerpo humano; sin embargo, en concentraciones más altas pueden causar alteraciones metabólicas o conducir al envenenamiento⁴.

Existen estudios tendientes a resolver la contaminación originada por metales pesados en suelos y agua, mediante estrategias basadas en el uso de plantas que tienen la propiedad de acumular metales pesados; este proceso denominado “fitorremediación” consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua, como es el caso de los estudios de extracción de cadmio y plomo en plantas de *Nicotiana tabacum* “tabaco”⁵; al mismo tiempo, se ha observado que algunas especies de plantas tienen ventajas sobre otros organismos biológicos por la capacidad de almacenamiento en la semilla, aspecto que, no obstante, está sujeto a variaciones de costos de mantenimiento, conservación de ejemplares biológicos con aporte e las condiciones físicas, químicas y biológicas; así, se ha utilizado a la cebolla, *Allium cepa* (Liliaceae), la betarraga, *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae), el arroz, *Oriza sativa* (Poaceae) y el rabanito, *Raphanus sativus* (Brassicaceae) para evaluar la toxicidad y el riesgo de sustancias químicas peligrosas en el ambiente, con resultados favorables⁶; sin embargo, el efecto de metales pesados sobre plantas vasculares poco se conoce, pero se han experimentado algunos aspectos de la ecotoxicidad de metales pesados empleando bioensayos sencillos y prácticos para catalogar toxicológicamente muestras ambientales contaminadas por plomo (Pb), mercurio y cromo, y al determinar los riesgos, han contribuido a tomar medidas para evaluar la perturbación de los ecosistemas y promover alternativas de biorremediación⁷.

La sensibilidad de las especies vegetales a los metales pesados varía considerablemente a través de reinos y familias, siendo las plantas vasculares ligeramente más tolerantes, aspecto que puede ser atribuido a factores genéticos y fisiológicos; por ejemplo, se ha demostrado el efecto del plomo en la reducción del crecimiento radicular y la frecuencia de células mitóticas y células aberrantes en cebolla, *A. cepa*^{7,8,9}. En efecto, varios autores afirman que el Pb puede causar diversos daños a las plantas y en diferentes grados de acumulación; sin embargo, en algunas especies, la acumulación se produce a medida que se aumenta las dosis en el suelo hasta niveles menores a 1000 mg por Kg-1 de suelo a la vez que tiende a incrementarse rápidamente en los órganos de la planta hasta llegar a condiciones que no es tolerable y mueren, debido a que los mecanismos de fitotoxicidad están relacionadas con la permeabilidad de la membrana celular, reacciones de grupos sulfhidrilos (-SH) con cationes y afinidad para reaccionar con grupos fosfatos^{4,5,10}.

Dados a los antecedentes que explican la importancia de las especies vegetales que acumulan elementos químicos y la frecuente acumulación de metales pesados en agua y suelos agrícolas, es que se plantea la necesidad de hacer nuevas experiencias utilizando plantas silvestres existentes en nuestro medio, como *Spilathes urens*, con el objetivo determinar el efecto del plomo y cobre en los cambios de color y crecimiento de la raíz y tallo en condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Estuvo constituido por *Spilanthes urens* “turre macho”. Se tomó como población a todas las plantas encontradas durante una inspección generalizada en campo abierto, de donde se obtuvo la muestra en forma aleatoria hasta completar 100 unidades, las mismas que fueron trasladadas al laboratorio en condición de planta adulta en baldes de cuatro litros de capacidad con agua potable al laboratorio de Ecología y Medio Ambiente, en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo; para su aclimatación y adaptación con la perspectiva de evitar el estado de estrés¹¹.

El proceso de adaptación y aclimatación se realizó colocando los ejemplares en acuarios de vidrios de cinco litros de capacidad durante 15 días; haciendo el cambio de agua potable con frecuencia inter diaria, manteniéndose con iluminación constante haciendo uso de cuatro fluorescentes de 40 w, a fin de simular su medio natural, cuyas condiciones fueron demostradas cuando los ejemplares conservaron su color verde intenso, que sirvieron para el proceso experimental, de donde se utilizaron los brotes axilares que fueron aislados y colocados en vasos de material acrílico de 100 mL de capacidad dispuestos en el diseño experimental¹².

Para las pruebas experimentales, se prepararon soluciones patrón de plomo utilizando el nitrato de plomo [Pb(NO₃)₂] y cobre a partir de sulfato de cobre [Cu₂(SO₄)] a 1000 ppm, teniendo como referencia el peso molecular, con la finalidad de hacer las diluciones correspondientes y disponerlos en el diseño experimental de estímulo creciente organizado en tratamientos de 0; 25; 50; 75 y 100 ppm con diez repeticiones, para tomar los datos referidos a las medidas de la longitud de raíces y tallos un día antes de iniciar el agregado de plomo y cobre a las plántulas, utilizando un vernier mecánico y hacer las observaciones y evaluaciones cualitativas de cambios de color, tomando como modelo la calificación de la Escala de Likert; utilizando la tabla de evaluación con la referencia de los ítems y criterios valorados de 1 al 5, con grado de desacuerdo y acuerdo, para obtener la suma de puntuaciones de cada muestra y correlación de cada ítem, para asegurar la precisión y fiabilidad de la escala¹³. Asimismo, se desarrolló el criterio de consistencia interna, que consistió en seleccionar el 25 % de las muestras con puntuaciones máximas y el 25 % con puntuaciones mínimas, además de evaluar la diferencia de promedios de cada ítem y para realizar la escala se escogieron valores máximos de la diferencia de promedios y valores mayores a 0,20 para los análisis de correlación¹⁴. Con los datos obtenidos, se procesó el análisis de varianza para la regresión lineal simple por el método de los mínimos cuadrados, a fin de comprobar si los elementos químicos acumulados son causantes del efecto sobre el crecimiento de las raíces y tallos de *S. urens*, cuyo estimador del intersección fue:

$$a = \bar{y} - b \bar{x},$$

$$\text{y la pendiente } b = \frac{\sum xy - \frac{\sum y \sum x}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}},$$

dónde: a, es el intercepto del efecto en eje “y”; b, la pendiente de la curva de regresión. Para la evaluación, de los criterios cualitativos se utilizó la Escala de Likert (Tabla 1), que permitió disponer valores a los cambios de color en la raíz y tallo de *S. urens*, durante los 15 días de exposición a los metales¹⁵.

RESULTADOS

En la Tabla 2 se presenta el análisis de varianza para determinar la diferencia significativa entre los tratamientos, partes de la planta, metales y tiempos de exposición; en la Tabla 3, la comparación de promedios de la longitud de la raíz y tallo de *Spilanthus urens*, a los 15 días de tratamiento usando el método de la Mínima Diferencia Significativa Honesta con valor referencial $D= 0,12$; en la Tabla 4, el análisis de varianza de la regresión lineal, en las Tablas 5 y 6, las escalas de calificación para los cambios de color y crecimiento durante los 15 días de tratamiento, que nos permite establecer referencias y calificaciones cualitativas al observar los cambios en el color de la raíz y el tallo.

Tabla 1. Presentación de ítems de calificación de acuerdo a la escala de Likert (1997), sugerida por Ruiz (1998).

Items o criterios	Puntuaciones				
	1	2	3	4	5
B Cambio de color raíz (severo)					
C Crecimiento longitud de raíz.					
D Crecimiento de raíces secundarias					
E Cambio de color de hojas apicales					
F Cambio de forma de cotiledones					
G Cambio de forma de las hojas apicales					
H Estrangulamiento del tallo					
I Engrosamiento del tallo					
J Aparición de nuevas raíces					
K Aumento de biomasa de raíz					
L Crecimiento de longitud de parte aérea (tallos y hojas)					
M Cambio de color de hojas					
N Aumento de biomasa de parte aérea (tallos y hojas)					
O Aumento del tiempo de germinación					
P Aumento del número de mortalidad					

*1= totalmente en desacuerdo, 2= en desacuerdo, 3= indiferente, 4= de acuerdo, 5= totalmente de acuerdo

Tabla 2: Análisis de varianza de las medidas de longitud y concentraciones acumuladas en la raíz y el tallo de *Spilanthus urens* sometidos a cinco tratamientos diferentes de plomo y cobre durante 15 días.

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Fc	Ft
Tratamiento	4000,90	4	1000,22	39,80	2,40 *
Partes de planta	93,89	1	93,89	3,74	3,87
Metales	4845,70	1	4845,71	193,00	3,87 *
Tiempos	554,13	1	554,13	22,10	3,87 *
Repeticiones	7,09	9	0,78	0,03	1,91
Error	316,83	383	0,83		
Total	9818,50	399			

(*)Significancia

DISCUSIÓN

El análisis de varianza (tabla 1), explica la diferencia del valor estimado del cuadrado medio del error, menor que las fuentes de variación (tratamientos, metales, tiempos y partes de la planta); lo que permite deducir que durante el proceso experimental los datos se han obtenido en óptimas condiciones, por lo tanto son confiables para demostrar diferencias significativas desde el punto de vista estadístico, confirmando con el valor Fisher (Fc) calculado mayor que el valor Fisher (Ft) tabulado; a diferencia de las repeticiones y partes de la planta que el Fc es menor que Ft; lo que significa que no hay diferencia significativa; es decir, que cada una de las unidades experimentales fueron dispuestas, procesadas y evaluadas en las mismas condiciones, lo cual concuerda con el estudio realizado por Christie y Chen¹⁶, que trabajaron con *Helianthus annuus* L. tratados con cadmio, zinc y plomo en similares condiciones, y que demostraron que dichos elementos se acumulan en mayor concentración en las raíces que en los brotes.

Tabla 3: Prueba de comparación de medias por el método de la Mínima Diferencia Significativa Honesta, para la longitud de raíz y tallo de *Spilanthes urens* sometidos a tratamientos diferentes de cobre durante 15 días (D=0,12).

Parámetros de evaluación		Promedio	Significancia
Tratamientos (cm)	T3 (50 ppm)	4,48	X
	T2 (25 ppm)	4,56	X
	T5 (100 ppm)	4,62	X
	T1 (0 ppm)	4,71	X
	T4 (75 ppm)	5,19	X
Tiempos	Después	4,63	X
	Antes	4,79	X
Metales	Cobre	4,71	X
	Plomo	4,83	X

Tabla 4: Análisis de varianza de la regresión lineal de las medidas de longitud de la raíz y tallo de *Spilanthes urens* sometidos a cinco tratamientos diferentes de plomo y cobre durante 15 días.

	Fuentes de Variación	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Fc	Ft
Longitud de raíz (plomo)	Debido a la regresión	0,00025	1	0,00025	0,00285	10,12800
	Error	0,26283	3	0,08761		
	Variación total	0,26308	4	0,06577		
Longitud de tallo (plomo)	Debido a la regresión	0,30270	1	0,30270	2,43262	10,12800
	Error	0,37330	3	0,12443		
	Variación total	0,67600	4	0,16900		
Longitud de raíz (cobre)	Debido a la regresión	0,00600	1	0,00600	0,01600	10,12800
	Error	1,26400	3	0,42100		
	Variación total	1,27000	4	0,31700		
Longitud de tallo (cobre)	Debido a la regresión	0,84100	1	0,84100	4,27685	10,12800
	Error	0,58992	3	0,19664		
	Variación total	1,43092	4	0,35773		

La comparación de los tratamientos, tiempos y metales presentados en lo tabla 2, tiene especial importancia, puesto que indica que los tratamientos, tiempos y metales tienen diferencia significativa; es decir que la acumulación de plomo y cobre en la raíz y tallo de la planta no es la misma y tiene tendencia a aumentar en relación directa con el incremento de los elementos químicos aplicados; es decir que la

eficiencia de la raíz y el tallo de *S. urens* es más eficaz a medida que aumenta las concentraciones de exposición, cuyos resultados son similares a un estudio anterior en el cual se observaron que la acumulación de plomo en tejidos aumentó junto con el incremento del mismo en el medio de cultivo¹⁷.

Con el análisis de regresión lineal, para asegurar la relación causa-efecto entre los elementos químicos y el crecimiento de las partes de la planta, se demuestra que dichos valores son totalmente independientes; es decir que el crecimiento de la raíz y tallo, no tienen relación con el plomo o con el cobre aplicado durante los tratamientos, confirmando los reportes de Valles y Alarcón¹⁸ quienes afirma que la longitud de la raíz de *H. annuus* no se ve afectada cuando se aumenta la concentración de plomo, sosteniendo que a concentraciones de 500 μM , la longitud de la raíz, es el doble que del control; aunque existe una ligera diferencia entre el peso de las raíces finas (diámetros menores a 2 mm) y las raíces gruesas.

Con la finalidad de conocer la respuesta del estímulo de plomo y cobre, se realizaron evaluaciones cualitativas, tomando como modelo la escala de Likert, donde se evidenciaron que el plomo y del cobre producen cambios de color en la raíz y tallo de *S. urens*, lo cual concuerda con el estudio realizado anteriormente, donde se observaron que los metales pesados no afectan el crecimiento de las plantas por una disminución significativa del potencial osmótico del sustrato, sino por su propia toxicidad, pero un exceso de metales pesados o de sus quelatos solubles puede provocar una serie de alteraciones bioquímicas y fisiológicas, tal como ocurre con el plomo que causa alteraciones o síntomas de una inhibición del color y la forma de raíz, tallo y hojas, y que depende de ciertas especies de plantas, por lo que los valores de calificación es el resultado de los criterios de observación y el coeficiente de correlación (r) que cuando se acerca a 1, hay evidencias de que existe alta asociación entre los criterios evaluados y crecimiento en la planta, con 95% de confiabilidad, como sucedió en nuestra experiencia y confirmado con la desviación estándar que da referencia al porcentaje de promedios de cada criterio evaluado que se encuentra sobre el promedio de la escala, por lo tanto la mayoría de criterios calificados están de acuerdo y totalmente de acuerdo con los cambios observados durante la experiencia^{19,20}.

Tabla 5: Escala de Likert para medir los cambios de color y crecimiento en raíz y tallo de *Spilanthes urens* durante los 15 días de tratamiento con plomo (ppm), según los ítems y criterios establecidos.

Criterios de consistencia interna																											
25% máximo puntaje de calificación cualitativa												X- máx.	25% mínimo puntaje de calificación cualitativa												X min	X máx. - X min	r
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	21	22		11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	31	32			
a	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	3	3,7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1,8	1,8	0,91	
b	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	5	6,7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3,2	3,4	
c	2	2	2	2	2	2	2	2	2	5	5	7,3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	5	5	3,3	4		
d	5	5	5	5	5	5	5	5	5	2	2	8,4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	3,6	4,8	0,94	
e	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9,3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	5,2	
f	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1	1	12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	7	
g	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1	1	16	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	8,5	0,98
Σ	26	26	26	26	26	26	26	26	26	18	18		13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	14	14			

Leyenda: Las letras indican el cambio de color y crecimiento de la raíz y el tallo: **a:** sin cambio (blanco). **b:** leve (crema y marrón). **c:** severo (negro). **d:** crecimiento de longitud de raíz y tallo. **e:** engrosamiento de raíz y tallo. **f:** aparición de nuevas raíces. **g:** aumento de biomasa en raíz y tallo. **X máx:** promedios máximos. **X min:** promedios mínimos, **r:** coeficiente de correlación.

Tabla 6: Escala de Likert para medir los cambios de color y crecimiento en raíz y tallo de *Spilanthus urens* durante los 15 días de tratamiento con cobre (ppm), según los ítems y criterios establecidos.

Criterios de consistencia interna																											
25% máximo puntaje de calificación cualitativa												X Ma x	25% mínimo puntaje de calificación cualitativa												X mi n	X Max - X min	r
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	21	22	3	32	33	34	35	36	37	38	39	40	11	12				
a	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	2	2	4,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1,2	3,3	1
b	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3,2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3,2	0	
c	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	5	3,3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4,8	-1,5	
d	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1	1	4,3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3,3	1
e	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
f	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1	1	4,3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3,3	0,99
g	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1	1	4,3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3,3	1
Σ	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	15	15		1	13	13	13	13	13	13	13	13	13	14	14		

Leyenda: Las letras indican el cambio de color y crecimiento de la raíz y el tallo: **a:** sin cambio (blanco). **b:** leve (crema y marrón). **c:** severo (negro). **d:** crecimiento de longitud de raíz y tallo. **e:** engrosamiento de raíz y tallo. **f:** aparición de nuevas raíces. **g:** aumento de biomasa en raíz y tallo. **X Max:** promedios máximos. **X min:** promedios mínimos, **r:** coeficiente de correlación.

CONCLUSIONES

- *Spilanthus urens* tiene la capacidad de acumular plomo y cobre en la raíz y tallo.
- Los elementos plomo y cobre no tienen influencia en el crecimiento de la raíz y tallo.
- Durante el proceso de acumulación de los elementos químicos, la planta sufre cambios de color en la raíz y tallo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abollino O, Aceto M, Malandrino M, Mentaste E, et. al. Distribution and Mobility of Metals in Contaminated Sites. Chemometric Investigation of Pollutant Profiles. Environ Pollution 2002; 119: 177.
2. Angelova V, Ivanova R, Delibaltova V, Ivanov K. Bio-accumulation and distribution of heavy metals in fiber crops (flax, cotton and hemp). Industrial Crops & Products 2004; 19: 197–205.
3. Lucho CA, Álvarez M, Beltrán RI, Prieto F, Poggi H. A multivariate analysis of the accumulation and fractionation of major and trace elements in agricultural soils in Hidalgo State, Mexico irrigated with raw wastewater. Environmental International, On Line: 0160-4120-D 2004 doi:10.1016/j.envint.2004.08.002.
4. Kabata A. Trace elements in soils and plants. 13th ed. Boca Ratón, USA: CRC Press, Inc. 2000.
5. Rodríguez-Ortiz JC, Valdez-Cepeda RD, Lara JL, Rodríguez H, et al. Soil Nitrogen fertilization effects on phytoextraction of Cd and Pb by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Bioremediation J 2006; 10: 105-114
6. Iannacone J, Alvarino FL. Efecto ecotoxicológico de tres metales pesados sobre el crecimiento radicular de cuatro plantas vasculares. Agricultura Técnica (Chile) 2005; 65(2): 198-203.
7. Calow, P. 1993. Handbook of ecotoxicology. Vol. I. London, England: Blackwell Science Ltd. 1985.
8. Shanker, K, Mishra S, Srivastava S, Srivastava R, et al. Study of mercury-selenium (Hg-Se) interactions and their impact on Hg uptake by the radish (*Raphanus sativus*) plant. Food Chem Toxicol 1996; 34:883-886.
9. Rosa CEV, Sierra M, Radetski CM. Use of plant tests in the evaluation of textile effluent toxicity. Ecotoxicol Environ Res 1999; 2: 56-61.
10. Lerda D. The effect of lead on *Allium cepa* L. Mutation Res 1992; 281:89-92.
11. Llugany M, Tolrà R, Poschnrieder C, Barceló J. Hiperacumulación de metales: ¿Una ventaja para la planta y para el hombre? Ecosistemas 2007; 16(2): 4-9.
12. Wu J, Ding L. 2006. Study on treatment of polluted river water using pilot-scale surface flow constructed wetlands system. Environ. Pollut. Contr. China. 28:432–434.
13. Likert R. Frequency scales use fixed choice response formats and are designed to measure attitudes or opinions. USA. Disponible en <http://www.simplypsychology.org/likert-scale.html>. 1997.
14. Azadpour A, Matthews J. Remediation of metal contaminated sites using plants. Remediation, Irán 1996; 6: 1-18.
15. Ruíz C. Instrumentos de Investigación Educativa. Procedimientos para su Diseño y Validación. Venezuela: Ediciones CIDEA. 1998.
16. Christie P, Chen X. Arbuscular Mycorrhiza can depress translocation of zinc to Shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc plant and soil, China. Bioresour Technol 2004; 261(1-2): 209-217.
17. Lin J, Jiang W, Liu D. Accumulation of copper by roots, hypocotyls, cotyledons and leaves of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Bioresour Technol 2003; 86: 151-155.
18. Valles M, Alarcón M. *Heliantus Annus* en Suelos Contaminados con Metales Pesados. En: XVI Cong Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales. México D.F. 2008.
19. Antonovics J, Bradshaw A, Turner R. Heavy metals tolerance in plants. Adv Ecol Res 1985; 7: 1-85.
20. Burton K, Morgan E, Roig A. The influence of heavy metals on the growth of sitka-spruce in south wales forests. II Greenhouse experiments. Plant Soil 1984; 78: 271-282



Caracterización físico-química y bacteriológica del agua marina en la zona litoral costera de Huanchaco y Huanchaquito, Trujillo, Perú

Physico-chemical and bacteriological characterization of seawater in the coastal zone Huanchaco and Huanchaquito, Trujillo, Peru

Geyssi P. Trujillo-López y Ana M. Guerrero-Padilla

¹Ex alumna de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT) Trujillo-Perú.

²Departamento de Ciencias Biológicas. UNT

RESUMEN

Se hizo la caracterización físico-química y bacteriológica del agua marina de las playas Huanchaco y Huanchaquito, 2013, La Libertad-Perú. Se evaluaron ocho estaciones de muestreo por seis meses a través de los parámetros: temperatura, pH, oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno, cloruros, coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*, según "Métodos normalizados para el análisis de agua potable y residuales". Se obtuvieron valores promedio de temperatura entre 19,8 - 20,3 °C; 7,3 -7,6 pH; 8-9,23 mg/L de oxígeno disuelto; 6,67-8,86 mg/L de demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅); 223,3-245 mg/L para cloruros; 67-330 NMP/100mL para coliformes totales, 22-407 NMP/100mL para coliformes fecales y 10-233 NMP/100mL para *E. coli*. Los valores reportados no sobrepasaron los Estándares de Calidad Ambiental establecido por el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM categoría 1- B de Aguas superficiales para recreación de contacto primario, excepto, los parámetros de DBO₅ y coliformes fecales que sobrepasaron los límites permisibles, encontrándose en Huanchaco valores promedio más altos que Huanchaquito.

Palabras clave: Físico-químico, bacteriológicos, Huanchaco, Huanchaquito, litoral costero.

ABSTRACT

Physico-chemical and bacteriological characterization of marine-water of Huanchaquito and Huanchaco (Trujillo, Peru) beaches, 2013, were made. It was evaluated eight sampling stations for six months, samples were processed in the Laboratory of Analysis of Food and Water Management Sub Provincial Municipality of Trujillo to determine the values of temperature, pH, dissolved oxygen, biochemical oxygen demand, chloride, total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli*, for which the methodology followed by the book of "Standard Methods for the analysis of water and wastewater". Average values were between 19.8 - 20.3 °C for temperature, 7.3 -7.6 for pH; 8 - 9.23 mg/L for dissolved oxygen, 6.67-8.86 mg/L for biochemical oxygen demand (BOD₅), 223.3-245 mg/L for chlorides; 67-330 MPN/100 mL for total coliforms, 22-407 MPN/100 mL for fecal coliform and 10-233 MPN/100mL for *E. coli*. Reported values did not exceed the Environmental Quality Standards established by Supreme Decree No. 002-2008-MINAM Category 1 - B Surface water for primary contact recreation; except parameters BOD₅ and fecal coliform exceeded allowable limits, being Huanchaco beach with average values higher than Huanchaquito beach so assumed to have greater fecal contamination.

Key words: Physical-chemical, bacteriologicals, Huanchaco, Huanchaquito, coastal zone

INTRODUCCIÓN

El problema de contaminación de aguas es muy complejo y por la relación con la transmisión de enfermedades al hombre, es de gran importancia mantener un sistema de vigilancia, para lo cual se debe seleccionar parámetros críticos de la calidad del agua¹. Dicho problema está relacionado con el aumento creciente de las poblaciones que habitan las zonas costeras y, de igual manera, con el incremento de las actividades domésticas, agrícolas e industriales que, por el mal manejo e inadecuado control de los desechos sólidos y líquidos, afectan el medio marino con significativas implicaciones a nivel ecológico, socioeconómico y de salubridad^{2,3}.

La contaminación de aguas costeras ha despertado la atención a nivel mundial, ya que las descargas de aguas residuales de origen industrial y doméstico con alto contenido de desechos orgánicos causan problemas serios de salud y modifican al ecosistema marino en los lugares adyacentes a las descargas⁴. Los estudios en agua marina y playas indican que las enfermedades de la mucosa, de la piel y del sistema digestivo, asociados con los bañistas están directamente relacionados con los niveles de contaminación fecal⁵. Por ello, en el 2002 la organización Mundial de la Salud publicó las enfermedades a las que los bañistas están expuestos en aguas recreativas contaminadas por microorganismos, como *Escherichia coli* que producen dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos; *Klebsiella* sp. produce enfermedades respiratorias y *Citrobacter* sp. , alteraciones a nivel intestinal⁶.

La contaminación de las playas de América Latina y el Caribe es causada por aguas residuales domésticas no tratadas, constituye un problema serio de salud para la población⁷; otros casos son consecuencia de circunstancias excepcionales como, el colapso del sistema de tuberías de desagües que contaminó las playas del Río de Janeiro- Brasil en el año 2003^{8,9,10}.

La costa peruana, con más de 3 073 km de longitud y una población de 28 220, 764 habitantes, según el censo de 2007, presenta un caudal total de aguas residuales domésticas evacuadas directamente al mar que superan los 434,90 millones de m³/año, donde en Lima arrojan diariamente al mar un volumen de aguas servidas aproximado de 1 700 000 m³/día¹¹. Del mismo modo en la ciudad de Trujillo, se descarga 40,6 millones de m³/año de agua de desagües domésticos¹².

En el distrito La Chira (Lima) se produjo una alerta sobre la calidad del agua del litoral, al reportarse valores superiores a los límites permisibles de contaminación por *E. coli*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Proteus*, *Salmonella* y *Enterococos*¹³. Asimismo, en Puerto Pizarro (Tumbes) se encontró una carga de coliformes fecales en la zona intermareal con valores de 460 NMP/100mL y una carga de coliformes totales y termotolerantes en la zona submareal alcanzando un valor superior a 2400 NMP/100 mL¹⁴. Se ha reportado en Santa Rosa y Pimentel del departamento de Lambayeque, demanda bioquímica de oxígeno alta, indicando una fuerte contaminación de naturaleza antrópica, afectando a las áreas marinas cercanas a ellas como futuras zonas de maricultura, e incluso como zonas de extracción de recursos por los problemas de salubridad que presentaban¹⁵.

La calidad del agua se define como la relación cuantitativa entre la densidad del indicador y el riesgo potencial para su uso ^{3,16}. Los estándares de calidad del agua están descritos en términos de niveles de concentración permisibles para un uso determinado de un cuerpo de agua costero y generalmente están establecidos por una serie de reglamentos oficiales del Ministerio de Salud¹⁷. En el Perú estas normas se rigen bajo el reglamento de la Ley General de Salud y los Estándares de Calidad Ambiental para Aguas. Dada por la Resolución Jefatural N° 202-2010-ANA, donde el estudio, está clasificado en la categoría 1. Poblacional y Recreacional, Sub categoría B de Aguas superficiales destinadas para recreación de contacto primario¹⁸.

Coliformes Totales y Coliformes Fecales y/o Termotolerantes fueron los primeros indicadores de contaminación utilizados y, hasta el presente, continúan siendo los indicadores de la calidad sanitaria de las aguas; sin embargo, la Organización Mundial de la Salud recomienda utilizar como indicador de contaminación fecal para aguas costeras a *E. coli* ⁸. La calidad del agua para uso recreativo en centros turísticos es un factor primordial para garantizar la protección de la salud de los usuarios y un punto de interés para el sector turístico, dado que las playas adquieren un valor agregado al contar con un nivel aceptable de calidad del agua⁵.

La ciudad de Trujillo es considerada una de las principales ciudades del norte del País por su desarrollo económico y cultural y cuenta con balnearios como Huanchaco, Huanchaquito, Buenos Aires, Salaverry y las Delicias que en temporada de verano son visitadas por numerosos bañistas; en el

2009 se reportó que la demanda bioquímica de oxígeno y los coliformes totales no sobrepasaron los límites máximos permisibles, en la playa de Huanchaco por lo que se afirmó que estas eran aptas para fines recreativos, pero podrían verse en peligro de contaminación al no tomarse medidas preventivas¹⁹. Sin embargo, otros estudios actuales establecen que Estándares de Calidad Ambiental para agua sobrepasaron para *Escherichia coli* en las playas de Huanchaco, Huanchaquito y Buenos Aires, además de una elevada contaminación fecal en las playas de Buenos Aires²⁰.

Las playas de Huanchaco y Huanchaquito son de gran importancia por su uso recreacional y turístico, en tal sentido, el presente estudio tuvo como objetivo principal la caracterización físico-química y bacteriológica en la zona litoral marina de las playas Huanchaco y Huanchaquito, Trujillo-Perú.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio:

El estudio se llevó a cabo en las aguas del litoral de las playas de Huanchaco: 79°04' LO, 8° 7' LS y de Huanchaquito: 79°10' LO y 8° 1' LS en la ciudad de Trujillo, Perú (Fig. 1) .



Fig. 1. Ubicación de las zonas de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad, Perú.
(Fuente: Google Earth Satelital)

Ubicación de las estaciones de muestreo:

Las estaciones de muestreo se localizaron en zonas que permitieron obtener una muestra representativa, donde la mezcla del agua fue homogénea. Para la obtención de datos básicos de la calidad del agua para uso de bañistas, se tomaron muestras con la marea alta, media y baja. El muestreo se realizó por sumersión rápida de los frascos de vidrio a 5 m de la línea de mareas y 1m de profundidad de la superficie y en contracorriente, para evitar la recolección de material flotante y

generar contaminación²¹. El muestreo se realizó en zonas recreativas, las cuales fueron georeferenciadas con un GPS marca Garmin los cuales estuvieron ubicados en la zona de estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Ubicación georeferencial de las estaciones de muestreo en la zona litoral de las playas de Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad-Perú.

Estación de muestreo		Coordenadas UTM	
		Este	Norte
HUANCHACO:	Totora	70°72'38"	910°79'06"
	Boquerón	70°74'74"	910°74'46"
	Muelle	70°73'25"	910°68'94"
	La Poza	70°71'09"	910°60'54"
HUANCHAQUITO:	Playa Azul	70°77'02"	910°50'96"
	Talareño	70°82'27"	910°46'16"
	Cangrejito	70°89'98"	910°39'80"
	Perla del Pacífico	70°94'57"	910°36'00"

Las muestras de agua marina las cuales fueron colectadas en cada una de las estaciones de muestreo, anteriormente indicadas, con una frecuencia de muestreo cada 15 días y durante 6 meses consecutivos, entre las 9:00 horas a 12:00 horas, éstas fueron preservadas a 4°C y trasladadas en condiciones adecuadas al laboratorio para sus respectivos análisis. Los parámetros evaluados se realizaron de acuerdo a lo establecido en el Manual de métodos Normalizados para el análisis de Agua²¹.

Análisis estadístico

Se realizaron cuadros de doble entrada con el valor promedio de cada uno de los valores a investigar. Para determinar la calidad del agua se aplicó la prueba de ANOVA con un nivel de confianza de 95% y análisis de regresión lineal y correlación. Para el cual se utilizó el programa estadístico SPSS versión 21.0.

RESULTADOS

La temperatura superficial promedio de las aguas del mar fluctuó en un rango de 20,3 °C en la estación de Muelle como valor máximo a 19,8 °C como valor mínimo en las estaciones de Playa Azul, Cangrejito y Perla del Pacífico (Fig. 2). El rango del pH promedio varió de 7,3-7,6 obteniéndose el valor máximo en la estación de La Poza (Fig.3). El oxígeno disuelto promedio varió de 8 mg/l como valor mínimo en la estación de Perla del Pacífico a 9,23 mg/L como valor máximo en la estación de Muelle (Fig. 4). La demanda bioquímica de oxígeno promedio en las aguas de mar superficial varió de 8,86 mg/l como concentración máxima en la estación de La Poza y como concentración mínima 6,67 mg/l en la estación Playa Azul (Fig. 5). Con respecto a la concentración promedio de cloruros en agua de mar, se obtuvo en la estación de Playa Azul el valor máximo de 245 mg/l y 223,3 mg/l en la estación de Boquerón (Fig. 6). Los coliformes totales promedio presentaron su máximo valor de 330 NMP/100 mL en la estación de Boquerón y 67 NMP/100ml como valor mínimo en la estación de Muelle (Fig. 7). Los coliformes fecales promedio presentaron como valor máximo 407 NMP/100ml en la estación de Totora y 22 NMP/ 100ml en la estación Perla del Pacífico (Fig. 6). Las concentraciones promedio de *E. coli* obtuvieron como mínimo valor 10 NMP/100ml en la estación de Totora y como máximo valor 233 NMP/100mL en la estación de Talareño (Fig. 6).

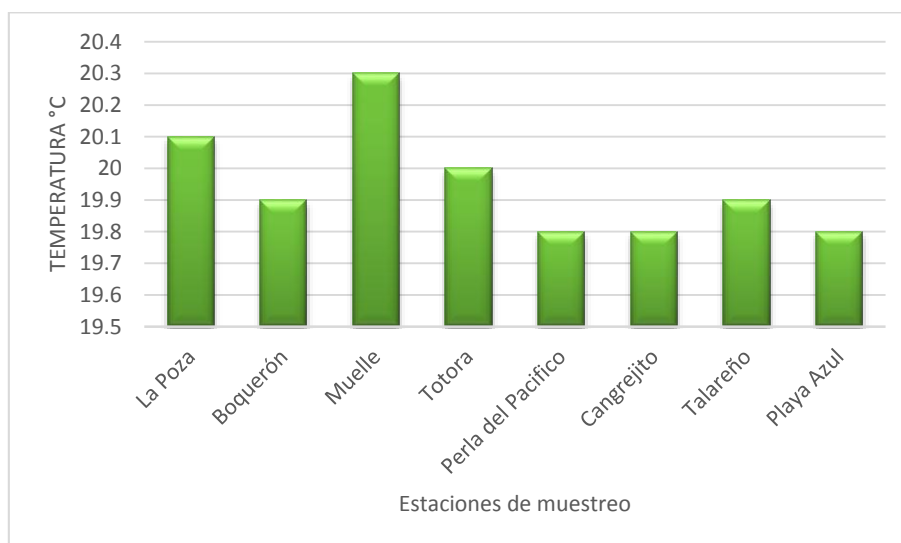


Fig. 2: Variación promedio de la temperatura (°C) del agua de mar en las estaciones de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad-Perú.

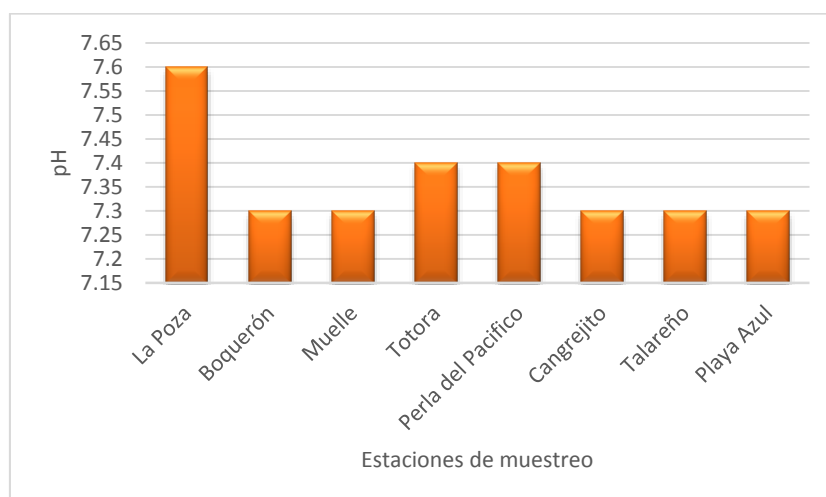


Fig.3: Variación promedio del pH del agua de mar en las estaciones de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad-Perú.

DISCUSIÓN

Las aguas naturales utilizadas con fines recreativos generalmente contienen una mezcla de microorganismos autóctonos del medio y microorganismos patógenos provenientes de efluentes de aguas residuales, bañistas, procesos industriales y actividades agrícolas, lo que constituyen un riesgo potencial para la salud humana. Según la Organización Mundial de la Salud ²². Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias de Ambiente y Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento presentaron un programa de control de calidad del agua debe ser diseñado para analizar y monitorear parámetros físicos, químicos y biológicos, esto permitiría determinar la calidad del agua a la capacidad intrínseca que tiene este elemento para definir su aceptabilidad para un uso determinado ^{23,24}.

Los promedios de temperatura del agua superficial están entre 19,8 °C – 20,3 °C (Fig. 1), registrándose el mínimo valor en 18,5 °C en los meses de Julio y Agosto en Muelle y Totora y el máximo valor 21.5°C en el mes de Mayo en la Poza y Muelle. Contrastando con los reportes por IMARPE en el año 2012 reportó en Huanchaco 19,5 °C en Agosto y 22,4 °C en Mayo; en el 2010

reportó variaciones desde 24,7 °C – 19,4 en todo el año y en el 2009 variaciones entre 17,4 °C – 19,6 °C de Enero a Diciembre, en ese año la temperatura se presentó frío debido a la influencia y presencia de aguas costeras frías que predominaron en el área, así como el afloramiento costero; sin embargo en los dos últimos años presentó un ambiente ligeramente cálido debido al desarrollo del evento El Niño Costero de intensidad débil ^{15,25,26}.

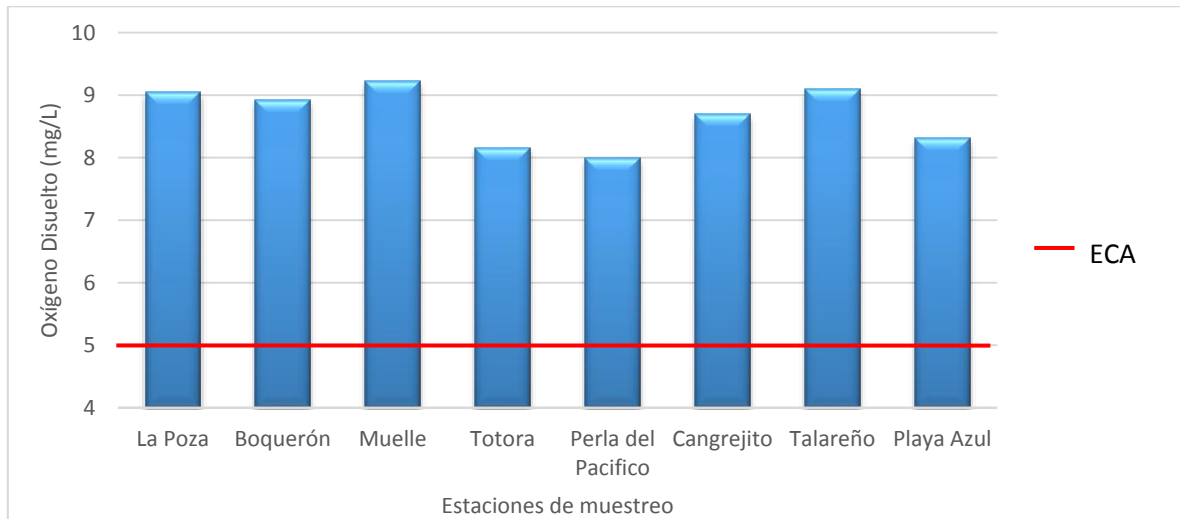


Fig.4: Variación promedio de las concentraciones de oxígeno disuelto (mg/L) del agua de mar en las estaciones de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad-Perú.

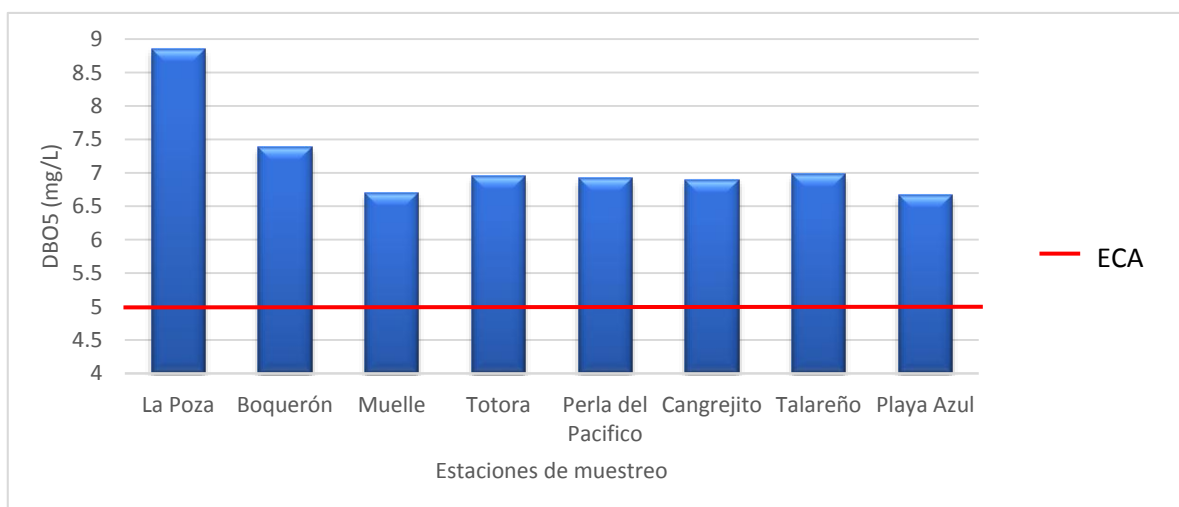


Fig.5: Variación promedio de las concentraciones de la demanda bioquímica de oxígeno (mg/L) del agua de mar en las estaciones de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad-Perú.

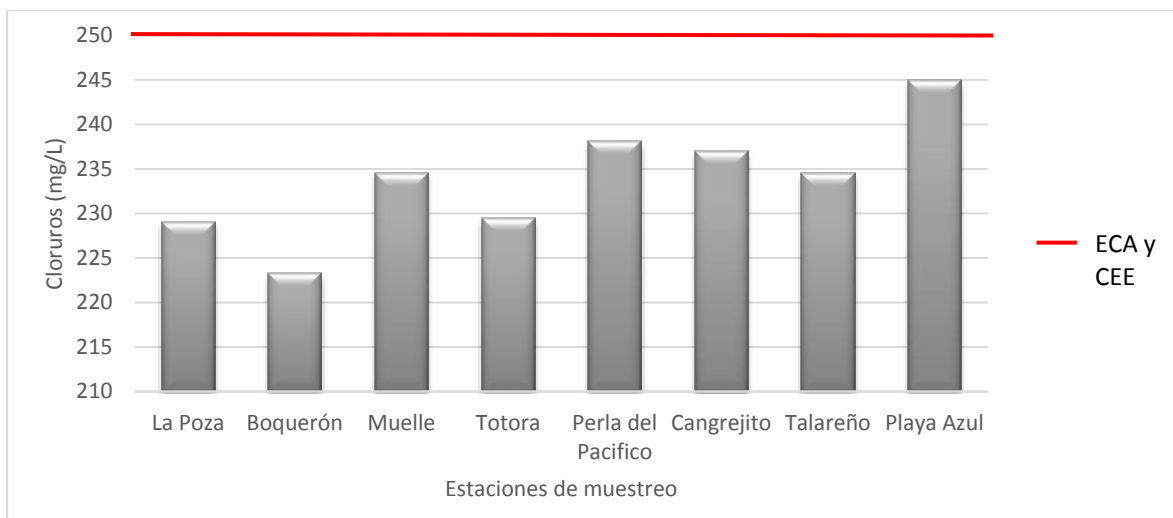


Fig.6: Variación promedio de las concentraciones de cloruros (mg/L) del agua de mar en las estaciones de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad-Perú.

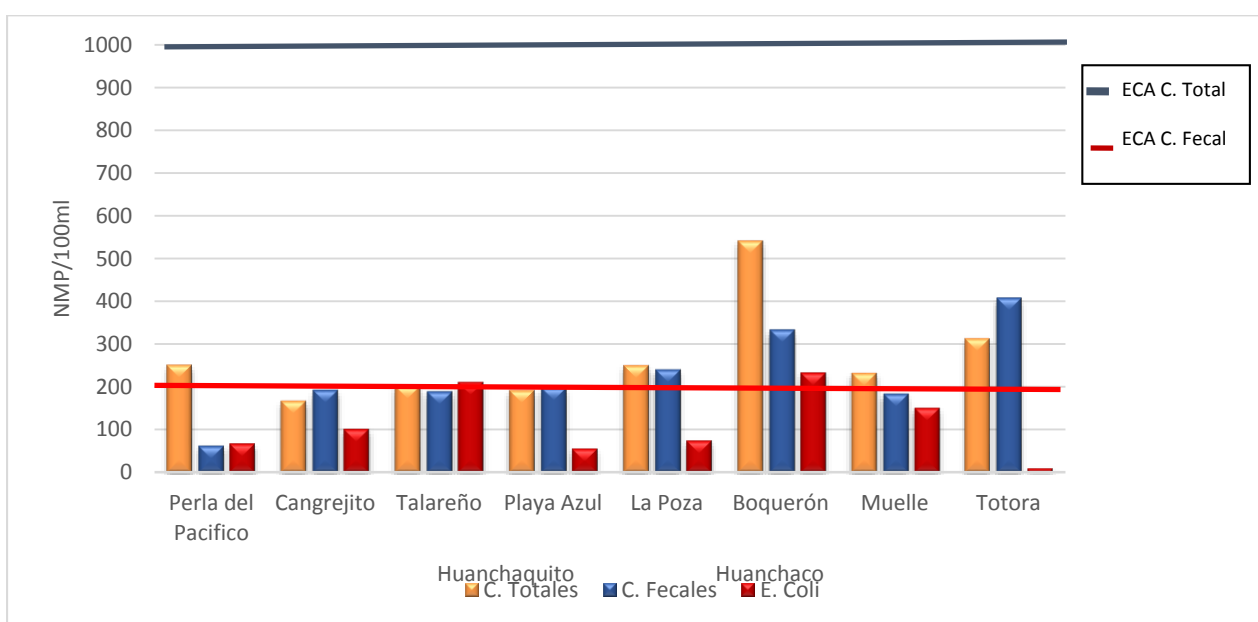


Fig. 6: Variación promedio de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* (NMP/100 ml) en cada una de las estaciones de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito, La Libertad-Perú.

La temperatura es la variable oceanográfica más fácil de obtener en el mar, su distribución y variación están íntimamente ligadas a las corrientes oceánicas y variaciones en la radiación solar²⁷. Por otro lado estos valores obtenidos pueden considerarse como adecuados para la vida de muchos organismos marinos, ya que cuando las temperaturas se elevan considerablemente favorece el desarrollo de patógenos.

Los valores promedio de pH 7,3-7,6 y la concentración de cloruros se encontraron en un rango de 223,3 mg/L-245 mg/L y estos parámetros se relacionan con la salinidad del mar; sin embargo, cuando la salinidad del mar aumenta disminuye la diversidad biológica ocasionando serios problemas con los organismos acuáticos¹⁰. Asimismo, los cloruros encontrados en el agua reportaron su mayor incremento durante el mes de Abril en la estación de Muelle con 27,11 mg/L y pH 8 en el mes de Agosto en todas las estaciones, comparando las evaluaciones realizadas en 2009¹⁹, son similares ya

que también encontró sus valores máximos para cloruros en el mes de Abril con 16,76 meq/L y en pH en el mes de Enero con pH 8. De acuerdo con el Artículo 15, capítulo III del Decreto 2005 del Ministerio de Salud, el valor admisible para cloruros es de 250 mg/L e indica que un alto contenido en cloruros puede afectar además causar irritación en los ojos²⁸.

En los resultados de oxígeno disuelto obtenidos se observó que en los valores promedios varían entre 8 mg/L-9,2 mg/L lo cual indica que están por encima del límite permisible dispuesto por las normas señaladas; sin embargo se puede asumir que es adecuada y suficiente para la actividad biológica realizada por los organismos marinos en su proceso metabólico consumen oxígeno²⁹; asimismo el oxígeno disuelto encontrado en el agua de mar reporta sus mayores concentraciones durante el mes de mayo 12,28 mg/L, lo que se acerca a los valores reportados por IMARPE en el año 2010, quienes registraron valores máximos de 8,03 mg/L en el mes de mayo y 8,07 mg/L en el mes de agosto en la estación Muelle de Huanchaco. El oxígeno disuelto está en función del origen de agua; es así como las aguas superficiales pueden contener cantidades relativamente altas próximos a la saturación, como un agua saturada de aire, a 20 °C y a la presión normal contiene 9,1 mg/L de oxígeno. Las normas europeas (CEE) y el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM¹⁸, categoría 1-B de contacto primario; indican como concentración límite mínimo apropiada la cifra de 5 mg/L.

La cantidad de oxígeno disuelto es un indicador importante de la calidad del agua, ya que es un elemento indispensable para la vida. La Ley de Henry indica que la solubilidad de un gas depende de la presión, además de variar con la temperatura²⁶. Se realizó un análisis de regresión lineal de oxígeno disuelto (variable dependiente) en relación a la temperatura, mes, playa y estaciones de muestreo (variables independientes) con los valores obtenidos de la playa Huanchaco y Huanchaquito dándonos como resultados que sólo se encuentra significancia de regresión con las variables independientes de temperatura asociado a los meses de muestreo con un valor de 0,559 y con un nivel de significancia de 0,00 ($p < 0,05$), lo que indica que las variables independientes influyeron de forma constante y homogénea en la variación de la variable dependiente. Según Rodier³⁰ cuando la temperatura aumenta, el contenido de oxígeno disminuye en razón de su pequeña solubilidad, pero también a causa del consumo aumentado por los seres vivos y las bacterias que se multiplican; ocasionando olores desagradables; por lo tanto es un indicador importante de la calidad de los cuerpos de agua.

La demanda bioquímica de oxígeno tuvo como valores promedios desde 6,67 mg/L-8,86 mg/L, se reportó como mínimo valor 3,82 mg/L en la estación de La Poza en el mes de marzo y como máximo valor 9,66 mg/L en la estación Cangrejito en el mes de Agosto, estos valores se encuentran por encima del límite máximo permisible (5 mg/L), dispuesto por las normas europeas (CEE) y el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM¹⁸, categoría 1-B de contacto primario. Lo que indica que no ha habido un gran consumo de materia orgánica por microorganismos durante los 5 días de incubación; Cuando un cuerpo de agua contiene una gran cantidad de microorganismos y se incuban en 5 días pueden degradar un 60-70% de materia orgánica carbonada, la nitrificación del amoníaco producido por las proteínas comienza entre los 6 y 10 días.

Según IMARPE los valores elevados de DBO₅ indican una alta concentración de materia biodegradable, tal es así que para aguas contaminadas obtienen valores mayores de 8 mg/L de oxígeno²⁵; sin embargo, en estas condiciones las aguas están relacionadas con la presencia de descargas de alcantarillados domésticos, fábricas pesqueras entre otros que incrementan la cantidad de materia orgánica y disminuyen la concentración de oxígeno³¹. Con respecto a los parámetros bacteriológicos como coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*, se encuentran dentro de los límites máximos permisibles establecidos por los Estándares de Calidad Ambiental para aguas, según el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM¹⁸, categoría 1-B de contacto primario, el cual establece 1000 NMP/100 mL para coliformes totales y 200 NMP/ 100ml para coliformes fecales no siendo así, para las estaciones de muestreo de la playa de Huanchaco (La Poza, Boquerón y Totorá) y Huanchaquito (Talareño y Playa Azul) que su valor promedio de coliformes fecales excede a 200 NMP/100mL registrándose en la estación de Boquerón el valor máximo con 920 NMP/100ml en el mes de agosto, lo que indica que las aguas marinas de estas estaciones tienen contaminación fecal ya que al asociarse con el DBO₅ estos parámetros indican que hay un exceso de materia orgánica que permite a los microorganismos reproducirse y aumentar su población bacteriana. Estudios realizados en los balnearios de las Delicias y Huanchaco en el año 2003 se encontró que los resultados superaron el límite permisible de los estándares de calidad ambiental para aguas (ECA) en 60% para coliformes fecales y *E. coli*²⁰. Otros estudios realizados en el período de verano 2004-2005, se encontraron

valores mayores a 1100 NMP/100mL y 500 NMP/100mL para coliformes totales y fecales respectivamente, en las playas de Huanchaquito en los meses de Noviembre y Enero³². Estudios recientes realizados en el balneario de las playas liberteñas reportaron valores elevados de hasta 800 NMP/100ml para coliformes fecales, 450 NMP/ 100ml para *E. coli* entre los meses de Octubre 2011-Marzo 2012 en el cual indicó que la playa más contaminada fue Buenos Aires excediendo los límites máximos permisibles^{20,32}.

Al realizar el análisis de Varianza en los parámetros físico - químicos se obtuvo como resultado en la temperatura del agua, que no hay diferencia significativa entre estaciones, ya que tienen un nivel de significancia de 0,184 con un nivel de confianza de 95%; lo que indica que la temperatura es homogéneas entre las estaciones de la playa de Huanchaco y Huanchaquito. Así también para el pH se obtuvo un nivel de significancia de 0,336 valor que es mayor a 0,005 lo que indica que no hay diferencia significativa entre el pH de las diferentes estaciones de muestreo de ambas playas. En el análisis de ANOVA realizado para oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno se obtuvo un nivel de significancia de 0,626 y 0,252, respectivamente, interpretándose de la misma manera que estos parámetros en las estaciones son homogéneos y no hay diferencia significativa entre éstas. Y para cloruros se obtuvo un nivel de significancia de 0,698 que al igual de los parámetros anteriores es mayor que 0,05 a un nivel de confianza de 95%, por lo tanto tampoco hay diferencia significativa entre estaciones de muestreo.

Del mismo modo, el Análisis de Varianza se realizó para los parámetros bacteriológicos con un nivel de significancia de 0,384 para Coliformes Totales, 0,221 para Coliformes Fecales y 0,512 para *E. coli* con un nivel de confianza de 95%, valores que al igual que en los parámetros químicos-físicos son mayores a 0,05, lo que refiere que no hay diferencia significativa por lo tanto estos parámetros bacteriológicos son homogéneos en las playas de Huanchaco y Huanchaquito.

En el análisis de regresión lineal realizado el coeficiente de determinación fue de 0,310 con un valor de significancia de 0,00 ($p < 0,05$) lo que indica que la variable independiente (temperatura) influyo de manera constante y homogénea en la variable dependiente (DBO_5) en las estaciones de muestreo de las playas Huanchaco y Huanchaquito. Se estableció una relación entre oxígeno disuelto y demanda bioquímica de oxígeno para determinar si hay una correlación entre estas variables a través del análisis de correlación de Pearson, obteniendo como resultado 0,363 con un nivel de significancia de 0,011. Estos valores indican que hay un 36% de correlación directa, debido a que el valor es positivo; pero que no es significativa siendo éste menor a 0,05 por lo que permite aseverar que no existe influencia de una variable con la otra.

CONCLUSIONES

- Los parámetros químico-físicos se encontró valores por debajo de los Estándares de Calidad Ambiental, para fines recreativos de contacto primario, excepto para la demanda bioquímica de oxígeno con un valor promedio entre 8 mg/L-9,05 mg/L para las playas Huanchaco y Huanchaquito. Existe una relación de dependencia temperatura-oxígeno de 55,9% y temperatura - DBO_5 de 31%.
- Los indicadores bacteriológicos no superaron los Estándares de Calidad Ambiental, para fines recreativos de contacto primario, excepto para Coliformes Fecales con valores promedio altos de hasta 407 NMP/100mL para la estación Totorá en Huanchaco.
- En la playa de Huanchaco se obtuvo valores altos para Coliformes Fecales con 240 NMP/100ml y Huanchaquito valores altos para *Escherichia coli* con 98 NMP/100mL.
- Los valores del análisis de Varianza multifactorial de los parámetros químico-físicos y bacteriológicos fueron mayores a 0,05; por lo tanto los valores son homogéneos en las playas Huanchaco y Huanchaquito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guerrero M, Florián C. Calidad bacteriológica del agua de bebida y recreación en las cuencas de los ríos Huallaga y Mayo en el departamento de San Martín-Perú. REBIOL 1993; 13(1-2): 55-66.
2. Marín B, Garay J, Ramirez G, Betaconcourt J, Troncoso W, Gómez M. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico Colombiano. Red de vigilancia para la conservación y protección de aguas marinas y costeras de Colombia. Diagnostico Nacional y Regional. IVEMAR. 2005.
3. Marín B, Calvin N, Ramírez G, Troncoso W, Medina L. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico Colombiano. Red de vigilancia para la protección y conservación de la calidad de las aguas marinas y costeras. Colombia. INVEMAR. 2002.
4. Cabelli J. Health Effects criteria for Marine Recreational Waters. Washington, D.C. US Environmental Protection Agency. 1984.
5. Comisión Federal Para La Protección Contra Riesgos Sanitarios. Lineamiento para determinar la Calidad de agua de mar para uso recreativo de contacto primario. Secretaria EsSalud. Lima. Perú. 2004
6. Obón J. Análisis microbiológico del agua. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad Politécnica de Cartagena. Colombia. 2009
7. Galv L. A Water Pollution crisis the Americas. Habitat Devate. USA. 2003; 9 (3): 10.
8. Vergaray G, Méndez C, Morante H, Heredia V, Bejar V. *Enterococcus* y *Escherichia coli* como indicadores de contaminación fecal en playas costeras de Lima. Ministerio de la Salud. Lima. Perú. 2007
9. Iñiguez L, Gutiérrez C, Miramontes L, López A. El impacto de la actividad turística en la calidad bacteriológica del agua de mar. Gaceta ecológica México 2007; 82: 69-76
10. Sierra C. Calidad del agua. Evaluación y diagnóstico. Universidad de Medellín. Ediciones de la Universidad de Colombia. 2011; pp.135-136
11. Durand A. Las Aguas Residuales de Lima: un reto metropolitano. Inst Francés de estudios Andinos. 2007.
12. DIGESA. Directiva Sanitaria que Establece el Procedimiento para la Evaluación de la Calidad Sanitaria de las Playas del Litoral Peruano Directiva Sanitaria N°038-MINSA/DIGESA-Vol 1. 2010
13. Osoreo F, Roca J, Ramos W, Domínguez N. Presencia de bacterias patógenas en las aguas de la desembocadura del Río Surco y la Playa La Chira, Lima, Perú. Acta Med Per 2009; 26(4): 243-245
14. Zapata E, López E, Gonzáles I, Montero P, Romero K. Delimitación y caracterización de bancos naturales de invertebrados bentónicos comerciales y áreas de pesca artesanal en el litoral de Tumbes. IMARPE. 2010
15. IMARPE. Variación de parámetros oceanográficos en las estaciones fijas de Pacasmayo, Malabrigo, Huanchaco, Salaverry y Puerto Morín. Informe Anual: Seguimiento y Variabilidad Ambiental Región La Libertad. Laboratorio Costero de Huanchaco. 2009
16. Flores M, Hernández F, Miranda R. Calidad bacteriológica de las principales playas de la bahía de Acapulco, Guerrero. Programa de Maestrías en Ciencias del Mar. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad de Colima. Manzanillo. México. 2011
17. Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental. Calidad Sanitaria de las playas del Litoral Peruano, Control de Calidad Microbiológica. 2010
18. MINAM. Decreto Supremo N° 002-2008 –. Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Aguas Categoría: Poblacional y recreacional. Perú. 2008. Disponible en: <http://www.minam.gob.pe>
19. Reátegui L. Calidad de agua Huanchaco, en la estación marina en la zona litoral, playa en la estación de verano 2009. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú, 2009.
20. Flores A. Indicadores de contaminación fecal de las playas Huanchaco, Huanchaquito y Buenos Aires de Trujillo, Octubre 2011-Abril 2012. Tesis de Biólogo Pesquero. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2012
21. APHA-AWWA-WPCF. Métodos Normalizados para el Análisis del Agua Potable y Residuales. 17° ed. Edit. Días de los Santos S. A. Madrid-España. 1992
22. Organización Mundial de la Salud (OMS). Guía para la calidad del agua potable. Vigilancia y control de los abastecimientos de agua a la comunidad. Ginebra. 1985: 3: 8
23. CEPIS, PNUMA Y Ministerio de Salud. Curso Regional sobre técnicas microbiológicas para evaluar la contaminación en aguas y playas del Pacífico Sur. Perú. 1988
24. Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento (SUNASS). Guía sobre el control de calidad del agua. Lima-Perú. 1999
25. Instituto del Mar del Peru-IMARPE. Variación de parámetros oceanográficos en las estaciones fijas de Pacasmayo, Malabrigo, Huanchaco, Salaverry y Puerto Morín. Informe Anual: Seguimiento y Variabilidad Ambiental Región La Libertad. Laboratorio Costero de Huanchaco. 2010

26. Instituto del Mar del Perú-IMARPE. Variación de parámetros oceanográficos en las estaciones fijas de Pacasmayo, Malabrigo, Huanchaco, Salaverry y Puerto Morín. Informe Anual: Seguimiento y Variabilidad Ambiental Región La Libertad. Laboratorio Costero de Huanchaco. 2012.
27. Zuta S, Guillen O. Oceanografía de las aguas costeras del Perú. Junio 1970. Instituto del Mar del Perú. 1970. 2(5).
28. Instituto Nacional de Salud. Análisis Físicoquímico de aguas. Manual de procedimientos. ISBN-958-13-0049-X. Colombia. 1991
29. Cabrera C. Estudio de la contaminación de las aguas costeras en la Bahía de Chancay. Tesis Maestro en Historia y Geografía. Escuela de Postgrado. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2002.
30. Rodier J. Análisis de las aguas. España: Editorial Omega. 1990
31. Noble R, Moore T, Leecaster D, McGee M, Weisberg C. Comparison of total coliform, fecal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. Water Reserch 2003; 37:1637-1643
32. Silva M. Indicadores de Contaminación fecal en el agua de mar de la playa Las Delicias y del Puerto Salaverry. Trujillo, Noviembre 2011-Abril. 2012.



Actividad antagónica in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinerea*

Antagonistic in vitro activity of *Clonostachys rosea* on *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*

Walter Flores-Bazauri, Julio Chico-Ruíz y Lisi Cerna-Rebaza
Laboratorio de Fitopatología, Universidad Nacional de Trujillo-Perú.

RESUMEN

En el control fúngico se hace uso de sustancias químicas que producen deterioro del medio ambiente y esta actividad se puede disminuir utilizando controladores biológicos. Por ello, se propuso evaluar la capacidad antagónica de *Clonostachys rosea* sobre el crecimiento de: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinerea*. Se realizaron aislamientos, monocultivos y microcultivos de los hongos fitopatógenos así como de las cepas de *C. rosea* en medios de cultivo Agar Papa Dextrosa (DPA) y aplicando cultivos duales. Se comprobó el efecto antagónico de *C. rosea* sobre *B. cinerea* (grado 2) y *F. oxysporum* (grado 2), así como, poca capacidad antagónica frente *A. solani* (grado 3). Se concluye que *C. rosea* ejerce una franca actividad antagónica.

Palabras clave: Hongos, Antagonismo, *Clonostachys rosea*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*

ABSTRACT

In the fungal control using chemicals that cause environmental degradation and this activity can be decreased by using biological control is done. Therefore we decided to evaluate the antagonistic capacity of *Clonostachys rosea* on the growth of *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. Isolates, and microculture monocultures phytopathogenic fungi as well as strains of *C. rosea* in culture media Potato Dextrose Agar (DPA) and applying dual cultures were made. The antagonistic effect *Cl. rosea* on *B. cinerea* (grade 2) and *F. oxysporum* (grade 2) was found little addition antagonistic capacity check against *A. solani* (grade 3). It was concluded that *C. rosea* exerts evident antagonistic activity.

Keywords: Fungi, Antagonism, *Clonostachys rosea*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades producidas por hongos fitopatógenos causan pérdidas severas en la agricultura, éstas consisten en la reducción de la calidad y/o la cantidad de la cosecha obtenida⁵. La forma tradicional para el control de las enfermedades en cultivos es la aplicación de productos químicos, pero debido a su composición resultan tóxicos e inespecíficos, ya que además de eliminar los organismos fitopatógenos, dañan la flora del suelo⁶. Por ello es necesaria la búsqueda de alternativas orientadas al manejo de agentes antagonistas que sean eficientes y compatibles con el ambiente³.

Clonostachys rosea f. rosea, también conocido como *Gliocladium roseum*, es una especie de hongo que coloniza plantas vivas como endófito, digiere el material en el suelo como un saprofito y también se conoce como un parásito de otros hongos y nematodos; se reproduce una amplia gama de compuestos orgánicos volátiles que son tóxicos para los organismos, incluyendo otros hongos, las bacterias y los insectos, y es de interés como el controlador biológico de agentes plaga².

En Latinoamérica como en el resto del mundo, existen numerosos hongos que son parásitos obligados o facultativos de las plantas, y constituyen la principal causa de infecciones y enfermedades en ellas. En el Perú, el panorama es parecido encontrándose una gran variedad de hongos que atacan a plantas de interés económico; varios, tales como, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Pythium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Alternaria* y *Penicillium* son hongos que afectan a la planta¹.

Alternaria contiene especies cosmopolitas que se encuentran en un amplio rango de materiales y productos; como saprobias pueden deteriorar alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos y perjudiciales como las micotoxinas; al mismo tiempo, como patógenas reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados; por ello, resulta necesaria una identificación precisa de las especies porque cada nombre entraña un conjunto de características (preferencias para el crecimiento, patogenicidad, producción de metabolitos secundarios) que permiten predecir el comportamiento del hongo³,

Botrytis, patógeno que causa la enfermedad del moho gris en una amplia variedad de huéspedes^{14,15}, y es un grave problema económico en cultivos como uva, fresas, frambuesas, lechugas, pepinos, habas, tomates, frijoles, flores y plantas forestales producidas en contenedores¹⁵. Por ello, los problemas causados por miembros del género *Botrytis* se han observado en la mayoría de los viveros forestales en el hemisferio sur con diferentes niveles de incidencia y severidad de la enfermedad, causando pérdidas superiores al 50% en algunos casos⁴.

Por su parte, se ha registrado que *Fusarium* ataca a más de 100 especies de plantas entre gimnospermas y angiospermas, ya que puede formar tres estructuras de resistencia: macroconidios (estructuras distintivas del género), microconidios y clamidosporas, estas últimas son las que le permiten sobrevivir como saprofito de vida libre en ausencia de un hospedero y es el causante de la grave enfermedad de algunas especies vegetales, en particular del “pino”, sin que se haya podido encontrar un método eficaz de control^{5,6}. El uso de productos químicos a nivel agrícola en Perú se ha visto muy sobrecargado en los últimos años, y se prevé que su utilización en el futuro sea más extensa. Los hongos endófitos, aquellos que viven en el interior de los tejidos del hospedante sin causarle daño alguno, tienen potencial como controladores biológicos de algunas enfermedades de plantas. El objetivo del presente trabajo fue la evaluación del antagonismo de cepas de *Clonostachys rosea* sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani* y *Botrytis cinerea*.

MATERIAL Y METODOS

Hongos

- Cepas certificadas de *Clonostachys rosea* adquiridas de SENASA
- Cultivos preparados de: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*

Aislamiento y determinación de los hongos fitopatógenos

De frutos infectados con el hongo problema se tomaron las muestras de tejido enfermo las cuales se colocaron en medio PDA (agar papa) y luego se incubaron a temperatura ambiente durante una semana. Aislados y formando monocultivos se procedió a determinar los hongos fitopatógenos cultivados, utilizando claves taxonómicas¹⁰, microscopio compuesto y cámara fotográfica.

Aislamiento y obtención de cultivo puro de *Clonostachys rosea*^{7,9}

Se realizó siguiendo los pasos del manual adjunto a las cepas certificadas adquiridas del Servicio Nacional de Sanidad Agrícola (SENASA). Un frasco, conteniendo las cepas de *Cl. rosea* en un pedazo de papel de filtro, se procedió a retirar con ayuda de una pinza esterilizada y se colocó en una placa petri que contenía PDA, luego se vertió una gota de agua estéril y se dejó reposar por 3 minutos, posteriormente con una asa bacteriológica se realizó un frotis por toda la placa petri, para luego sellar la placa con pegafán. Luego de 7 días se pudo observar su crecimiento (Fig. 1).



Fig. 1. Cultivo puro de *Clonostachys rosea* en placa Petri a los siete días.

Prueba de antagonismo o cultivo dual

Para evaluar el efecto antagonista se colocaron a crecer individualmente los aislamientos de hongos fitopatógenos en placas Petri conteniendo PDA (30 gramos/L). Los cultivos puros de los hongos tenían 7 días de edad y se habían producido a 27° C en PDA. Para la prueba se tomó una porción de 3mm de diámetro del cultivo de cada hongo y se colocó en un extremo de la caja Petri y en el otro se sembró *C. rosea*. En el experimento se utilizaron tres repeticiones por aislamiento. Los testigos estuvieron representados por cada hongo sembrado por separado en placas Petri. Los cultivos duales se incubaron a 27°C durante una semana y para evaluar el efecto antagonista se midió el crecimiento de cada uno de los hongos diariamente, desde el punto de siembra hasta el borde de la colonia, y con los datos obtenidos se calculó la velocidad de crecimiento y el porcentaje de inhibición para cada hongo fitopatógeno. Utilizando la fórmula de Ezziyyani ¹⁹ se obtuvo el porcentaje de Inhibición (PI), para ello se midió el diámetro de la colonia control (D.C.C), diámetro de la colonia del hongo en interacción con su antagonista (D.C.P)

$$P.I = \frac{(D.C.C - D.C.P)}{D.C.C} \cdot 100$$

Para indicar el micoparasitismo (MICMO) como posible mecanismo de acción de *Cl. rosea* se realizaron observaciones macroscópicas del cultivo dual, tomándose como índice de micoparasitismo, la invasión del antagonista sobre la superficie del micelio del hongo fitopatógeno, teniéndose en cuenta la escala de Bell et al. (1982)¹⁹.

Diseño experimental¹⁸.

Se realizó un diseño al azar, con un número de siete tratamientos y tres repeticiones por tratamiento, incluyendo a un testigo (control) de cada uno.

Tabla 1. Escala de Bell para evaluar el micoparasitismo de *Clonostachys rosea*¹¹

GRADO	MICOPARASITISMO	% DE CUBRIMIENTO DEL ANTAGONISTA DE LA SUPERFICIE DEL MEDIO
1	El antagonista ocupa completamente la superficie del medio de cultivo cubriendo totalmente al patógeno.	100 %
2	El antagonista llega a sobrepasar las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.	75 %
3	El antagonista y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio y ninguno parece dominar al otro.	50 %
4	El patógeno sobrepasa al crecimiento del antagonista colonizando tres cuartas partes de la caja Petri.	25 %
5	El agente fitopatógeno llega a cubrir totalmente la placa Petri.	0 %

Tabla 2. Diseño experimental para demostrar el antagonismo de *Clonostachys rosea* sobre hongos fitopatógenos

TIPO DE CULTIVO	COMBINACIONES	TRATAMIENTOS
Monocultivos	<i>Clonostachys rosea</i> (testigo)	T1
	<i>Alternaria solani</i> (testigo)	T2
	<i>Botrytis cinérea</i> (testigo)	T3
	<i>Fusarium oxysporum</i> (testigo)	T4
Cultivos duales	<i>Cl. rosea</i> vs <i>A. solani</i>	T1 x T2 = T5
	<i>Cl. rosea</i> vs <i>B. cinerea</i>	T1 x T3 = T6
	<i>Cl. rosea</i> vs <i>F.oxysporum</i>	T1 x T4 = T7

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el enfrentamiento de *Cl. rosea* frente *A. solani* se registró un crecimiento de 6,6 cm y de manera aislada (control) en el mismo número de horas obtuvo 6,7 cm; mientras que *Cl. rosea* en el cultivo dual obtuvo 6,1 cm de crecimiento micelial y en la prueba control 6,9 cm; como se observa en la Tabla 3, Fig. 2 y 5.

Cl. rosea creció a una velocidad superior a la de *B. cinerea*, observándose que a las 168 horas en el cultivo dual obtuvo un crecimiento de 4,7 cm y, de manera aislada (control), alcanzó en el mismo número de horas un crecimiento de 5,3 cm; mientras, que *Cl. rosea* en el cultivo dual obtuvo un crecimiento de 8 cm y de manera aislada (control) su crecimiento fue de 8,4 cm; como se puede observar en la Tabla 4, Fig. 3 y 5.

En el caso de *Cl. rosea* frente *F. oxysporum*, también se observó una velocidad de crecimiento superior a *Cl. rosea*; éste creció casi a la par que las cepas de *Cl. rosea*, la diferencia se marcó a las 168 h de crecimiento donde *F. oxysporum* registró un crecimiento de 6,4 cm y de manera aislada (control) en el mismo número de horas obtuvo un crecimiento de 7,1 cm; mientras que *Cl. rosea* en el cultivo dual obtuvo un crecimiento de 7,1 cm mientras que de manera aislada (Control) su crecimiento fue de 8,1 cm.

El porcentaje de inhibición frente a estos fitopatógenos, a los 7 días de siembra, se presentó de la siguiente manera: *Cl. rosea* presentó los índices más bajos de inhibición del crecimiento micelial a las 24 horas de siembra frente a todos los fitopatógenos y después de 7 días sólo *B. cinerea* tuvo los índices más altos que *Cl. rosea* presentando un PCI de 11.3 % mientras que *Cl. rosea* presentó un PCI de 4.8 %, como se observan en las Fig. 2,3,4.

Tabla 3. Promedio del crecimiento en cm (diámetro) de *Clonostachys rosea* (Clr) y *Alternaria solani* (Als) en prueba de antagonismo y su respectivo control, tomado cada 72 horas.

Horas	Antagonismo		Control	
	Clr	Als	Clr	Als
24	0.4	0.1	0.6	0.2
96	4.4	4.2	4.6	4.4
168	6.1	6.6	6.9	6.7

Tabla 4. Promedio del crecimiento en cm (diámetro) de *Clonostachys rosea* (Clr) y *Botrytis cinérea* (Boc) en prueba de antagonismo y su respectivo control, tomado cada 72 horas.

Horas	Antagonismo		Control	
	Clr	Boc	Clr	Boc
24	0.4	0.2	1.2	0.9
96	4.5	3.4	4.7	4.0
168	8.0	4.7	8.4	5.3

Tabla 5. Promedio del crecimiento en cm (diámetro) de *Clonostachys rosea* (Clr) y *Fusarium oxysporum* (Fuo) en prueba de antagonismo y su respectivo control, tomado cada 72 horas.

Horas	Antagonismo		Control	
	Clr	Fuo	Clr	Fuo
24	0.4	0.1	0.9	0.5
96	5.2	4.7	6.3	5.2
168	7.1	6.4	8.1	7.1

La técnica del plato dual mostró que *Cl. rosea* tiene la capacidad de crecer sobre el micelio de *B. cinerea* y *F. oxysporum* indicando con ello la existencia del mecanismo de mico-parasitismo (Fig. 3,4,5), igual comportamiento se observa en condiciones de campo según las investigaciones de Chávez y Wang,⁸ Peng et al.,¹² Sutton y Yu,¹³ Molina et al.,¹⁶ Zaldúa y Sanfuentes,¹⁷ Morago et al.²¹ En cambio mostró una aparente acción de antibiosis contra *A. solani*, debido a su velocidad de crecimiento que logró causar una inhibición de 50% a las 24 horas (Fig. 2) comparados con el crecimiento de la colonia testigo (33,3%), resultados similares se obtuvo en plantas de guisante y en semillas de zanahoria imprimidas con *Cl. rosea*.^{20,22} Esta capacidad antagónica de *Cl. rosea* se basa en un rápido crecimiento y una rápida colonización del sustrato, degradando paredes celulares del patógeno probablemente por la secreción de numerosos enzimas líticas. Además los resultados de la prueba dual en su conjunto confirman la teoría inicial sobre la posible existencia de dos mecanismos de antagonismo: mico-parasitismo y antibiosis.²³

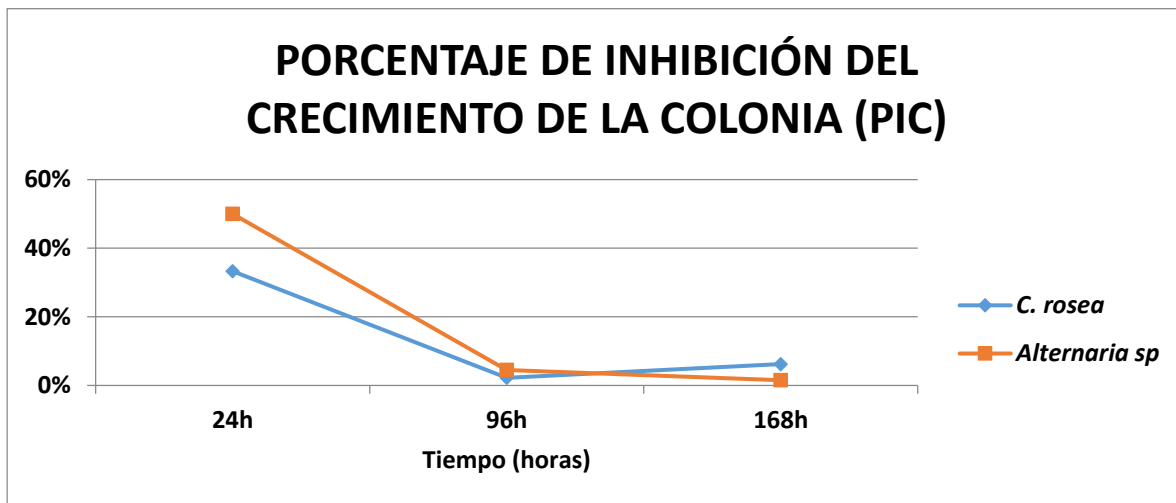


Fig. 2. Porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia (PIC) de *Clonostachys rosea* y *Alternaria solani*, tomado cada 72 horas x 7 días

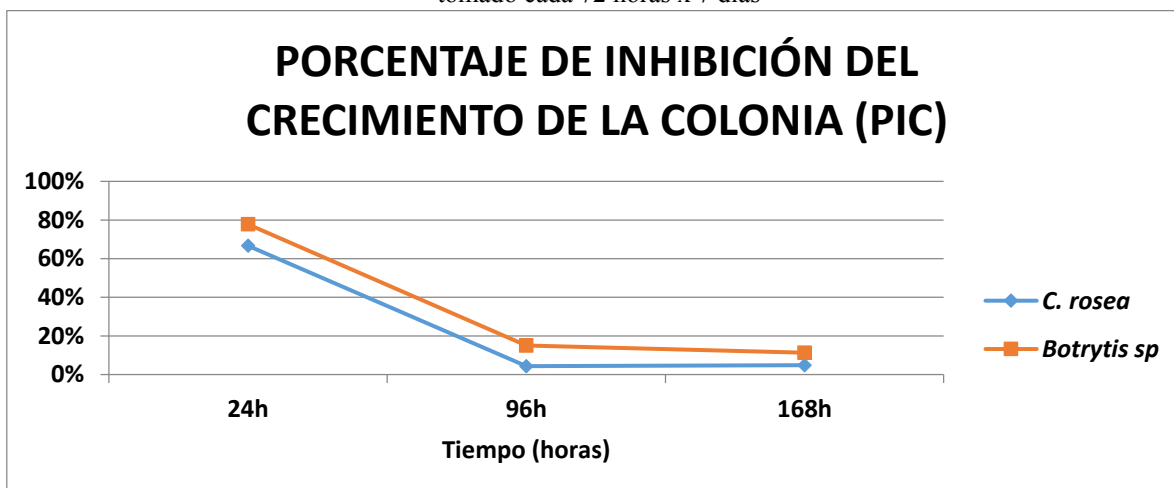


Fig. 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia de *Clonostachys rosea* y *Botrytis cinerea*, tomado cada 72 horas x 7 días

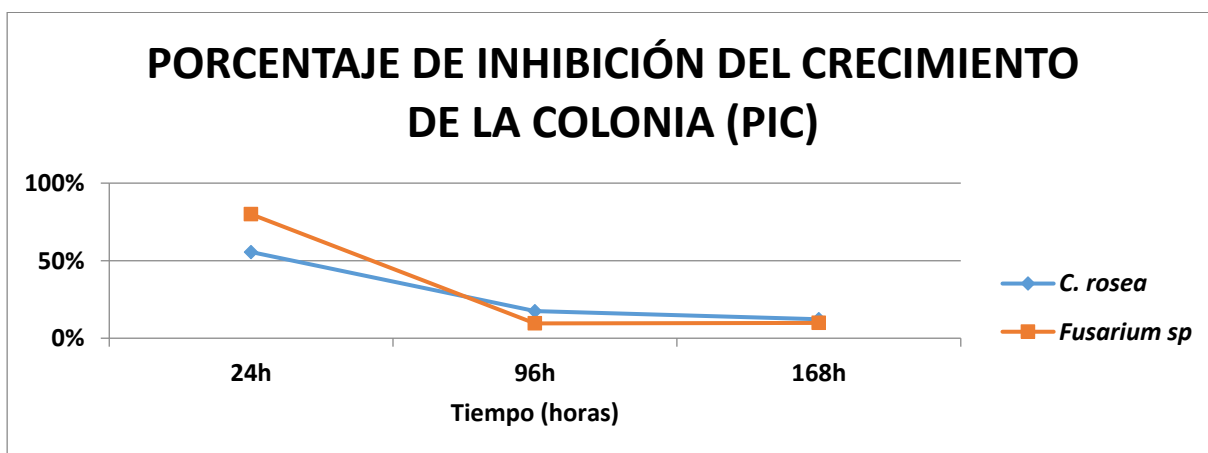


Fig. 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia de *Clonostachys rosea* y *Fusarium oxysporum*, tomado cada 72 horas x 7 días



A. solani

Antagonismo tipo 3



F. oxysporum

Antagonismo tipo 2



B. cinerea

Antagonismo tipo 2

Fig. 5. Observación macroscópica del cultivo dual de *Clonostachys rosea* y los hongos fitopatógenos a los 7 días y creciendo en agar papa dextrosa (PDA). También se observa el tipo de antagonismo según la escala de Bell.

Al respecto, se debe tener en cuenta que el micoparasitismo es un proceso complejo de quimiotropismo cuya acción antifúngica específica es desconocida; sin embargo, se ha propuesto una serie de etapas por la que *Cl. rosea* lleva el antagonismo, las cuales son: (a)reconocimiento, (b)penetración de la hifa, (c) invasión y secreción de enzimas hidrolíticas²⁰, siendo éste último el de mayor interés, ya que no se ha determinado con exactitud el mecanismo mediante el cual se controla la expresión de cada una de las enzimas involucradas; así como, su orden. Durante la etapa de reconocimiento, se lleva a cabo un proceso de quimiotropismo, el cual es mediado por el reconocimiento de lectinas, que se encuentran incorporadas en el hongo fitopatógeno, y cuando el micoparásito reconoce al hongo, las hifas de *Cl. rosea* lo atrapan y lo rodean formando estructuras apresoras.³ Asimismo, en cuanto a la penetración de la hifa, ésta se realiza mediante la degradación de la pared celular del hongo fitopatógeno, por medio de la secreción de enzimas que actúan sinérgicamente, y a las que se les denomina en conjunto como las enzimas degradadoras de pared celular, conformado por β -1,3-glucanasas, quitinasas y proteasas, las cuales se inducen por la presencia de las paredes celulares de hongos fitopatógenos^{3,24}.

Las investigaciones sobre el controlador *Cl. rosea* es muy limitado y poco conocido sobre todo en el Perú. Hasta el momento los resultados indican la capacidad inhibitoria de *Cl. rosea* sobre *B. cinerea*, *F. oxysporum*, *A. solani* en condiciones in vitro. El presente trabajo es un modelo para seguir investigando en busca de un biocontrolador para diferentes hongos fitopatógenos que causan daño económico en cultivos de “vid” en el Perú.

CONCLUSIONES

- El grado de antagonismo de *Cl. rosea* sobre *B. cinerea* corresponde al grado 2 y el porcentaje de inhibición fue de 11,3%.
- El grado de antagonismo de *Cl. rosea* sobre *A. solani* corresponde al grado 3 y el porcentaje de inhibición fue de 1,5%
- El grado de antagonismo de *Cl. rosea* sobre *Fusarium oxysporum* corresponde al grado 2 y el porcentaje de inhibición a los 15 días de sembrado, fue de 9,9%.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agrios C. Fitopatología. 3ª ed. México DF: Edit. Limusa S.A. 2004.
2. Ordoñez V. Producción de enzimas microbianas y sus aplicaciones en la industria. En: II Cong Intern Microbiol Indust. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. 2000
3. Hernández-Lauzardo A, Bautista-Baños S, Velásquez-Del Valle M. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Rev Mex Fitopatol 2007; 25: 66-74
4. Arzate J, Michel A, Domínguez V, Santos O. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la Sigatoka Negra del plátano (*Musa* sp.) in vitro e invernadero. Rev Mex Fitopatol 2006; 24: 98-104.
5. Fraire-Cordero M, Yáñez M, Nieto D, Vázquez G. Hongos patógenos en fruto de “fresa” (*Fragaria ananassa* Duch.) en postcosecha. Rev Mex Fitopatol 2003; 2: 285-91
6. Llácer G, López M, Trapero A, Bello A. Patología Vegetal. 2a ed. México DF: Edit. Grupo Mundi-Prensa, S.A. 2000.
7. Molina G, Zaldúa S, González G, Stowasser S. Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. Laboratorio de Patología Forestal. Universidad de Concepción. Chile. 2006.
8. Chávez N, Wang A. Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la “fresa” mediante *Gliocladium roseum*. Rev Agron Costarricense 2004; 28(2): 73-85
9. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Manual de procedimientos para verificación de calidad de agentes biológicos para el control de plagas agrícolas, producidos por laboratorios en convenio con el SENASA. Directiva General N° 24/2001-SENASA-DGSV-PNCB. Lima. Perú. 2001.
10. Barnett H, Hunter B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4ª ed. The American Phytopathological Society, S.A. EE.UU. 1998.
11. Ezziyyani M. Biocontrol mediante una combinación de microorganismos antagonistas. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia-España. 2004.
12. Peng G, Sutton J, Evan P. Effectiveness of honeybees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. Canadian J Plant Pathol 1992; 14(2):117-129.
13. Sutton J, Yu H. *Gliocladium roseum*: a cosmopolitan antagonist of *Botrytis cinerea* and other pathogens in crops. In: Cong Annual APS, División Caribe. San José, Costa Rica. 1997.
14. Cota L, Maffia L, Mizubuti E, Macedo P, et al. Control biológico de la podredumbre gris de la fresa por *Clonostachys rosea* en condiciones de campo. Control Biológico 2008; 46: 515-522.
15. Elad Y, Malathrakis N, Dik A. El control biológico de las enfermedades incitadas-*Botrytis* y mildiú de los cultivos de invernadero. Crop Protection 1996; 15: 229-240
16. Molina G, Zaldúa S, González G, Sanfuentes E. Selección de hongos Antagonistas. Control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros Forestales. Bosque 2006; 27(2): 126-134
17. Zaldúa S, Sanfuentes E. Control of *Botrytis cinerea* in *Eucalyptus globulus* mini-cuttings using *Clonostachys* and *Trichoderma* strains. Chilean J Agricul Res 2010; 70(4): 576-582
18. Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/bosque/v27n2/art07.pdf>
19. Hidalgo N. Uso de *Trichoderma* spp. En combate biológico. San José. Universidad de Costa Rica; 1999. Disponible en: <https://www.ibun.unal.edu.co/r2r7e.html>
20. Jensen B, Knudsen I, Madsen M. Biopriming of Infected Carrot Seed with an Antagonist, *Clonostachys rosea*, Selected for Control of Seedborne *Alternaria* spp. Phytopathol 2004; 94(6): 551-560
21. Moraga-Suazo P, Opazo A, Zaldúa S, González G, Sanfuentes E. Evaluation of *Trichoderma* spp. and *Clonostachys* spp. strains to control *Fusarium circinatum* in *Pinus radiata* seedlings. Chilean J Agricul Res 2011; 71(3): 412-417

22. Xue A. Biological Control of Pathogens Causing Root Rot Complex in Field Pea Using *Clonostachys rosea* Strain ACM941. *Phytopathol* 2003; 93(3): 329-335
23. Rodríguez Y, Osorio J. Evaluación de microorganismos por su potencial antagónico para el control biológico de *Monilophthora roreri* (Cif) Evans et al. al agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Fitopatología Colombiana* 2004; 28(1):14-19
24. Rodríguez-Lacherre M, Chico-Ruíz J. Efecto antagónico in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinerea* procedente de cultivos de *Vitis vinífera*. *REBIOL* 2013; 33(2): 42-49



Efecto citotóxico de Tartrazina en el índice mitótico de células meristemáticas de *Allium cepa*

Cytotoxic effect of Tartrazine in the mitotic index of meristematic cells of *Allium cepa*

Lam Ulloa Carbajal, Fátima Zavala de la Cruz y Manuel Sisniegas
Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se determinó el efecto citotóxico de la Tartrazina en el índice mitótico de células meristemáticas de *Allium cepa* expuesta a diferentes tiempos y concentraciones. Para ello, bulbos enraizados de *A. cepa* se expusieron a 0 mg/mL, 0.1 mg/mL, 1mg/mL y 5mg/mL de Tartrazina durante 8 y 24 horas en un diseño jerárquico. Posteriormente, las raicillas fueron aisladas, fijadas y coloreadas para realizar el preparado citológico y su posterior lectura al microscopio. Los resultados mostraron una disminución del índice mitótico (IM) en todos los tratamientos ensayados con respecto al control y testigos, siendo el tratamiento de 5 mg/mL-8 horas el que generó un menor valor del IM (3.3 %). Asimismo, se observó la disminución del índice de fases en todos los tratamientos con respecto al control. Se concluye que la Tartrazina disminuye el Índice mitótico y de fases de células meristemáticas de *A. cepa*.

Palabras clave: Citotoxicidad, *Allium cepa*, Tartrazina, índice mitótico.

ABSTRACT

Tartrazine is one of the most widely used artificial colorings in the Peruvian market, this dye has caused controversy as to its toxic effects, which is why the cytotoxic effect of tartrazine was determined using the *Allium* test. For this, bulbs were exposed Rooted *A. cepa* Tartrazine at 4 concentrations for 2 different times. Subsequently rootlets were isolated, fixed and stained for cytologic preparation and later reading microscope. The results showed a decrease in the mitotic index (MI) in all treatments tested Tartrazine from control and witnesses whose treatment 5 mg / mL-8hrs which genre IM lowest (3.3%), therefore decreases Tartrazine and mitotic phases of meristematic cells of *A. cepa* Index., possibly because the meristematic cells of *A. cepa* respond to foreign agents inhibiting or delaying the division.

Key words: Cytotoxicity, *Allium cepa*, Tartrazine, mitotic index.

INTRODUCCIÓN

La Tartrazina es uno de los colorantes artificiales más utilizados en la industria de alimentos, tales como bebidas gasificadas amarillas y anaranjadas, bocaditos de tipo chizitos, chocolates, entre otros^{1,2} que presentan un consumo excesivo e indiferente, por lo que la DIGESA³ normativizó su uso, solicitando consignar su presencia o ausencia en la etiqueta de los productos, al final de la lista de ingredientes, en forma específica, clara, visible, e indubitable, con letra mayúscula y negrita.

La Tartrazina (E-102, $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$), cuya masa molar es 534,4, pertenece al grupo de los colorantes azoicos⁴ caracterizados por la presencia del grupo azo ($-N=N-$) unido a anillos aromáticos, se presenta en forma de polvo brillante, de color amarillo-naranja, es inoloro, higroscópico, estable en ácidos, soluble en agua y poco soluble en etanol. En condiciones alcalinas adquiere una coloración rojiza⁵, y en condiciones de luz solar y a un pH ácido es químicamente inestable⁶.

En la última década, este colorante ha causado controversia en cuanto a sus efectos tóxicos, y su uso fue prohibido en algunos países como Estados Unidos, Japón, Australia y Alemania, que demostraron inducción de aberraciones cromosómicas y otros efectos genotóxicos en mamíferos^{7,8,9}; además, se ha demostrado *in vitro* el potencial mutagénico en cultivos de células del estómago humano¹⁰. Sin embargo, en otro estudio realizado en Francia concluyeron que la tartrazina no genera aumento de la frecuencia de células micronucleadas en colon de ratas a las concentraciones de 1000 mg/kg, 200 mg/kg y 20 mg/kg^{11,12}.

La citotoxicidad y la genotoxicidad del colorante Tartrazina también fue comprobado en un bioensayo en *Allium cepa* L. cuyo resultado fue la reducción significativa del índice mitótico y la presencia de puentes anafásico, telofásicos y micronúcleos¹³. Debido a esta controversia se propuso una investigación dirigida a determinar el efecto citotóxico de la Tartrazina en células meristemáticas de *Allium cepa* expuesta a diferentes tiempos y concentraciones, mediante la evaluación del índice mitótico e índice de fases.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico y químico, selección y preparación de bulbos de *A. cepa* L.

Se utilizaron bulbos de *Allium cepa* L. variedad roja arequipeña, adquiridos en el Mercado Indoamericano de Santo Domingo de la Ciudad de Trujillo (La Libertad), también se utilizó el colorante industrial amarillo Tartrazina (E-102) en polvo, cantidad 30 g, adquirido en Laboratorios Su Man. Los bulbos se seleccionaron de acuerdo a criterios de inclusión como la homogeneidad en tamaño, forma, color, consistencia dura, peso entre 60 y 70 g. y buenas condiciones sanitarias, seleccionándose aproximadamente 100 bulbos a los que se les aislaron las catáfilas y raicillas secas teniendo cuidado de no dañar el disco radicular.

Acondicionamiento del material biológico y exposición de raicillas de *A. cepa* a soluciones de Tartrazina

Los bulbos de *A. cepa* L. se colocaron en vasos descartables de 100 mL con agua potable procurando mantener sumergido solo el disco radicular con recambio diario de agua, después de 72 horas (3 días) de crecimiento de raicillas, se seleccionaron 12 bulbos con mayor número de raicillas con 2 a 3 cm. de longitud, a fin de asegurar la presencia de células con una cinética mitótica constante. De los bulbos seleccionados, el grupo control (3 bulbos) se mantuvieron en agua potable y los otros tres grupos cada uno de 3 bulbos fueron expuestos a soluciones de Tartrazina a concentraciones de 0 mg/mL (T2 y T3), 0.1 mg/mL (T4 y T5), 1 mg/mL (T6 y T7) y 5 mg/mL (T8 y T9) durante 8 y 24 horas, respectivamente, siguiendo un diseño Jerárquico o anidado (Tabla 1)

Fijación, conservación y coloración de raicillas de *A. cepa*.

Después de 8 horas de exposición, se cortaron la mitad del número total de raicillas de cada bulbo y la otra mitad, se cortaron a las 24 horas; finalmente, cada raicilla se fijó en solución de Carnoy's y fueron conservados a 4°C, las raicillas fueron retiradas de la solución fijadora de Carnoy's, y se lavaron 3 veces en agua destilada para retirar los restos del fijador. Luego, se procedió a secarlas con papel toalla para eliminar los restos de agua de la superficie. Posteriormente, siguiendo la técnica de Tijio y Levan (1956), se procedió a colorearlas y a realizar los preparados citológicos

Identificación, recuento celular y análisis estadístico

Se realizó la identificación de las fases mitóticas y recuento celular de aproximadamente 3000 células meristemáticas de cada tratamiento. Posteriormente, se calcularon los índices mitóticos e índices absolutos de fases. Y también se evaluó la estimación mediante la prueba estadística de ANAVA para un Diseño Anidado. El Diseño anidado permitirá encontrar y reducir las diferencias significativas entre raíces de un mismo bulbo, entre raíces de diferentes bulbos y entre tratamientos.

RESULTADOS

Se encontró que la Tartrazina mostró un efecto citotóxico para las células meristemáticas de ejemplares de *A. cepa* expuestas a diferentes concentraciones y tiempos. Al comparar cada testigo (0 mg/mL-8 horas y 0 mg/mL-24 horas) con su tratamiento respectivo se puede observar una reducción significativa ($p < 0,055$) del índice mitótico, siendo el tratamiento 5 mg/m-8 horas (T8) el que causo el más bajo Índice mitótico en sus bulbos anidados (Tabla 1).

Se observó, asimismo, que el proceso mitótico en las células tratadas con Tartrazina se altera, observándose mayormente células en fases terminales: anafase y telofase (Fig. 1); sin embargo, como corresponde, el óndice profasico es le que prevalece inicialmente y luego decae drmicamente en las células tratadas, a diferencia de las otras fases que no sufren mayores aumentos (Fig. 2).

Tabla 1. Promedio y Desviación estándar del Índice mitótico absoluto de células meristemáticas de *Allium cepa* expuestas a diferentes tiempos y concentraciones de Tartrazina

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Bulbo	0mg/ml-0h	0mg/ml-8h	0mg/ml-24h	0.1mg/ml-8h	0.1mg/ml-24h	1mg/ml-8h	1mg/ml-24h	5mg/ml-8h	5mg/ml-24h
Bulbo 1	10.0±0.6	9.9±0.5	6.5±1.8	8.8±0.3	7.1±2.1	5.3±0.5	4.0±1.5	3.7±1	4.5±2.6
Bulbo 2	4.1±1.5	10.1±0.2	3.7±1.8	7.3±0.9	5.9±1.3	4.6±1	3.8±0.4	3.3±1.5	4.4±1.2
Bulbo 3	3.0±0.8	10.3±0.3	3.7±0.9	6.7±1.3	5.8±1.8	3.8±0.9	4.2±1.2	3.3±0.4	4.7±1

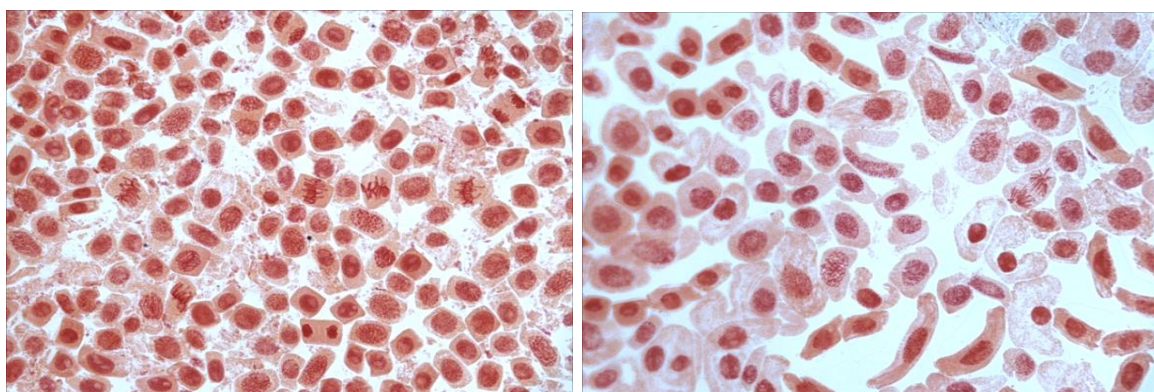


Fig. 1. Microfotografías de células meristemáticas de *Allium cepa* coloreadas siguiendo la técnica de Tijio y Levan (X400): izquierda, sin ningún tratamiento (hay presencia de células en las cuatro fases de la mitosis) y derecha, tratadas con 5 mg/mL de Tartrazina durante 8 horas (T8), nótese la presencia mayoritaria de células en profase y anafase.

DISCUSIÓN

La población meristemática formada por células expuestas a diferentes dosis de Tartrazina muestra una reducción del índice mitótico; como una validación de esta investigación, hay estudios anteriores tanto en células vegetales como animales que indican que la Tartrazina produce un efecto citotóxico y genotóxico^{7,8}, esto se debe a que las células cuando se encuentran en medio con condiciones extracelulares desfavorables, retrasan su progresión e incluso pueden entrar en un estado de reposo especializado, o también puede suceder cuando las células sufren mutaciones por cualquier tipo de agentes, esto provoca la inactivación de los genes encargados del control del ciclo celular o llamados genes *cdc*, deteniendo el ciclo celular en puntos de control específicos principalmente en los dos primeros; en el punto de control de G1 y punto de control de G2¹⁴, lo significaría que el ciclo celular de varias células se quedarían detenidas en interfase.

Silvia¹⁵ realizó una investigación de la citotoxicidad de la Tartrazina en *A. cepa* y obtuvo una reducción del índice mitótico de 10.5 en su control a 7.6 (0.4 mL - 24 horas); además, pudo observar la presencia de puentes anafásicos, telofásicos y micronúcleos. Esto indicaría que la Tartrazina tiene una actividad antiproliferativa en células meristemáticas de *A. cepa*. Los resultados de la presente investigación también muestran que las raíces del bulbo 2 y bulbo 3 del control (0mg/mL - 0 horas) y del testigo dos (0mg/mL-24 horas) presentan alteraciones en el IM, es interesante ver como células meristemáticas expuestas a agua varían sus IM, probablemente esto se deba a un efecto sinérgico del tiempo prolongado de exposición al Carnoy¹⁶, la contaminación con pequeñas cantidades de soluciones de Tartrazina que pudo haber sucedido en el sistema de experimentación la heterogeneidad del tamaño de la raíz.

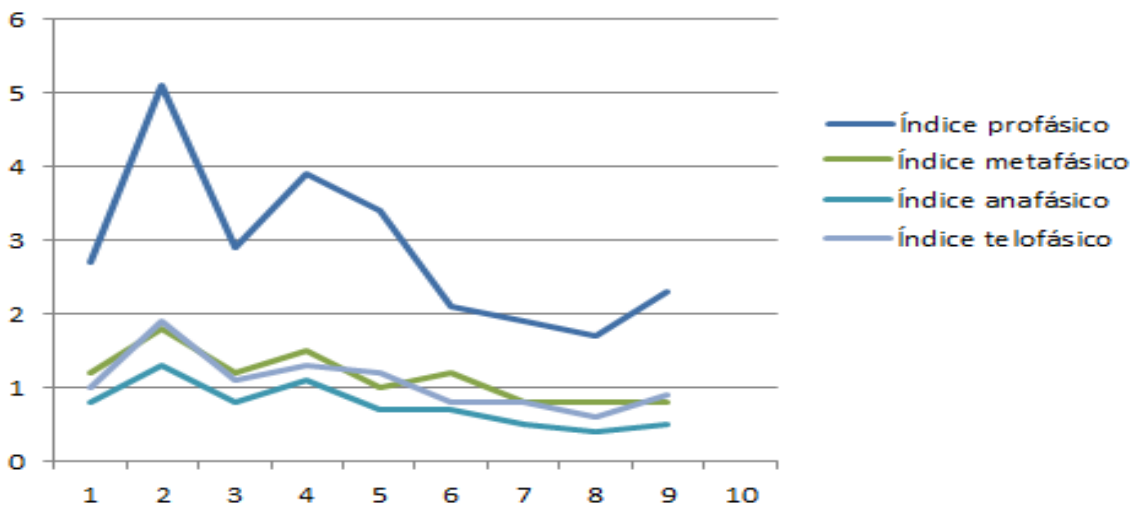


Fig. 2. Promedios de Índice absoluto de fases de células meristemáticas de *Allium cepa* expuestas a diferentes tiempos y concentraciones de Tartrazina

En cuanto a los índices de fases (Fig. 2,) las células meristemáticas de *A. cepa* expuestas a 0.1 mg/mL, 1 mg/mL 5 mg/ml también presentan una disminución de su índice en comparación con los testigos, hay estudios que apoyan a este resultado^{7,8}. Cabe destacar, al mismo tiempo, que estas concentraciones están por encima de la IDA de la Tartrazina (0-7,5 mg / kg de peso corporal-día)^{17,18}. Asimismo, hay estudios de toxicología genética que mostraron que la Tartrazina no tiene potencial mutagénico^{19,20}.

Por tanto parece, tanto en humanos como en animales de laboratorio, que la absorción oral y metabolismo de Tartrazina son extremadamente bajas. Estudios toxicocinéticos publicados en la literatura muestran que menos del 2% de la Tartrazina es ingerido absorbida²¹. La mayor parte de este colorante se metaboliza fácilmente en el colon por la flora intestinal^{17,18}. El metabolito urinario es importante ácido sulfanílico que se produce después de la reducción Tartrazina por las bacterias intestinales²². Al mismo tiempo, utilizando microsomas de hígado de bovino, que se supone que imitar

microsomos hepáticos humanos como fuentes de enzimas de CYP2A6 y UDP-glucuronosiltransferasa (UGT1A6 y UGT2B7) se encontró que la Tartrazina no es un sustrato para estos enzimas²³.

En humanos, después de la ingestión de 100 mg, ni rastro de la Tartrazina fue encontrado en la orina de los voluntarios²⁴. Un estudio in vitro realizado sobre las bacterias intestinales de cinco sujetos confirmaron la reducción de Tartrazina por el flora intestinal²⁵. Estos estudios indican que en humanos y en animales de laboratorio no causa ningún efecto citotóxico debido a su metabolismo, sin embargo no podemos decir que la Tartrazina no tiene ningún efecto adverso, porque debemos tener en cuenta las diferentes respuestas de cada organismo, y los factores extrínsecos que influyen en la experimentación; además el Test *Allium* tiene una mayor validación que las células de animales, asimismo los resultados obtenidos en esta investigación indicarían posiblemente un efecto citotóxico para las células meristemáticas de *A. cepa*.

CONCLUSIÓN

- La Tartrazina disminuye el Índice mitótico y de fases en células meristemáticas de *Allium cepa* expuesta a diferentes concentraciones y tiempos, a partir de esto resultados se infiere que este colorante presenta efecto citotóxico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Restrepo GM, Acosta EV, Ocampo JC, Morales C. Sustitución de tartrazina por betacaroteno en la elaboración de bebidas no alcohólicas. *Lasallista de investigación*, 2006; 3(3): 7-12.
2. ASPEC. Peligrosa tartrazina en Inka Kola, productos Costa y otros. Con nuestro Perú. 2009: <http://www.aspec.org.pe/> o <http://www.connuestroperu.com/consumidor/20/8367-peligrosa-tartrazina-en-inka-kola-productos-costa-y-otros>
3. DIGESA. Evalúan 300 productos que contienen tartrazina. Con nuestro Peru. 2013. <http://www.connuestroperu.com/consumidor/20/34301-evaluan-300-productos-que-contienen-tartrazina>:
4. Kapor MA, Yamanaka H, Carneiro AP, Zanoni BM. Electroanálisis de colorante alimenticios: determinacao de indigo carmín e tartrazina. *Eclética química*, 2001; 26(1): 13-17.
5. Restrepo M. Sustitución de colorantes en alimentos. *Lasallista de investigación*. 2007; 4(1):23-28
6. Ostroski I, Bariccati RA, Lindino CA. Estabilidad de dos colorantes tartrazina y amarillo crepúsculo en refrigerantes. *Acta Scientiarum Technology*, 2005; 27(2): 101-106
7. Feng J, Cerniglia CE, Chen H. Significancia toxicological del tintes azo metabolism de la microbiota intestinal humana. *Frontiers in Bioscience*, 2012; 1(4): 568-586
8. Patterson RM, Butler JS. Tartrazine-induced chromosomal aberrations in mammalian cells. *Food and Chemical Toxicology*, 1982; 20(4):461-465
9. Moutinho IL, Bertges Lc, Assis RV. El uso prolongado de los alimentos colorante tartrazina (FD & C Amarillo n 5) y sus efectos sobre la mucosa gástrica de ratas Wistar. *Brasileño Diario biología*, 2007; 67(1):141-145.
10. Polonio M, Perez F. Consumo de aditivos alimentario e efeitos á saúde: desafios para a Saúde pública brasileira. *Caderno de Saú publica*, 2009; 25(8):45-51.
11. Martine P, Gérard J, Mostafa OE, Jean MP. Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 2009; 47(2): 443-448
12. Maekawa A, Matsuoka C, Onodera H, Tanigawa H, Furuta K, Kanno J, et al. Lack of carcinogenicity of tartrazine (fd & c yellow no. 5) in the f344 rat. *Food and Chemical Toxicology*, 1987; 25(12): 891-896
13. Silvia GK, Goncalves de Oliveira MA, Carvalho FR, Carvalho MC, Peron AP. Citotoxicidad de tres colorantes alimentarios amarillo crepúsculo (E-110), Vermelho bordeaux (E.123) y amarillo tartrazina (E-102) en células meristemáticas de *Allium cepa* L. *Aliment Cien y Tecn*, 2013; 33(1):18-23
14. Albert B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biología Molecular de la Célula*. 4º ed. Barcelona: Omega S.A. 2002
15. Sanz J, Gimenes-Martin G, De La Torre C. On set off cell proliferation in dormant root of *Allium cepa* L. *Bulbs. Kinetic Analysis Biologie Celulare*, 1990; 32: 95-103
16. Rábago VM, Aguilar PE, García VE. Efecto de la "microdosis" de Carnoy y de la proporción KCI/Carnoy sobre el índice mitótico. *Patología*, 1992; 30(2):83-85

17. JECFA. Specifications for identity and purity and toxicological evaluation of food colours. In: FAO Nutrition Meetings Report Series No. 38B. WHO, Geneva. 1964
18. Khera KS, Munro IC. A review of the specifications and toxicity of synthetic food colors permitted in Canada. *CRC Crit. Rev Toxicol*, 1979; 6: 81-133.
19. Brown J, Roehm G, Brown R. Mutagenicity testing of certified food colors and related azo, xanthene and triphenylmethane dyes with the salmonella/microsome system. *Mutat Res*, 1978; 56: 249-271.
20. Andrioli N, Wulff A, Mudry M. *Allium cepa* como biomonitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazole; *Theoria*, 2006; 15: 9-16
21. Murdoch RD, Pollock I, Naeem S. Tartrazine induced histamine release in vivo in normal subjects. *J. R. Coll. Physicians Lond*, 1987; 21: 257-261.
22. Roxon JJ, Ryan AJ, Wright SE. Reduction of water-soluble azo dyes by intestinal bacteria. *Food Cosmet Toxicol*, 1967; 5(3), 367-369.
23. Kuno N, Mizutani T. Influence of synthetic and natural food dyes on activities of CYP2A6, UGT1A6, and UGT2B7. *J. Toxicol Environ Health*, 2005; A68: 1431-1444.
24. Jones R, Ryan AJ, Wright SE. The metabolism and excretion of tartrazine in the rat, rabbit and man. *Food Cosmet Toxicol*, 1964; 23: 447-452.
25. Watabe T, Ozawa N, Kobayashi F, Kurata H. Reduction of sulphonated water-soluble azo dyes by micro-organisms from human faeces. *Food Cosmet Toxicol*, 1980; 18: 349-352.



Efecto de una dieta rica en carne de pescado y aceite de maíz sobre el perfil lipídico de jóvenes Universitarios voluntarios

Effect of a diet rich in fish meat and corn oil on the lipid profile of young university-volunteers

Walter Obeso Terrones, Oscar Panta Guardado, Marina Uribe Orellana y Myriam Obeso Uribe

¹Doctor en Medicina. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. ²Mg. en Salud Pública. ³Médico Cirujano

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie (n-3) sobre el perfil lipídico sérico de 90 jóvenes estudiantes universitarios. Se utilizó la ingesta dietética diaria de 3 mL de aceite de maíz y 200 g de filete de pescado de carne oscura, tres veces por semana, durante ocho semanas. Se evaluaron los niveles de colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de baja densidad y lipoproteínas de alta densidad. Los resultados obtenidos muestran una reducción significativa ($p < 0.05$) en los niveles de triglicéridos y un aumento significativo ($p < 0.05$) en los niveles de lipoproteínas de alta densidad en los sujetos con hipertrigliceridemia. El grupo con hipercolesterolemia presentó reducción en los niveles de lipoproteínas de baja densidad ($p < 0.05$). El efecto hipolipemiante de los ácidos grasos poliinsaturados serie (n-3) fue confirmado en el presente estudio en jóvenes universitarios de la universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo-Perú, bajo las condiciones aquí evaluadas. Se recomienda, como un buen hábito nutricional, el uso de aceite de maíz y pescado de carne oscura en la dieta diaria de la población a fin de prevenir enfermedades cardiovasculares en nuestra región y en el Perú.

Palabras clave: dieta, carne de pescado, aceite de maíz, ácidos grasos poliinsaturados, universitarios.

ABSTRACT

This study aimed to study the effect of polyunsaturated fatty acids of the (n-3) on serum lipid profile 90 young university students. Daily dietary intake of 3 mL of corn oil and 200 g of fish fillet black-meat was used three times a week for eight weeks. Levels of total cholesterol, triglycerides, low density lipoproteins and high density lipoproteins were evaluated. The results show a significant reduction ($p < 0.05$) in triglyceride levels and a significant increase ($p < 0.05$) in the levels of high density lipoproteins in patients with hypertriglyceridemia. The hypercholesterolemic group reduced levels of low density lipoprotein ($p < 0.05$). The lipid-lowering effect of polyunsaturated fatty acids series (n-3) was confirmed in this study in university students of Private University Antenor Orrego of Trujillo-Peru, under the conditions here evaluated. It is recommended, as a good nutritional habit, the use of corn oil and brown fish in the diet of the population in order to prevent cardiovascular diseases in Northern Peru.

Keywords: diet, fish meat, corn oil, polyunsaturated fatty acids, university students.

INTRODUCCIÓN

El efecto beneficioso de ácidos grasos (n-3) poliinsaturados en humanos ha sido largamente estudiado^{1,2}. La enfermedad cardiovascular es considerada como uno de los problemas de salud más significativos en el mundo debido a su elevada tasa de mortalidad durante las últimas décadas, así como, la hiperlipidemia ha sido identificada como un factor de alto riesgo para producir arterioesclerosis y generalmente se asocia con niveles elevados de colesterol libre, esteres de colesterol y triglicéridos^{3,4}. Por lo tanto, existe mucho interés por estudiar el rol de las grasas de la dieta sobre estos niveles circulantes en la sangre y los factores que contribuyan al desarrollo de hiperlipidemias en la patogénesis de arterioesclerosis y enfermedades cardiovasculares^{5,6,7}. La atención de los científicos ha sido puesta sobre el valor terapéutico de la carne o del aceite de pescado y de algunos vegetales, como el maíz, ricos en ácidos cicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) sobre los lípidos séricos y lipoproteínas^{8,9,10,11,12,13}. Ingestas moderadas de este tipo de aceites y carne de pescado pueden incrementar marcadamente las concentraciones séricas de lípidos beneficiosos para la salud como la HDL.

Dada la asociación entre dieta grasosa y el riesgo de muerte súbita por falla cardíaca, es importante establecer la correlación entre una dieta rica en ácidos grasos (n-3); por ello se diseñó una investigación dirigida a responder la siguiente interrogante: ¿Cuál es el efecto de una dieta rica en carne de pescado y aceite de maíz sobre el perfil lipídico de jóvenes estudiantes de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo (Perú)? El efecto beneficioso serviría para recomendar el uso diario de estos alimentos en la población de Trujillo y del país, porque se asume que, la dieta rica en carne de pescado y aceite de maíz mejora significativamente el perfil lipídico de los jóvenes universitarios voluntarios.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población estudiada

Siguiendo la metodología de Connor¹⁰ de un total de 362 alumnos de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo (Perú) que se presentaron voluntariamente, fueron seleccionados aleatoriamente 92 que iniciaron el experimento, pero sólo 90 jóvenes lo terminaron (46 hombres y 44 mujeres).

Fueron incluidos en la investigación: los adultos jóvenes no mayores de 30 años con promedio de 22.8 ± 4.0 no más altos que 1.80 m. 55-90 kg de peso (en razón de elaborar su índice de Masa Corporal para que no sea mayor de 30) con un promedio de 70.1 ± 15.3 kg; y, excluidos: los jóvenes que presentaron sintomatología de alguna enfermedad o con tratamiento médico, los que presentaron obesidad (índice de Masa Corporal mayor de 30) y aquellos jóvenes con algún tipo de tratamiento médico.

Diseño y determinaciones:

Se utilizó el diseño "en línea", en el que, seleccionada la muestra, se hace una primera observación, luego se aplica el estímulo, y, después de ocho semanas, se efectúa una segunda observación y para obtener los resultados. Todos los participantes fueron alumnos voluntarios, quienes firmaron una Carta de Consentimiento de acuerdo con el Código de Ética Internacional.

A todos los estudiantes se les dio 3 mililitros de aceite de maíz cada día y 200 g de filete de pescado de carne oscura (bonito o jurel), tres veces a la semana durante ocho semanas. Se hizo visitas domiciliarias para efecto del control del estudio.

Se trabajó con una muestra de 5 mL de sangre extraída de las venas del pliegue anterior del codo del paciente, recolectados en un tubo de vidrio y centrifugado para obtener suero. De inmediato se determinó el perfil lipídico (colesterol, triglicéridos y lipoproteínas) cuantificado por el método enzimático (Kits de los Laboratorios Wiener). Se consideró como rango normal: colesterol: menor de 200 mg/dL; triglicéridos: menor de 150 mg/dL; lipoproteínas de baja densidad (LDL-Colesterol), menor de 140 mg/dL y lipoproteínas de alta densidad (HDL) 320 mg/dL: de acuerdo con otros estudios^{11,14,16}.

RESULTADOS

A todos los estudiantes que participaron en el experimento se les hizo una prueba control basal de perfil lipídico (colesterol triglicéridos, lipoproteínas plasmáticas de baja y alta densidad), encontrando que 28 de ellos eran normolipídicos, 44 hipercolesterolémicos y 18 hipertrigliceridémicos.

En los estudiantes catalogados como normolipídicos (Tabla 1) el colesterol disminuyó 1.00%, los triglicéridos 4.70% y las lipoproteínas de baja densidad Colesterol (LDL Colesterol) 3.60 %. Sin embargo, el cambio más significativo en este grupo fue el importante incremento en el valor de las lipoproteínas de alta densidad (HDL Colesterol) en un 7.92%. Estadísticamente, no se encontró diferencia estadística en los niveles séricos de colesterol total triglicéridos y LDL Colesterol. Sin embargo, los niveles de HDL Colesterol se incrementaron significativamente ($p < 0.05$) debido, sin duda a la ingesta diaria de los ácidos grasos polinsaturados contenidos en el suplemento dietético.

En el grupo de estudiantes denominados como hipercolesterolémicos (Tabla 2) el colesterol total, los triglicéridos y el LDL-Colesterol disminuyeron notablemente en 6.6%, 12,5% y 9.16%, respectivamente. También hubo un significativo incremento de 11.6% ($p < 0.05$) HDL Colesterol. Los resultados para este grupo se representan en la Fig. 1.

El tercer grupo denominado de los estudiantes hipertriglicéridémicos (Tabla 3) exhibió los cambios más grandes y significativos en la modificación de su perfil lipídico (Fig. 2). La disminución del nivel de colesterol total fue de 5.60% de los triglicéridos de 16.10 % y de las LDL-Colesterol de 8.50 %. En cuanto al nivel de las HDL-Colesterol, se encontró un incremento notable del 15.00%

Tabla 1. Estudiantes de la Universidad Antenor Orrego de Trujillo (Perú) normolipídicos

Perfil Lipídico	Promedio mg/dL			
	Antes	Después	Diferencia	P
Colesterol total	200	198	1.00%	>0,05
Triglicéridos	150	143	4.70%	>0,05
LDL-Colesterol	140	135	3.60%	>0,05
HDL-Colesterol	320	345	7.80%	<0.05

Tabla 2. Estudiantes de la Universidad Antenor Orrego de Trujillo (Perú) hiper-colesterolémicos

Perfil Lipídico	Promedio mg/dL			
	Antes	Después	Diferencia	P
Colesterol total	270	252	6,70%	> 0.05
Triglicéridos	180	157	12,80%	< 0.05
LDL-Colesterol	160	145	9,40%	< 0.05
HDL-Colesterol	300	335	11.60%	< 0.05

Tabla 3. Estudiantes de la Universidad Antenor Orrego de Trujillo (Perú) hiper-trigliceridémicos

Perfil Lipídico	Promedio mg/dL			
	Antes	Después	Diferencia	P
Colesterol total	180	170	5,60%	> 0,05
Triglicéridos	230	193	16.10%	< 0.05
LDL-Colesterol	130	119	8.50%	< 0.05
HDL-Colesterol	300	345	15.00%	< 0.05

DISCUSIÓN

Los efectos hipolipemiantes de los ácidos grasos polinsaturados serie (n-3) sobre sujetos hipercolesterolémicos e hipertrigliceridémicos encontrados en este estudio están de acuerdo a los reportados por varios autores^{10,14,20,22}.

Los cambios ligeros en los lípidos plasmáticos en personas normolipémicas producidos por la ingesta de ácidos grasos polinsaturados están de acuerdo con aquellos reportados por Sanders y Hochland²⁶. Sin embargo, estos autores usaron aceite de salmón con una dosis mayor (10mL/día) y un tiempo más corto (dos semanas). El incremento de las HDL Colesterol en este grupo también confirman los resultados reportados por separado^{22,26}. No se realizó ningún estudio sobre la historia dietética de los estudiantes y no es posible discutir al respecto: ya que si la ingesta de ácidos grasos polinsaturados fue baja, antes del estudio, la ingesta en la dieta fue suficiente para incrementar las HDL-Colesterol. Si la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados fue alta antes del estudio, la ingesta en la dieta pudo aún incrementar el nivel de LIDL pero no lo suficientemente alto para reducir más los niveles de triglicéridos y colesterol total.

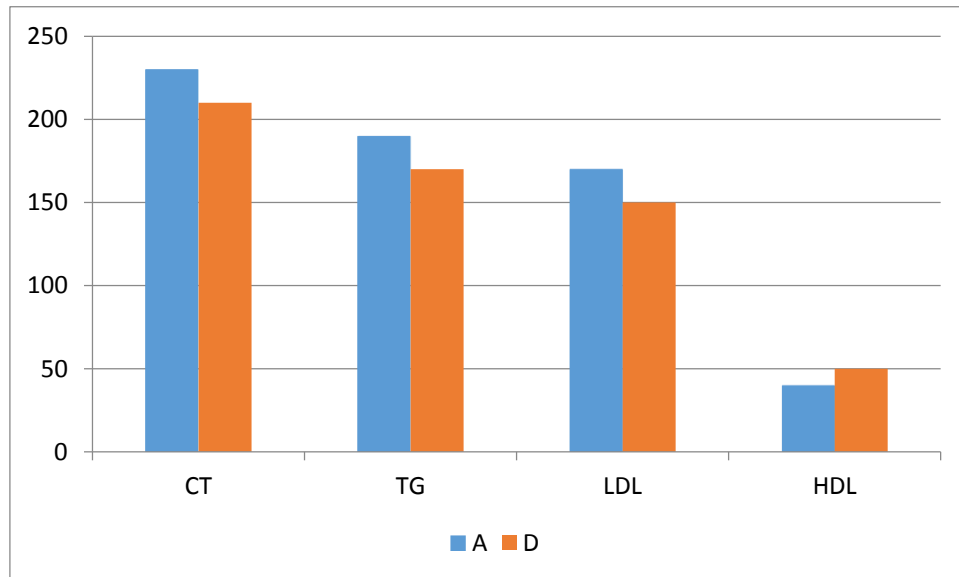


Fig. 1. Perfil lipídico sérico de estudiantes hipercolesterolémicos, antes (A) y después (D) de ingerir dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados.

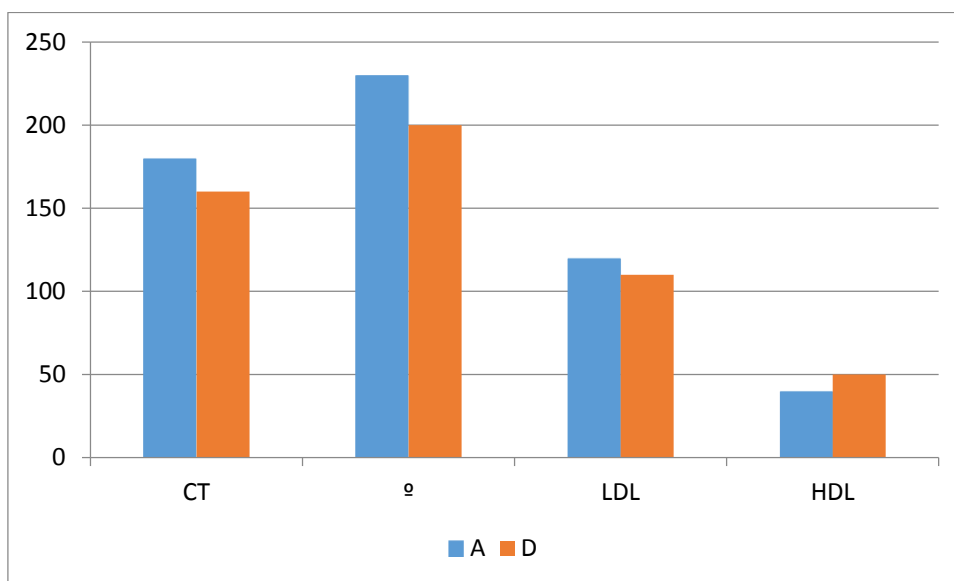


Fig. 2. Perfil lipídico sérico de estudiantes hipertrigliceridémicos, antes (A) y después (D) de ingerir dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados

¿Qué niveles de colesterol pueden ser considerados bajos y cómo un factor de bajo riesgo en las enfermedades cardiovasculares?. Recientemente, Guillen M.A. ha reportado valores como no elevados: 208 ± 43.4 mg/dL para hombres y 206 ± 36.6 mg/dL para mujeres.

Aparentemente, la hipertrigliceridemia aparece como más frecuente dentro de la población latina en general, aún más que el colesterol^{17,18}. Sin embargo, no se encuentran directivas dietéticas claras ni contundentes sobre la cantidad y uso de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta diaria¹⁹; tampoco se conoce si son las mismas cantidades, las requeridas para diferentes edades del ser humano.

Las fuentes más usuales para ácido linoleico y ácido linolénico son los aceites vegetales, sin embargo, desde que estos ácidos son fácilmente oxidados por el calor si son utilizados en frituras, generalmente los niveles considerados como beneficiosos no son alcanzados.

CONCLUSIÓN

- La ingesta diaria de aceite de maíz y carne de pescado, tienen una acción considerada clínicamente como muy beneficiosa sobre el perfil lipídico de jóvenes estudiantes de la universidad Antenor Orrego de Trujillo (Perú).

RECOMENDACIÓN

- Se recomienda el uso de la carne de pescado y de aceite de maíz como aliño de ensaladas o en combinación de menestras o cereales en la dieta diaria, mejor sin ser fritos; como una manera de disminuir o normalizar los valores del perfil lipídico y mejorar los factores de riesgo de aterosclerosis y sus fatales consecuencias con las enfermedades cardiovasculares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dyerberg L, Bang HO. Dietary fats and thrombosis. *Lancet* 1987; 197: 91-152
2. Manan LK, Escott-Stump S. *Nutrición y Dietoterapia de, Kause*. 10° ed. México: Graw-Hill Interamericana. 2000.
3. Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al. *Principios de Medicina Interna-Harrison*. 15° ed. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana. 2001.
4. Secretaria de Salud (Ministry of Health). *Mortalidad 1988-1992*. México. D.F. Dirección General de Epidemiología. 1992.
5. Van Way III. Ch.W. *Secretos de la Nutrición*. México: Mc. Graw-Hill Interamericana, 1999.
6. Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, et al. Effects of changes in fat, and fiber intakes on death and myocardial reinfarction: Diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989; 2: 757-761
7. Hunter DJ, Kazda L, Chockallngam A, et al. Fish consumption and cardiovascular mortality in Canada: An interregional comparison, *Am J Prev Med* 1989; 4:5-6
8. Wenxun F, Parker R, Paysia B, et al. Erythrocyte fatty acids, plasma lipids and cardiovascular disease in rural China. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 1027-1035
9. American Heart Association Medical/Scientific Statement. The cholesterol facts. A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholesterol, and coronary heart disease. A joint statement by the American Heart Association and the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation* 1990; 81:1721-1733
10. Connor WE. Hypolipidemic effects of dietary omega-3 fatty acids in normal and hyperlipidemic humans: Effects and mechanism. En: Simopoulos P (ed.), *Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acid in Seafood* Nueva York. Academic Press 1986; pp.173-210
11. Leaf A. Cardiovascular effect of fish oils. Beyond the platelet. *Circulation* 1996; 82:642-648
12. Mata P, De Oya M, Pérez-Jiménez F, et al. *Dieta y Enfermedades Cardiovasculares. Recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis*. *Clin Invest Arterioscler* 1994; 6: 43-61
13. Sociedad Española de Arteriosclerosis y Sociedad Española de Cardiología. Evidencias clínico-experimentales y recomendaciones para el tratamiento de la hiperlipidemia en pacientes con cardiopatía isquémica. *Clin Invest Arterioscler* 1994; 6: 103-111
14. Mazier MJ. Dietary fat quality and circulation cholesterol levels in humans. *Prog Food Nutr* 1991; 15:21-41
15. Levy E, Thibault L, Turgeon J, Roy C, et al. Beneficial effects of fish oil supplement on lipids, lipoproteins and lipoprotein lipase in patients with glycogen storage disease type I. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 922-929
16. Expert Panel on Detection. Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. *JAMA* 1993; 269: 3015-3023
17. Phillipson BE, Rothrock DW, Connor WE. Reduction of plasma lipids. Lipoproteins and apoproteins by dietary fish oil in patient with hipertriglyceridemia. *N Engl J Med* 1985; 312:1210-1216
18. Rogers S, James, KS, Butland BR. Effects of fish oil supplement on serum lipids blood pressure, bleeding time, haemostatic and rheological variables. *Atherosclerosis* 1989; 53:137-143
19. Turley E, Strain JJ. Fish oils eicosanoid biosynthesis and cardiovascular disease: An overview. *Intern Food Sci Technol* 1993; 44: 145-152
20. Simopoulos SAP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:438-463
21. Harris WS. Fish oils and plasma lipids and lipoproteins metabolism in human: A critical review. *J Lipid Res* 1989; 30: 785-807
22. Harris WS, Windsor SL, Caspermeier JJ. Modification of lipid-related atherosclerosis risk factor by w-3 fatty acid esters in hypertriglyceridemic patients. *J Nutr Biochem* 1993; 4: 706-712
23. Guillen MA, Paulin JA, Martínez L. Estudio del efecto hipolipemiente del aceite eicosapentaenoico (EPA) en comparación con clofibrato (Estudio doble ciego). *Rev Endocrino Nutr* 1994; II (7): 229-233
24. McMurchie EJ, Rinaldi JA, Burnard SL. Incorporation and effects of dietary eicosapentaenoate (20:5 n-3) on plasma and erythrocyte lipids of the marmoset following dietary supplementation with differing levels of linoleic acid. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1045: 164-173



Eficacia de la ingesta de aceituna, *Oleo europea*, sobre el perfil lipídico en adultos jóvenes

Effectiveness of *Oleo europea* intake on serum lipids in young adults

Walter Obeso Terrones, Oscar Panta Guardado, Marina Uribe Orellana y Myriam Obeso Uribe

¹Doctor en Medicina. ²Mg. En Salud Pública. ³MC.

RESUMEN

En el presente trabajo realizado en adultos jóvenes se investigó la eficacia de ingerir 50 g de aceitunas oscuras (*Oleo europaea*) diariamente durante seis (6) semanas, sobre los niveles de lípidos en sangre: Colesterol total, triglicéridos, LDL- Colesterol y HDL- Colesterol. Los hallazgos confirman una acción beneficiosa para la salud, ya que la ingestión de aceitunas diariamente permite mejorar los niveles de lípidos sanguíneos en general, y más específicamente disminuyendo los niveles de LDL- Colesterol y aumentando el HDL- Colesterol en sangre, ambos hallazgos son estadísticamente significativos. Se recomienda la ingesta diaria de aceitunas como un hábito que puede conducir a mejorar notablemente los niveles de lípidos en sangre y con ello disminuir el riesgo de enfermedades de tipo cardiovascular.

Palabras clave: Lípidos en sangre. Aceitunas (*Oleo europea*), enfermedades cardíacas.

ABSTRACT

Efficiency in young adults ingesting 50 g of dark olive (*Oleo europaea*) daily for six (6) weeks on blood lipid levels: Total cholesterol, triglycerides, LDL cholesterol and HDL cholesterol was investigated. The findings confirm a beneficial effect on health, as olives daily intake improves blood lipid levels in general and more specifically decreasing the levels of LDL cholesterol and increasing HDL-cholesterol in blood, both findings are statistically significant. Daily intake of olives is recommended as a habit that can lead to significantly improve blood lipid levels and thus reduce the risk of cardiovascular-related diseases.

Keywords: Blood lipids. Olive (*Oleo europea*), heart disease.

INTRODUCCIÓN

La dislipidemia es uno de los factores de riesgo más importantes para enfermedades cardiovasculares^{1,2}. Las investigaciones experimentales, epidemiológicas y genéticas han indicado que la elevación de la LDL-colesterol es una de las principales causas de cardiopatías coronarias; ensayos recientes, han demostrado que los tratamientos que reducen su concentración también reducen sus implicancias^{2,3,4}.

El perfil lipídico actualmente es requisito para evaluar factores de riesgo lipídico coronario de adultos jóvenes en adelante, como prevención primaria; o en pacientes con insuficiencia coronaria, como prevención secundaria; esta es una prueba de análisis clínico para valorar concentraciones plasmáticas de las lipoproteínas, incluye las determinaciones de colesterol total, triglicéridos, HDL-colesterol, LDL-colesterol y relaciones como colesterol total/HDL colesterol y LDL-colesterol/HDL-colesterol^{3,5,6,7}.

En clínica, la valoración del perfil lipídico indica el tratamiento a seguir, cuyos ensayos recientes han demostrado que aquellos que reducen el LDL-colesterol reducen también la mortalidad total, por causas coronarias y accidentes cerebrovasculares¹.

Las dos modalidades terapéuticas principales para reducir el LDL-colesterol son los cambios en el estilo de vida y la farmacoterapia^{7,8} en virtud de lo cual se recomienda promover la actividad física constante, eliminar los hábitos tabáquicos, disminuir la ingesta de alcohol, llevar una vida con bajos niveles de estrés y crear hábitos dietéticos ricos en ácidos grasos insaturados de origen vegetal, fibras, vitaminas y antioxidantes^{7,8,9,10}.

La *Olea europaea* "Aceituna Negra" posee 0,1 gramos de fibra soluble y 2,1 gramos de fibra insoluble por cada 100 gramos de fruta ⁽¹¹⁾. Contiene de 17 a 30% de ácidos grasos de los cuales el 77% son ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico), 14% de saturados y 8% de poliinsaturados; además de poseer agentes antioxidantes como vitamina E, provitamina A y otros compuestos fenólicos^{11,12,13,14,18}.

El ácido graso monoinsaturado (un solo doble enlace C18:1) más abundante es el ácido oleico. Está presente en el aceite de oliva, el aguacate y las aceitunas; y en menor cantidad, en otros alimentos como el huevo y la carne de cerdo. Los ácidos grasos monoinsaturados son más seguros estables y menos oxidables que los poliinsaturados, por lo que ejercen modificaciones en el perfil lipídico como: disminución del colesterol-LDL, con mantenimiento y/o ascenso de HDL-colesterol, disminución de la oxidación de las partículas lipoproteicas y disminución de la agregación plaquetaria^{12,15,16}.

Por eso se decidió investigar el problema acerca de la eficacia de comer 50 gr de aceitunas oscuras cada día por seis semanas y como objetivo verificar nuestra hipótesis que ello influye favorablemente en el nivel de concentración de los componentes del perfil lipídico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de contrastación

El presente trabajo es de tipo experimental, con un diseño de pre-prueba-post-prueba y grupo no equivalente, con relación aleatoria y fue realizado en el servicio del Comedor Universitario de la Universidad Nacional de Trujillo durante los meses de abril a setiembre del 2013.

Población y muestra

Se tomó aleatoriamente 40 jóvenes voluntarios que usualmente se alimentan en el comedor de la Universidad Nacional de Trujillo; por sorteo determinamos 2 grupos, uno para experimentación y el otro como grupo control; procedimiento realizado de acuerdo a trabajos de investigación publicados como el de Noriega⁹. El número de 20 alumnos es una muestra adecuada y representativa determinada estadísticamente. Se tuvo en cuenta que sean jóvenes menores de 28 años, sanos, con índice de masa corporal normal (IMC: 18.5 a 24.9 kg/m²). Antes se confeccionó una Ficha de Datos durante la selección de voluntarios. Como criterios de exclusión se tuvo en cuenta no tener antecedente de síndrome de mala absorción, litiasis vesicular, cirugía gástrica, tratamiento farmacológico que altere perfil lipídico y personas con actividad física intensa regular.

Recolección de datos

Se trabajó con dos grupos seleccionados aleatoriamente:

Grupo A: Ingieren 50 g. de aceituna diaria que equivale a 13 gr. de ácido oleico.

Grupo B: (grupo control)

Los procedimientos para la captación de sangre en ayunas, así como los seguidos para cuantificar los componentes de perfil lipídico: triglicéridos, HDL- Colesterol, LDL- Colesterol y Colesterol libre en sangre fueron realizados de acuerdo al trabajo publicado por Noriega⁹.

RESULTADOS

Los hallazgos en el perfil lipídico del grupo control no tuvieron prácticamente ninguna variación y estadísticamente no fueron significativos. En cambio, los datos obtenidos en el grupo experimental de adultos jóvenes son bastante demostrativos. Efectivamente, la ingesta de 50 g de *O. europaea* por 6 semanas produce cambios notorios en el perfil lipídico de esos jóvenes, aunque en algunos casos no son estadísticamente significativos (Figs. 1, 2, 3 y 4).

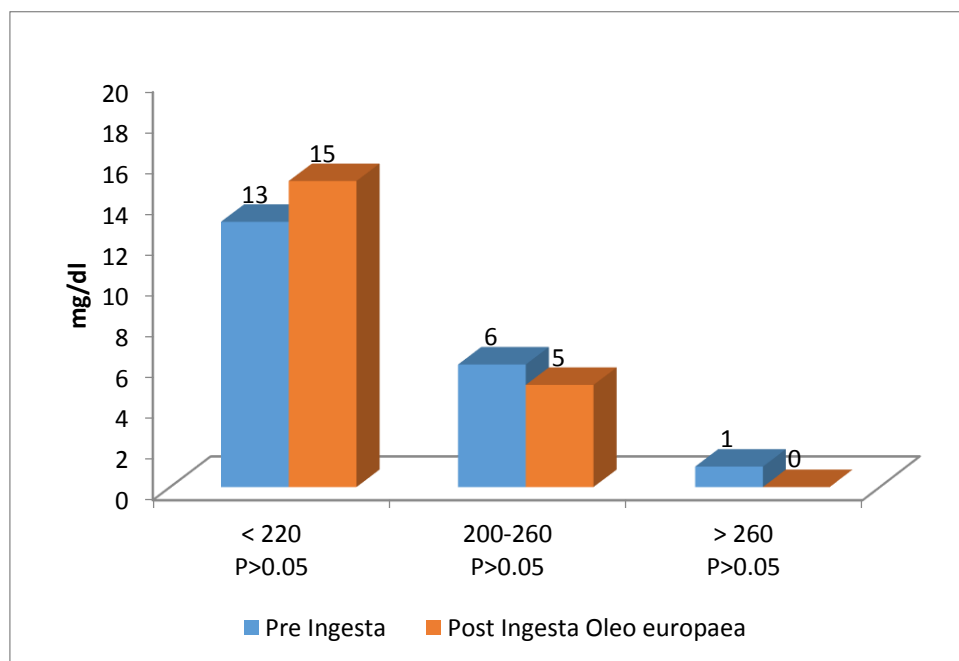


Fig.1: Eficacia de la ingesta de *Oleo europaea* sobre el perfil lipídico en adultos jóvenes: niveles de colesterol total pre y post ingesta

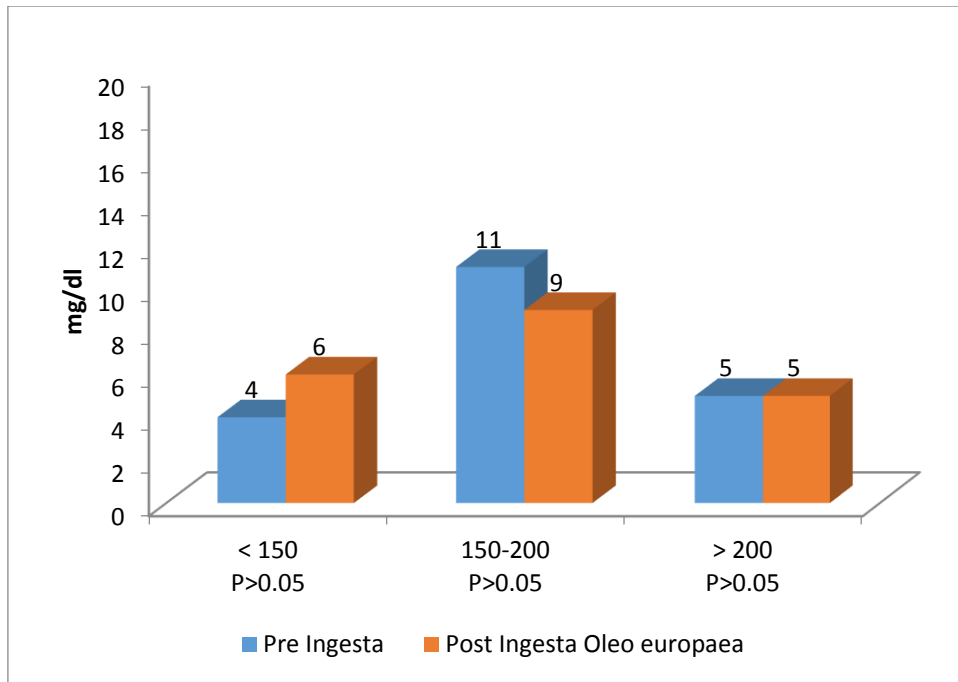


Fig. 2: Eficacia de la ingesta de *Oleo europaea* sobre el perfil lipídico en adultos jóvenes: niveles de triglicéridos pre y post ingesta

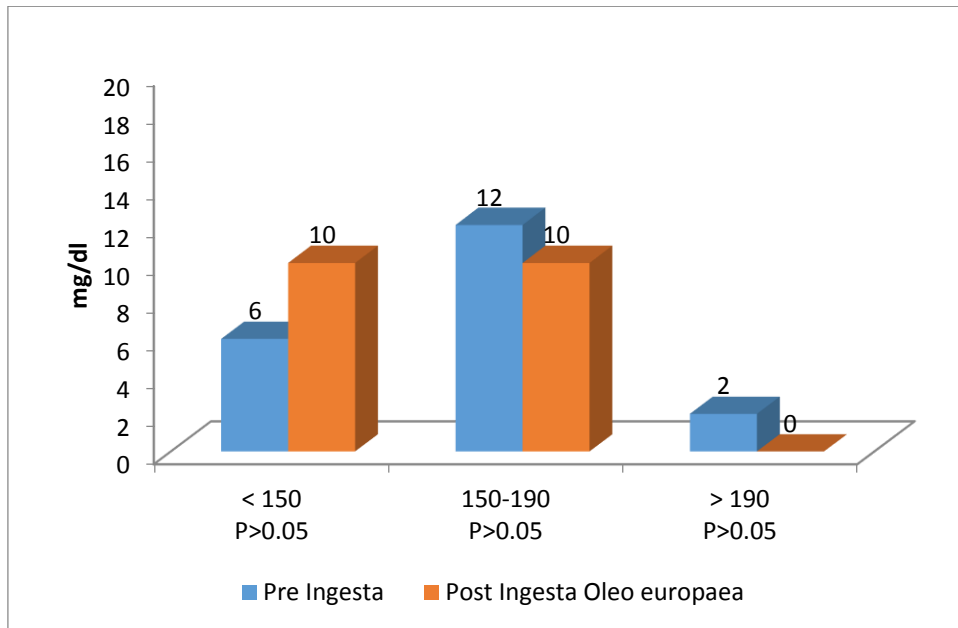


Fig. 3: Eficacia de la ingesta de *Oleo europaea* sobre el perfil lipídico en adultos jóvenes: niveles de LDL-colesterol pre y post ingesta

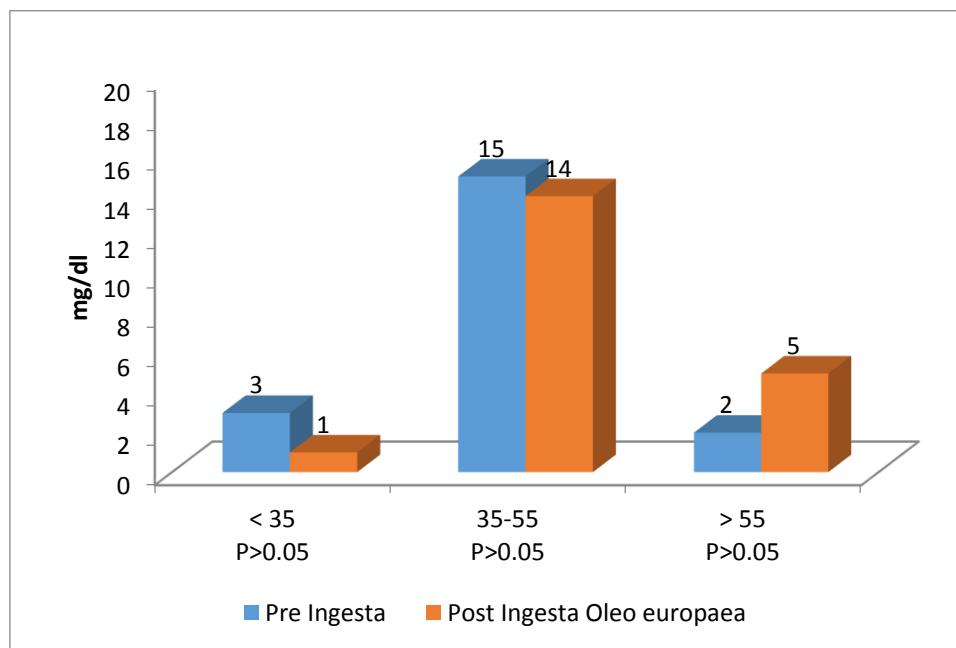


Fig. 4: Eficacia de la ingesta de *Oleo europaea* sobre el perfil lipídico en adultos jóvenes: niveles de HDL-colesterol pre y post ingesta

DISCUSIÓN

La dislipidemia es una de los factores de riesgo más importantes para enfermedades cardiovasculares (W\ El perfil lipídico, actualmente, es requisito para evaluar factores de riesgo lipídico coronario de adultos jóvenes en adelante, como prevención primaria³. En el presente trabajo se ha evaluado la eficacia de la ingesta de 50 gramos de aceituna (*O. europaea*) ingeridos diariamente durante seis (6) semanas sobre el perfil lipídico de adultos jóvenes. De forma general, los hallazgos en el perfil lipídico del grupo control no tuvieron prácticamente ninguna variación y estadísticamente no fueron significativos. En cambio, los datos obtenidos en el grupo experimental de adultos jóvenes son bastante demostrativos. Efectivamente, la ingesta de 50 g de aceitunas por 6 semanas produce cambios notorios en el perfil lipídico de esos jóvenes, aunque en algunos casos no son estadísticamente significativos.

En la **Fig. 1**, se puede ver graficados los niveles de colesterol total y sus variaciones, demostrado por el número de jóvenes que mejoraron dichos niveles en suero. Se logra observar que el número de 13 jóvenes que tienen niveles normales de colesterol (sin riesgo) se incrementa a 15, y que un joven que tenía alto riesgo, con más de 260 mg/dL, también mejora ya que no aparece en el control post-ingesta. Sin embargo, estadísticamente estas diferencias no son significativas. Estos datos están de acuerdo con los encontrados por Kris-Ewtherton y Yu-Poth⁸ quienes experimentaron con algunos frutos secos que contienen ácidos grasos poli y mono-insaturados más o menos semejantes al de las aceitunas.

En la **Fig. 2** se comparan los resultados obtenidos en niveles de triglicéridos en suero de adultos jóvenes antes y después de la ingesta de *O. europaea*, como se puede ver, también la mejoría obtenida en los niveles promedio es evidente para el grupo de LDL con menos de 150 mg/dL que aumenta en dos individuos. Sin embargo, en los grupos de 150 a 200 mgr/dL hay más bien una disminución en el número total de personas con esa cantidad. En relación, al número de persona que tenían más de 200 mgr/dL (alto riesgo) no se ve ninguna variación (ambos con 5 individuos). Estos resultados se pueden interpretar que el *O. europaea*; aparentemente tiene poco o ningún efecto sobre los niveles de triglicéridos séricos. Esto se confirma cuando observamos que la significancia estadística es nula. Estos resultados no están de acuerdo con la literatura mundial, que en diferentes trabajos encuentran

una moderada y hasta alta significación estadística en cuanto a mejoría de los niveles (riesgos) de triglicéridos^{11,13,16}.

En la **Fig. 3** podemos observar que la ingesta de *O. europaea* produce un notable incremento en el número de pacientes que logran disminuir su riesgo de enfermedad cardiaca al subir de 6 a 10 personas, quienes obtienen promedios menores a 50 mg/dL de LDL- Colesterol en sangre, lo cual es ideal para la salud. También se observa que habían 2 personas con más de 190 mg/dL (Alto riesgo de enfermedad cardiaca) antes de la ingesta de *O. europaea* y que desaparecen en la post ingesta, para sumarse al grupo de 150 a 190 mg/dL. La mejoría de 6 a 10 personas tiene significación estadística y puede interpretarse como que la ingesta de aceitunas diariamente es recomendable. Los datos encontrados en este grupo están de acuerdo a los obtenidos por otros autores como Frasier¹³, y Freid⁹, quienes obtienen datos similares aunque en trabajos algo diferentes en su muestra.

Finalmente, en la **Fig. 4** se muestra que el número de personas que tienen más de 55 mg/dL, se ha incrementado notablemente; demostrado porque la diferencia que se obtuvo fue estadísticamente significativa. Sin llegar a ser significativa, la diferencia del número de personas (03) que tenían menos de 35 mgr/dl antes de la ingesta baja sensiblemente a sólo una, lo que nos indica que han mejorado en su alejamiento del riesgo cardíaco cuando temen menos de 35 mg/dL de HDL-colesterol. La columna del número de personas que tienen riesgo cardiaco estándar entre 35 y 55 mg/dl sigue prácticamente igual, variando solamente en 01 persona (antes 15, post ingesta: 14).

La interpretación de estos hallazgos conduce a pensar que es sobre el incremento de las HDL-colesterol donde tiene mayor efectividad las aceitunas, lo cual es muy bueno para la salud evitando males y riesgos cardiacos. Estos hallazgos están de acuerdo a lo reportado por investigadores recientes y de diferentes partes del mundo como Jover⁵; Fabián⁷; Kris-Etherton y Onnenig¹¹.

CONCLUSIONES

- La ingesta de 50 g de aceitunas negras (*O. europaea*) durante seis (06) semanas aparentemente conduce a una mejoría notoria del perfil lipídico en adultos jóvenes, es decir mejora el riesgo cardiaco de las personas.
- La mayor eficacia de la ingesta de *O. europaea* se observa sobre el incremento de las lipoproteínas HDL- Colesterol, lo cual es muy recomendable para mejorar el riesgo cardiaco.
- La eficacia de ingerir *O. europaea* sobre los niveles de LDL- Colesterol y triglicéridos es moderada, mucho más eficaz en la disminución de LDL- Colesterol que en la disminución de los TAG.
- Eficacia de la ingesta de *O. europaea* de los niveles de colesterol sanguíneo es pequeña, en nuestro criterio es poco el beneficio que se obtiene.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Detección, valoración y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos PHO J 2001; 9(5) 338-345
2. Plaza J, Villar F, Mota O. et al Control de la colesterolemia en España, 2000. Un instrumento para la prevención cardiovascular. Rev. Esp. Cardiol 2000, 53:815-837.
3. Vela J, Huamán JJ. Peláez RA, Delgado W. Perfil lipídico en recién nacidos macrosómicos y sus madres. Revista Médica de Trujillo 2000; 4(1):33-37.
4. Fabián F, Gutiérrez MD, Gómez Gerique JA. Técnicas para la separación de lipoproteínas lipopartículas utilidad clínica e investigación arteriosclerosis 1999. 11(3), 52.
5. Jover E, Millón J, Alvarez - Sala L, Corrales JJ, Foz M, Garbullo M, Pinto X, Rey/Joly C. Dislipemia y obesidad Endocrinología 1998; 45(7): 23.
6. Gruñid y S.M. Hypertygliceridemia, atherogemic dislipemia with the metabolic síndrome Am y cardio 1998; 81: 18B-25B.
7. Fabián F. Nuevos métodos para la cuantificación de colesterol LDL y HDL ¿Qué es lo que en realidad medimos? Clin. Invest. Arteriosclerosis: 1998; 10(4)23.

8. Kris-Etherton P, Yu - Poth Sh, Sabute J, Rateliff e H, thas Gm Ethertont Frutos secos y sus Constituyentes Bioactivos: efectos sobre los lípidos séricos y otros factores que afectan el riesgo de enfermar. *Am J. Clin Nutre* 70 (suppl): 5045-115,1999.
9. Noriega P. Efectos de la Fibra de la Dieta sobre los niveles de HDL - Colesterol y Colesterol total Sérico. *Acta Médica Agustina* (1): 27,1990.
10. Álvarez W., Bilbao J, Manejo de la obesidad en atención primaria, *MEDIFAN2001*; 11(1), 8.
11. Onning G, Walmark A, Persson M, et/al. consumption of oat milk f or 5 weeks lowers serum cholesterol and LDL-cholesterol un f ree-living men with modérate hipercholesterolemia. *Ann nutr metab* 1999,43:301-309.
12. Weisburger JH, Approaches for cleronic disease prevention based on current indistanding of underling mechanics *Suplo Am J Clin Nutr* 2000; 71: 17105-17145.
13. Frasier GE, nutr consumption lipids and risk of a coronary evento *Clin Cardiol* 1999. 22 11-15
14. Anderson, Hamna TJ. Impact of mondigetible carbohydrates en serum lipoteins and risk for cardiovascular disease [suppl.7]. *J. Nutr.* 1999: 129:14575-14665.
15. Ruotolo G, Ericson CG. Tetamanti C, Et al Treat-ment effects on serum lipoprotein lipids, lipoprotein and low density lipoprotein particle Size and relationships of lipoprotein variables to progression of coronary artery disease in the Bejafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial *J am Coll Cardiol* 1998; 32(6): 1648-56.
16. Especies de los ácidos grasos saturados monoinsa-turados y M-G Poliinsaturados en los lípidos plasmáticos, lipoproteínas y apoproteinas *American Journal of Clinical Nutrition* 1998; (37): 365-60.
17. Cleeman JI, MD, Nacional Colesterol Education Program Nacional Herat, Luna, and Bloud Institute, Resumen ejecutivo del tercer Panel de Expertos de Nacional Colesterol Education Program sobre detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en los adultos (Panel de tratamiento de adultos III) *Jama* 2001; 285(19),1.
18. Font Quear. *Plantas Medicinales*. 9a Ed. Barcelona: Editorial labor S.A., 1991: 744-746.
19. Fried Wald Wt, levy IR et al. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma whitout use of preparation ultracentrifuge. *Clin Che.* 1972: 18:499-502.
20. Downie NM. Heath RW. *Métodos estadísticos aplicados*. De Harper y Row Publisher. México, 1987, 100-107.
21. Hernández Sampieri R, Fernandez Collado, y col. *Metodología de la investigación*. México: Interamericana Me Graw Hill, 1991: 205-21.



Producción de pectinasas por *Bacillus* spp. a partir de cáscaras de naranja y de toronja como fuente de carbono

Pectinase production by *Bacillus* spp. from orange and grapefruit peels as a carbon source

Julio Arellano, Steban Ilich, Marco Salazar, Icela Rodríguez, Patricia Torres y Willman Alarcón

¹Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú. ²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT. ³Departamento de Zootecnia. UNT

RESUMEN

Se aislaron y seleccionaron cultivos puros de *Bacillus* spp. productores de pectinasas. Para ello se enriquecieron las muestras de suelo con pectina procedente de los albedos de naranja y de toronja, se humedecieron y se dejaron en reposo durante dos semanas; de ésta, se preparó una suspensión al 1/10 en agua destilada y se sometió a un tratamiento térmico de 80°C por 10 min., se enfrió y se sembró en superficie del medio agar nutritivo con sales y pectina como sustrato, se incubó y se realizó la lectura agregando alícuotas de una solución de lugol y aquellos cultivos que presentaban mayor halo de hidrólisis de pectina fueron seleccionados (desde 8 a 32 mm). Estos cultivos (15) fueron sembrados en medio líquido nutritivo más sales y pectina, incubándose por 24-72 horas; luego se centrifugaron y se obtuvo el sobrenadante denominado extracto crudo de pectina (ECP), del cual se realizó los ensayos de actividad. Se encontró que no existe relación entre el tamaño del halo de hidrólisis y la actividad de pectinasa en medio líquido, encontrándose la mayor actividad fue de 3,17 U y que no existe diferencia entre las fuentes de carbono para *Bacillus* spp en la producción de pectinasas

Palabras clave: *Bacillus*, pectinasas, actividad, naranja, toronja.

ABSTRACT

Cultures of *Bacillus* spp. producers of pectinases were isolated and selected. For accomplishing that goal, soil samples were enriched with pectin from orange and grapefruit peels, they were moistened and let stand; from these a suspension at 1/10 in tap water was prepared and it underwent a thermal treatment of 80°C for 10 min., it cooled down and was sowed in surface of the agar nutritious medium with salts and pectin as substratum, it was incubated and the reading was done adding aliquot of a lugol solution and those cultivations that presented bigger halo of hydrolysis of pectin were selected (from 8 to 32 mm). These cultivations (15) were sowed between liquid nutritious more salts and pectin and they were incubated by 24 - 72 hours; then they were centrifuged and the supernatant denominated raw extract of pectin was obtained (ECP), from which the essays of activity were carried out. It was found that there is no relationship between the size of the hydrolysis halo and the pectinase activity in medium liquid, being the biggest activity 3,17 U and there are no difference among the sources of carbon for *Bacillus* spp in the pectinases production.

Keywords: *Bacillus*, pectinases, activity, orange and grapefruit peels

INTRODUCCIÓN

La pectina es una mezcla amplia de sustancias pécticas de diferente composición que contiene como componente principal ácido pectínico; en forma natural se localiza en la pared celular y puede estar entrecruzada con otros polisacáridos estructurales y proteínas para formar protopectina insoluble¹. Sin embargo, su presencia en el zumo de frutas, origina importantes problemas en su procesamiento industrial: ello se debe a que, por su escasa solubilidad, retienen el jugo espesándolo y disminuyendo el rendimiento de la extracción^{2,3}. En la degradación de pectinas, las industrias dedicadas al procesamiento de jugos de frutas utilizan un sistema pectinolítico compuesto por varias enzimas distribuidas en tres grupos principalmente: pectinesterasas las cuales catalizan la desesterificación de los grupos metoxilo, pectina despolimerasas que rompen los enlaces α -1-4 glucosídicos por hidrólisis (polimetilgalacturonasas y poligalacturonasas) y transeliminación (pectintranseliminasa y ácido poligalacturónico transeliminasa), reacciones que catalizan el rompimiento de la molécula^{4,5,6}.

Las pectinasas figuran entre las enzimas de aplicación industrial más antiguas y pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: ácidas y alcalinas. Las primeras son utilizadas en la industria de zumos de fruta y en la fabricación de vinos: son mayoritariamente poligalacturonasas de origen fúngico, especialmente de *Aspergillus niger*; las pectinasas alcalinas, por su lado, han sido introducidas en diversos procesos industriales, como el textil, principalmente en el enriado de lino y en el procesado de fibras de plantas: proceden mayoritariamente de bacterias, en particular de *Bacillus*¹.

Las pectinasas, asimismo, se emplean en la extracción, clarificación y reducción de viscosidad en jugos de frutas, extracción de aceites de vegetales y cítricos, fermentación de café y té^{6,7,8,9} y tanto la actividad como los mecanismos que controlan su síntesis y su secreción están bajo la influencia de diversos factores, tales como el pH del medio, la temperatura de incubación y la naturaleza y cantidad de la fuente de carbono⁵.

Se ha registrado la producción de enzimas pécticas producidas por *Bacillus* spp aislado de suelos de arrozales¹⁰, de cáscara de uva¹¹, utilizando la fermentación en medio sólido sobre diferentes substratos, tales como, bagazo de caña de azúcar y salvado de trigo: ello significa que la composición del medio de cultivo es un factor importante en la inducción de pectinasas ya que influye sobre la diversidad y la cantidad de dichas enzimas pécticas¹². Sin embargo, pocos estudios han sido efectuados sobre la influencia de la composición del medio en cultivo sobre soporte sólido a partir de cáscara de cítricos.

Existe una preocupación creciente por los efectos de la contaminación ambiental, por ello la presión pública ha influido tanto en la industria como en los gobiernos para su disminución. Las enzimas microbianas presentan aplicación industrial debido a su elevada eficiencia catalítica, su uso no daña el ambiente y su alta rentabilidad económica.¹⁰

Por lo tanto, siendo el Perú un país que ha crecido considerablemente en la agroindustria conviene desarrollar un proceso orientado al aprovechamiento integral de recursos provenientes este sector, además evitar la contaminación ambiental, por los residuos provenientes de estas actividades. Uno de estos residuos, por aprovechar, sería el albedo de algunos cítricos ya que por su volumen resulta atractivo para la producción industrial de enzimas pécticas, por lo que, en el presente trabajo de investigación se desarrollará un proceso, a nivel de laboratorio, para la producción de pectinasas por *Bacillus* spp. teniendo como fuente de carbono a las pectinas aisladas de cáscaras de naranja y toronja.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Pectinasas producidas por *Bacillus* spp aisladas de suelo (enriquecido con pectina) del Jardín Botánico de la Ciudad Universitaria de la UNT.

Obtención de pectinas cítricas

• Preparación de la materia prima

Se empleó el albedo (mesocarpio) del fruto de naranja y toronja, residuos sólidos producidos por la venta artesanal del jugo de naranja y toronja; en estado fresco o congelado el mismo día de su colección con el fin de evitar el crecimiento de bacterias u otras formas vivientes que descompongan el producto. Se cortaron en trozos pequeños lo que constituyeron la materia prima para aislar pectinas.¹³

• Inactivación de enzimas pécticas

Se inactivaron las enzimas pécticas, colocando la materia prima en estufa a 98°C por 10 minutos.¹⁴

• Extracción ácida

100g de materia prima inactivada fueron suspendidos en 600mL de agua destilada y a ésta se le agregó HCl 1N hasta obtener un pH entre 1.5 y 3. Luego se calentó a 70°C por 70 minutos.¹⁵

• Filtración de los residuos y precipitación.

Se filtró la suspensión y el filtrado obtenido fue enfriado a temperatura ambiente (25°C) y luego se precipitó con etanol al 60% (v/v), con respecto al volumen de dicho filtrado.^{14,15}

• Secado

El proceso de secado del extracto crudo de pectina se realizó a 70°C en estufa. Luego se pulverizó^{14,15}

Rendimiento de extracción de pectina en cáscara de *Citrus sinensis* “naranja” y de *Citrus paradisi* “toronja”

Se determinó el rendimiento en peso seco por la relación del peso de pectina obtenida (w2) y el peso inicial de la muestra procesada (w1 = 100 g), mediante la siguiente expresión¹⁶:

$$\text{Rendimiento \%} = \frac{W2}{W1} \times 100$$

Aislamiento y selección de *Bacillus* spp. Productores de pectinasas.

Se colectaron muestras de suelo con un peso aproximado de 100g procedentes del Jardín Botánico de la Ciudad Universitaria de la UNT; estos fueron enriquecidos con pectina y luego se mezcló completamente y se humedeció con agua de caño y de dejó en reposo por espacio de quince días.

Medio para la producción de pectinasas

El medio conteniendo pectina como única fuente de carbono está caracterizado por (g/1000 mL de agua destilada): pectina cítrica (naranja/toronja), 2,0; extracto de levadura, 1,00; agar, 15,00; KH₂PO₄, 0,20; CaCl₂, 0,05; (NH₄)₂SO₄, 1,00; MgSO₄·7H₂O, 0,80; MnSO₄, 0,05; pH = 6,5³. Se autoclavó a 15 lb/ 15 min.; se sirvió en placas estériles y se dejó solidificar. Se realizó control de esterilidad durante 24 horas⁴.

Aislamiento de *Bacillus* spp

El aislamiento *Bacillus* spp productor de pectinasas se llevó a cabo en medio sólido Agar nutritivo enriquecido con sales (ANES). Para ello se realizó una suspensión de 25g del suelo enriquecido anteriormente en 250 mL de agua destilada, se agitó y se realizaron diluciones seriadas hasta 10⁻³ y se les sometió a un tratamiento térmico de 85°C durante 10 minutos en baño de agua. Luego, se realizó la siembra en superficie (0,1mL de la dilución tratada), se incubó a 28°C hasta 72 horas^{17,18,19}

Las colonias con características morfológicas de *Bacillus* fueron repicadas en tubos con ANES inclinado¹⁹ y se incubaron durante 24 h a 28°C para efectuar la prueba de la catalasa a fin de ubicarlas en el género *Bacillus*. Los aislamientos que resultaron positivos a la catalasa se conservaron como cultivos puros, en viales conteniendo ANES inclinado a 4°C^{20,21}

Bacillus spp productores de Pectinasas (Selección primaria de pectinasas)

En el medio de cultivo anteriormente mencionado se sembró por puntura los cultivos puros de *Bacillus* spp aislados. Se incubó a 30°C por 24, 48 - 72h. Luego se añadió alícuotas de una solución

Lugol y se observó la presencia de halos de hidrólisis de pectina ². Se seleccionaron aquellos cultivos puros de *Bacillus* spp que presentaron mayor halo de hidrólisis de la pectina es decir los cultivos que presentaron mayor relación diámetro de halo/ diámetro de colonia.⁹

Obtención de los extractos crudos de pectinasa de *Bacillus* spp

Se sembraron los cultivos puros de *Bacillus* spp seleccionados previamente (inóculo al 5%) en caldo YEPD modificado (g/1000 mL de agua destilada): pectina, 5,0; Peptona de soja, 1,0; Peptona de carne, 1,0; Extracto de levadura, 1,0; pH 6,5. Los cultivos se incubaron en agitación intermitente durante 24–96 horas a temperatura ambiente (30°C). Luego, se centrifugaron a 5.000 rpm durante 10 min y el centrifugado obtenido correspondió al **extracto crudo de pectinasa de *Bacillus* spp.**⁹

Determinación de actividad de pectinasa en los extractos crudos.

Se determinó la actividad de pectinasa por la cuantificación de los azúcares reductores liberados desde una solución de pectina (0,5% de pectina en buffer fosfato, pH 6,5) usando el reactivo ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) ²¹. Se trabajó con un Factor obtenido con solución de Equivalente reductor (glucosa estándar 1mg/mL). ^{9,11, 22, 23}

La mezcla de reacción contuvo 0,45 mL de sustrato y 0,05 mL de extracto crudo enzimático. Dichas soluciones se incubaron a 30 °C durante 30 min y la reacción se detuvo mediante la adición de 0,5 mL del reactivo DNS²¹ y posterior inmersión en baño de agua hirviente por 15 min. Después del enfriamiento, se adicionó 1,5 mL de ADE a cada muestra y se medirá la absorbancia a 570 nm.¹¹ La determinación se llevó a cabo por triplicado.

Una unidad de pectinasa fue definida como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 μmol de Equivalente reductor (glucosa) por minuto bajo las condiciones del ensayo, 30°C, pH 6,5. ^{9,11}

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra el rendimiento de extracción de pectina en las condiciones de pH 2,5; 70°C y por 70 minutos, observándose un mayor rendimiento de extracción en la cáscara de *Citrus paradisi* “toronja” de 2,81%. Se observó claros halos de hidrólisis (círculos claros) de la pectina de cáscara de *Citrus sinensis* “naranja” y de *Citrus paradisi* “toronja”, por pectinasas producidas por de *Bacillus* spp. aislados de suelo enriquecido con pectina (Fig.1).

La Tabla 2, muestra halos de hidrólisis (mm) y actividad de pectinasa (U/mL/min.) producida por *Bacillus* spp utilizando como fuente de carbono pectina de cáscara de naranja, observándose que no existe relación entre el diámetro del halo de hidrólisis y la actividad de pectinasa; así *Bacillus* spp M₁₂ presenta un halo de 14 mm y una actividad de 3,17 U/mL/min. En tanto que *Bacillus* spp M₂₇ presenta un halo de 30 mm y una actividad de 2,88 U/mL/min.

La Tabla 3, muestra halos de hidrólisis (mm) y actividad de pectinasa (U/mL/min.) producida por *Bacillus* spp utilizando como fuente de carbono pectina de cáscara de toronja, observándose que no existe relación entre el diámetro del halo de hidrólisis y la actividad de pectinasa; así *Bacillus* spp M₆₄ presenta un halo de 32 mm y una actividad de 1,82 U/mL/min., en tanto que *Bacillus* spp M₆₇ presenta un halo de 18 mm y una actividad de 3,53 U/mL/min. También se puede observar en las Tablas 2 y 3 que no existe diferencia en la producción de pectinasa por *Bacillus* spp cuando se siembran en medios conteniendo como fuente de carbono cáscara de *Citrus sinensis* “naranja” y de *Citrus paradisi* “toronja”.

Tabla 1. Rendimiento de extracción de pectina en cáscara de *Citrus sinensis* “naranja” y de *Citrus paradisi* “toronja”

Muestra	Parámetros de extracción			N° Repeticiones	Pectina cruda extraída		
	pH	T°C	Tiempo (minutos)		(g)	%	% Promedio
Cáscara de naranja	2,5	70	70	1	1,95	1,95	1,84
				2	1,82	1,82	
				3	1,74	1,74	
Cáscara de toronja	2,5	70	70	1	2,72	2,72	2,81
				2	3,25	3,25	
				3	2,45	2,45	

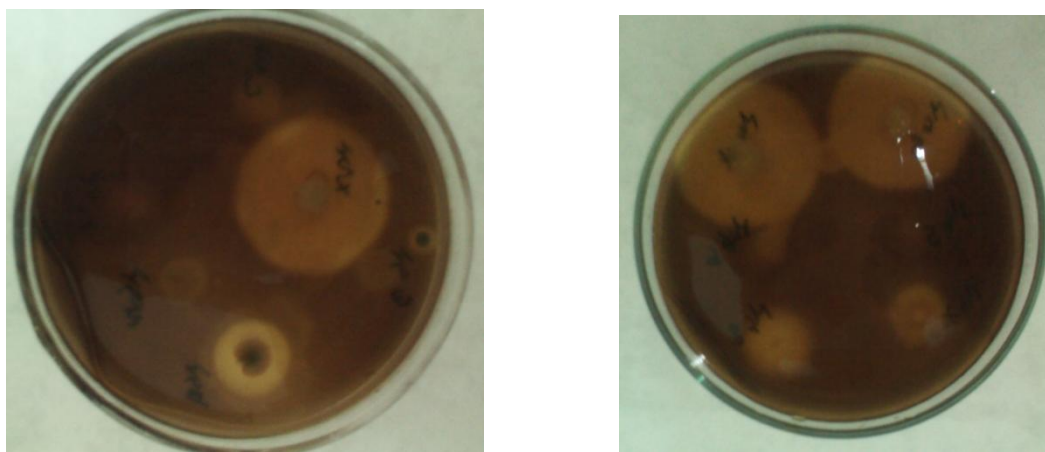


Fig. 1. Selección de *Bacillus* spp. productor de pectinasas según el diámetro de hidrólisis de la pectina como fuente de carbono de (izquierda) cáscara de *Citrus sinensis* “naranja” y de (derecha) *Citrus paradisi* “toronja”.

Tabla 2. Aislamiento y selección de *Bacillus* spp productor de pectinasas utilizando como fuente de carbono pectina de cáscara de *Citrus sinensis* “naranja”.

Aislamiento y selección de <i>Bacillus</i> spp productor de pectinasas			
Nº	Muestra de suelo	Halos de hidrólisis (mm)	Actividad de Pectinasa* U/mL/min
1	M ₁ 2	14	3,17
2	M ₁ 4	16	2,71
3	M ₂ 1	16	2,82
4	M ₂ 3	14	2,48
5	M ₂ 4	8	1,52
6	M ₂ 7	30	2,88

Una unidad de enzima (pectinasa) = cantidad de enzima requerida para liberar 1 μmol de Equivalente reductor (glucosa estandar) por minuto bajo las condiciones del ensayo, 30°C, pH 6,5.

Tabla 3. Aislamiento y selección de *Bacillus* spp productor de pectinasas utilizando como fuente de carbono pectina de cáscara de *Citrus paradisi* “toronja”.

Aislamiento y selección de <i>Bacillus</i> spp productor de pectinasas			
N°	Muestra de suelo	Halos de hidrólisis (mm)	Actividad de Pectinasa* U/mL/min
1	M ₅ 2	9	1,76
2	M ₅ 4	14	2,71
3	M ₅ 8	14	2,13
4	M ₆ 3	32	2,65
5	M ₆ 4	32	1,82
6	M ₆ 7	18	3,53
7	MD	22	2,94
8	ME	28	3,05
9	ML	30	2,94

Una unidad de enzima (pectinasa) = cantidad de enzima requerida para liberar 1 μ mol de Equivalente reductor (glucosa estandar) por minuto bajo las condiciones del ensayo, 30°C, pH 6,5.

DISCUSIÓN

Los cultivos puros de *Bacillus* spp fueron aislados previamente por el grupo de investigación en el que se enmarca el presente trabajo a partir de muestras de suelo del Jardín Botánico, en la Ciudad Universitaria de la UNT. El aislamiento se realizó tras un enriquecimiento de dicho suelo con pectina cruda extraída de los cítricos en estudio, aproximadamente durante 2 meses. Transcurrido este tiempo, las muestras fueron sometidas a un choque térmico de 80°C durante 10 min con el objetivo de seleccionar especies de *Bacillus* spp esporulados. De entre las muchos cultivos aislados, los cultivos de *Bacillus* spp con halos de hidrólisis de pectina mayores e iguales de 8 mm fueron seleccionados para el presente trabajo siendo un total de 15 cultivos que presentaron halos de hidrólisis desde 8 hasta 32 mm, para luego estudiar la producción de pectinasas en medio líquido.

En la Tabla 1, se observan los rendimientos de extracción de pectina “cruda”, siendo mayor en toronja, lo que confirma los datos encontrados por otros investigadores ²⁴. Siendo una técnica estandarizada permite obtener rendimientos que dependen exclusivamente de los parámetros utilizados para extraer la pectina.

Las Tablas 2 y 3, muestran que los cultivos de *Bacillus* spp cultivados en medio agar pectina sales, tras la incubación a 30°C durante 3 días, las placas fueron cubiertas con solución de lugol para revelar la secreción de pectinasas. Se encontró que los cultivos M₆3, M₆4, M₂7y ML mostraron halos notables de degradación de pectina, siendo de mayor tamaño el que presentaron los cultivos de *Bacillus* spp M₆3 y M₆4 de 32 mm (Fig. 1a). En cuanto al cultivo que presentó el menor halo de hidrólisis fue *Bacillus* spp M₂4 de 8 mm. (Fig. 1b).

Todos los cultivos presentaron buen crecimiento en medio líquido y se pudo observar un buen pelet en el centrifugado, sin embargo no se podría concluir cuál de ellos tuvo mejor nivel de crecimiento ya que no se midió la masa celular o la densidad óptica de dicha masa bacteriana.

La Tabla 2 y 3, también muestran los resultados de la actividad pectinolítica del extracto crudo de pectinasa por *Bacillus* spp probablemente extracelular. Dichos valores se encuentran entre 1,52 y 3,53 U de enzima/mL/minuto. Estos resultados son superiores a los encontrados por otros autores ¹⁰ de 0,53 U/mL/min; quienes indican que a ensayos de pH 7 se obtuvieron valores de actividad pectinasa aproximadamente similares a los detectados a pH 10, siendo el perfil de producción muy parecido (1,51 U/mL/min), y por el contrario, cuando los ensayos se realizaron a pH 5 no se detectó actividad. El pH de trabajo fue de 6,5 lo que permitió obtener una pectinasa ácida respecto a ala de estos investigadores.

El crecimiento de *Bacillus* spp en caldo pectina enriquecido con sales evidenció a las 48 horas un mayor desarrollo a pH 6,5 y temperatura de 30°C. Los valores de pH y temperatura utilizados en el presente trabajo, concuerdan con lo reportado por Bergey²⁵, donde menciona un pH 6,5.0 y una temperatura de 30°C, para un buen crecimiento de *Bacillus*.

En el experimento se determinó que el microorganismo necesitó aireación y agitación, para un mayor crecimiento, concordando con Cross²⁶. Valores de 0.5 vvm para la aireación y de 300 rpm para la agitación deben utilizarse para incrementar la producción de pectinasa.

CONCLUSIONES

- El rendimiento de extracción de pectina es mayor en cáscara *Citrus paradisi* “toronja” respecto a la de la cáscara de *Citrus sinensis* “naranja”.
- Se han aislado y seleccionado 15 cultivos puros de *Bacillus* spp de suelo enriquecido con pectina como fuente de carbono.
- Se ha obtenido una actividad enzimática máxima de 3,53 y 3,17 U/mL/min. de *Bacillus* spp sembrados en medio que contenían pectina de cáscara *Citrus paradisi* “toronja” y de *Citrus sinensis* “naranja”. respectivamente y además no existe diferencia en el uso de dichas fuentes carbonadas para la producción de pectinasas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Devia J. Proceso para producir pectinas cítricas. Rev. Univ. EAFIT. 2003; (129): 21-30.
2. Yegres S, Sánchez J, Belmar M, Riveros W, Belmar D. Producción de enzimas pécticas-ensayos preliminares. Rev. Univ. Or. 2001; 13(1): 55-59.
3. Bayoumi R, Yassin H, Swelim M, Abdell-All E. Production of bacterial pectinase(s) from agro-industrial wastes under solid state fermentation conditions. J App Sci Research. 2008; 4(12): 1708-1721.
4. Feoli M, Gómez Z, Muños A. Aislamiento y caracterización de microorganismos con actividad pectinolítica a partir de *Mangifera indica*. Rev. Col. Cienc. Quím. Farm. 1997; (26): 33-37.
5. Beltrán A, Larrondo C, Ramirez M, Ruiza A, Salgado L. Producción de pectinasas por *Aspergillus niger* a partir de cáscaras de naranja y de toronja como fuente de carbono. 2011. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
6. Silva D, Da Silva E, Da Silva R, Gomes E. Pectinase production by *Penicillium viridicatum* RFC3 by solid state fermentation using agricultural wastes and agro-industrial by products. Brazilian Journal of Microbiology. 2002; (33): 318-324.
7. Nadaroglu H, Taskin E, Adigüzel A, Güllüce M, Demir N. Production of a novel pectin lyase from *Bacillus pumilus* (P9), purification and characterization and fruit juice application. Romanian Biotechnological Letters. 2010; 15(2): 5167-5175.
8. Kashyap D, Vohra P, Chopra S, Tewari R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. Bioresource Technology. 2001; 77: 215-227.
9. Arroyo G. Producción de enzimas pectinasas por actinomycetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja. [Tesis Msc.]. 2002. UNMSM. Perú.
10. Soriano M. Análisis de sistemas pectinolíticos bacterianos. Aislamiento y caracterización de las pectinasas PelA de *Paenibacillus* sp. BP-23 e YvpA de *Bacillus subtilis*. Universidad de Barcelona. 2004.
11. Cabeza M, Merín M, Martín M, Sabaté D, Audisio M, Morata V. Effect of a Pectinase-Surfactin Preparation on Extraction of Pigments and Total Polyphenol from Malbec Grape Skins. American Journal of Enology and Viticulture. 2009; 60 (4): 477-483.
12. Trejo M. Producción de pectinasas de *Aspergillus niger* por fermentación sólida sobre soporte. Micol. Neotrop. Apl. 1991; (4): 49-62.
13. Maldonado Y, Salazar S, Millones C, Torres E, Vásquez E. Extracción de pectina mediante el método de hidrólisis ácida en frutos de maushan (*Vasconcellea weberbaueri* (Harms) V.M. Badillo) provenientes del distrito de San Miguel de Soloco, región Amazonas. Rev. Aporte Santiaguino. 2010; 3 (2): 177-184.

14. Chamorro M, Gutiérrez Chaponán. Extracción de pectina a partir de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*), toronja (*Citrus paradisi*) y pomelo (*Citrus grandis*). 2010 Nov 18; Lima, Perú. Centro de investigación de tecnología de alimentos. Universidad Peruana Unión.
15. Guidi A, Arandia M. Obtención de pectina a partir de la cáscara de maracuyá mediante hidrólisis ácida. J Boliviano de Ciencias. 2010; 67-71.
16. Estrada A.; López B. Pectinas cítricas. Efecto del arrastre de vapor en la extracción y de diferentes métodos de secado. Revista del Departamento de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Manizales. 1998. Vol. 7, p. 23 -34
17. Calvo P, Zúñiga D. Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus spp.* aisladas de la rizósfera de papa (*solanum tuberosum*). Ecología aplicada. 2010; 9 (1).
18. Piñero J, Vidal L, Coello N. Aislamiento y caracterización de una cepa de *Bacillus spp* degradadora de plumas de aves de corral. Rev. Científica, FCV-LUZ. 2000; 10(2): 124-129.
19. Ramos E, Zúñiga D. Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. Ecol Apl. 2005; 7(1,2): 123-130.
20. Reinoso Y, Casadesús L, García A, Gutiérrez J, Álvarez V. Aislamiento, selección y identificación de bacterias del género *Bacillus* antagonistas de *Pectobacterium carotovorum*. Fitosanidad. 2006; 10(3): 187-191.
21. Cuervo J. Aislamiento y caracterización de *Bacillus spp* como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Microbiología agrícola y veterinaria. [Tesis para optar título]. 2010. Universidad Javeriana. Bogotá D.C.
22. Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Biochemistry. 1959; (31): 426-428.
23. Martínez A. DNS: una técnica de cuantificación de azúcares reductores – Utilizada en el Laboratorio de Catálisis Enzimática del TESE. Rev. Tecnocultura. 2003. 6: 7 – 9
24. Rodríguez KA, Román AM. Extracción y evaluación de pectina a partir de la cáscara de naranja de las variedades *Citrus sinensis* y *Citrus paradisi* y propuesta de diseño de planta piloto para su producción. San Salvador, El Salvador. 2004
25. Acevedo V, Ramírez DM. Análisis técnico y económico de la pectina, a partir de la cáscara de la naranja (*Citrus sinensis*). Santiago de Cali, Colombia. 2011.
26. Cross T. Growth and examination of Actinomycetes-some guidelines, American Society for Microbiology, USA, 1980. 605-609



Sensibilidad antibacteriana de cultivos de *Listeria* proveniente de lugares de expendio de pescado de mercados de la ciudad de Trujillo (Perú)

Antibacterial sensibility of *Listeria* cultures isolated places of fish-expenditure of markets from Trujillo city (Peru)

Pedro Mercado-Martínez, Yulissa L. Moreno-Córdova

¹Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú.

²Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. UNT

RESUMEN

Se determinó la sensibilidad antibacteriana de 10 cultivos de *Listeria monocytogenes* y 15 cultivos de *Listeria* sp. frente a once antibióticos, para lo cual se realizó antibiogramas de dichos cultivos. A estos cultivos se les reactivó en agar-Oxford para luego ser pasados a agar nutritivo, a continuación se realizó una suspensión bacteriana de cada cultivo con un patrón de turbidez McFarland 0,5; el equivalente a 1.5×10^8 UFC/ml. Esta suspensión se estrió con hisopos estériles en placas con Agar Müeller Hinton en diferentes direcciones, se colocaron los discos de sensibilidad, se incubó y a las 18 hs se leyeron los resultados. Los antibacterianos empleados fueron: B-Lactámicos (Penicilina y Ampicilina), Macrólidos (Eritromicina), Sulfonamidas (Cotrimoxazol), Quinolonas (Ac. Nalidixico), Fluoroquinolonas (Ciprofloxacina), Aminoglicósidos (Gentamicina), Glicopéptidos (Vancomicina), Fenicoles (Cloranfenicol), Rifamicinas (Rifampicina) y Tetraciclinas (Tetraciclina). Se encontró que los antibacterianos usados en los cultivos de *Listeria* sp. presentaron mayor frecuencia de sensibilidad.

Palabras claves: Antibiograma, antibacterianos, *Listeria*.

ABSTRACT

Antibacterial sensibility of 10 cultures of *Listeria monocytogenes* and 15 cultures of *Listeria* sp. opposite to eleven antibiotics were determined. Hence, these cultures they were reactivated in agar oxford then to be spent to agar nourishing, and antibiograms were made; later, there fulfilled a bacterial suspension of every culture with a boss of turbidity McFarland 0,5; the equivalent to 1.5×10^8 UFC/ml. This suspension was fluted by sterile hyssops in plates by Agar Müeller Hinton in different directions, the discs of sensibility were placed, it incubated to 37°C and at 18 h the results were read. The antibacterial employees were: B-Lactámicos (Penicillin and Ampicilina), Macrólidos (Eritromicina), Sulfonamidas (Cotrimoxazol), Quinolonas (Ac. Nalidixico), Fluoroquinolonas (Ciprofloxacina), Aminoglicósidos (Gentamicina), Glicopéptidos (Vancomicina), Fenicoles (Cloranfenicol), Rifamicinas (Rifampicina) and Tetracyclines (Tetracycline). It was found that cultures of *Listeria* sp. presented the most sensibility frequency to antibacterial used.

Key words: Susceptibility, antibacterial, *Listeria*.

INTRODUCCIÓN

Como consecuencia de los cambios en el sistema de vida y en los hábitos alimentarios, las enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados han surgido como una causa importante de morbimortalidad a nivel mundial: se han descrito alrededor de 250 agentes causales de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales¹.

Considerada una zoonosis, la Listeriosis se adquiere mayormente por ingestión de alimentos contaminados o verticalmente de madre a hijo; sin embargo, a pesar de presentarse con una baja frecuencia es en la actualidad una de las ETAs más letales, causando gran alarma a nivel mundial entre productores de alimentos, consumidores y autoridades sanitarias, debido a que *Listeria* se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza: suelos, aguas residuales, comida animal y vegetal, productos lácteos sin pasteurizar, desechos de mataderos, así como en el tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos^{2,3,4}.

En efecto, las bacterias del género *Listeria* se caracterizan por su gran resistencia a un medio adverso, soportando altas concentraciones de sal, multiplicarse en un rango de temperatura que va entre los 3 y 45°C y un rango de pH entre 5,6 y 9,6; son gram-positivas, estrechamente relacionado con los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, y *Staphylococcus*⁵.

L. monocytogenes, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri* y *L. grayi* conforman el género *Listeria*, pero sólo dos: *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* son patógenas, la primera causa enfermedad severa en humanos y en animales, mientras que la segunda está más asociada a infecciones en animales⁶. La amplia distribución de *L. monocytogenes* se debe a la capacidad de sobrevivir durante periodos de tiempo prolongados en diferentes medios; por consiguiente, los alimentos se pueden contaminar en cualquier eslabón de la cadena productiva y en el almacenamiento en frío^{7,8,9}.

Dada la amplia distribución de *L. monocytogenes* en el medio ambiente, son múltiples las posibilidades de infección: a través del suelo, agua, plantas, animales, insectos, aire y alimentos (leche fluida cruda y pasteurizada, quesos, helado, verduras crudas, chorizos fermentados de carne cruda, carne cruda y cocida de ave de corral, carnes de todo tipo, y pescado crudo y ahumado) y hombre a hombre por la vía fecal-oral^{7,10}.

La presencia de *L. monocytogenes* en la industria alimentaria, como leche, carne, pescado y vegetales, refuerza la necesidad de que las industrias procesadoras de estos alimentos establezcan barreras que minimicen su ingreso a los lugares de proceso, en particular en aquellos puntos donde el alimento no es sometido a un tratamiento que permita la destrucción del patógeno; en pescado, por ejemplo, el proceso de ahumado en caliente (> a 68° C) tiene un efecto de pasteurización, sin embargo, el ahumado en frío (18-28° durante 18 h), incluso permitiría el desarrollo de *L. monocytogenes*, por lo tanto éste se considera entre los alimentos listos para el consumo de alto riesgo^{12,13}.

La listeriosis tiene una tasa de mortalidad entre 20-30%, siendo más alta que la de casi todas las demás ETAs: en Estados Unidos anualmente se presentan aproximadamente 2500 casos¹⁴. En Europa la incidencia anual está entre 0,1-11,3 casos por millón de habitantes¹⁵. En el Perú, sólo en la región La Libertad, se han reportado 42 casos entre los años 2001-2008¹⁶.

La dosis mínima requerida de *L. monocytogenes* para causar infección clínica en humanos no ha sido determinada, sin embargo el gran número de *L. monocytogenes* detectadas en los alimentos responsabilizados de casos esporádicos y epidémicos de Listeriosis (10⁶) sugiere que es alta⁸. Entonces, el diagnóstico oportuno y tratamiento temprano con antibacterianos como ampicilina y aminoglucósidos o clotrimazol son efectivos. Sin embargo, la sintomatología generalmente no permite un diagnóstico temprano, ya que los primeros signos de un brote son generalmente el aborto y/o la muerte del individuo¹².

Hasta hace unos años se consideraba que *L. monocytogenes* mostraba susceptibilidad a un amplio rango de antibacterianos activos contra bacterias Gam positivas⁴; sin embargo, se han descrito: (i) fracasos clínicos contra la listeriosis en tratamientos con penicilina o ampicilina¹⁸, (ii) resistencias a macrólidos y a tetraciclinas codificadas por algunos plásmidos o cromosómicamente⁴ y (iii) resistencias a la gentamicina⁴. De la misma manera, el cloranfenicol es un compuesto de amplio espectro, bacteriostático que inhibe el crecimiento bacteriano al bloquear la transferencia de ácido

ribonucleico soluble a los ribosomas sin embargo se puede encontrar alguna cepa de *Listeria* sp. resistente¹⁷.

El patrón de sensibilidad a los antibacterianos de *L. monocytogenes* ha permanecido relativamente estable con el paso de los años. Generalmente, este microorganismo es sensible “in vitro” a una amplia gama de antibacterianos como penicilina, ampicilina, gentamicina, eritromicina, tetraciclinas, rifampicinas, cotrimoxazol y vancomicina. Las fluorquinolonas y las cefalosporinas actuales presentan una pobre actividad, especialmente las de tercera y cuarta generación como cefotaxima y cefepima; todas las cepas de *L. monocytogenes* son resistentes a fosfomicina⁸.

El monitoreo continuo del curso y la naturaleza de la adquisición y diseminación de resistencia a antibacterianos por *L. monocytogenes* y otros miembros del género, se ha convertido casi en una exigencia para todos los aislados procedentes de ambientes, infecciones clínicas y primordialmente los provenientes de alimentos; ya que constituyen los vehículos de transmisión primaria de la listeriosis⁴.

La emergencia de la listeriosis humana transmitida por alimentos es un asunto de máximo interés en Salud Pública por lo que se deben dar cambios importantes en la producción, procesamiento y distribución de los alimentos⁷. Asimismo, debe contarse con datos que permitan disponer con antimicrobianos efectivos para el tratamiento a fin de no incentivar su uso indiscriminado que conduce a la aparición de cultivos resistentes. Por ello, se planteó la siguiente investigación con la finalidad de evaluar la actividad de antibióticos de uso común en 25 cultivos de *Listeria* provenientes de lugares de expendio de pescado de mercados de la ciudad de Trujillo (Perú); y así conocer, en base a análisis estadísticos, cual es el antibacteriano que tiene un mejor efecto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivos

Se dispuso de 10 cultivos de *Listeria monocytogenes* y 15 cultivos de *Listeria* sp debidamente identificados los cuales fueron aislados de los lugares de expendio de pescado obtenidos de los mercados del distrito de Trujillo (Perú). Los cultivos aislados e identificados fueron reactivados sembrándolos en placas conteniendo agar Oxford e incubándolos a 30°C por 24 horas. Luego se hizo una suspensión bacteriana semejante al patrón de turbidez McFarland 0,5; que es equivalente a 1.5×10^8 UFC/ml.

Actividad antibacteriana

Se prepararon placas Petri con agar Müller Hinton (12 – 15 mL por placa), las que se dejaron secar por unos minutos en estufa para eliminar el exceso de humedad; luego se sembró la suspensión bacteriana, con ayuda de un hisopo estéril, sobre la superficie del medio de cultivo y en todas las direcciones.

Sobre la superficie de la placa ya sembrada, con la suspensión bacteriana (inóculo), se colocó los discos de antibióticos, con ayuda de una pinza estéril, y se incubó a 37°C por 18 horas. Los antibacterianos probados fueron: B-Lactámicos (Penicilina y Ampicilina), Macrólidos (Eritromicina), Sulfonamidas (Sulfametoxazol trimetoprim), Quinolonas (Ac. Nalidixico), Fluoroquinolonas (Ciprofloxacina), Aminoglicósidos (Gentamicina), Glicopéptidos (Vancomicina), Fenicoles (Cloranfenicol), Rifamicinas (Rifampicina) y Tetraciclinas (Tetraciclina). Pasado el tiempo de incubación se midió el diámetro (en milímetros) de la zona alrededor de cada disco, esto fue interpretado de acuerdo a los lineamientos del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)^{19, 20}, y se clasificó la sensibilidad del antibacteriano en cada cepa, como susceptible, intermedio o resistente.

RESULTADOS

Se observó una frecuencia del 90% de sensibilidad del cultivo de *L. monocytogenes* ante Gentamicina pero 0% de sensibilidad ante Penicilina y Tetraciclina; además, 100% de sensibilidad del cultivo de *Listeria* sp. ante Vancomicina y 0% ante Rifampicina y Tetraciclina y que no hay diferencia significativa entre los resultados para las dos especies de *Listeria* (Tabla 1).

Se evidencio que los antibacterianos que tienen mejor acción para *L. monocytogenes* fueron: Ampicilina, Sulfametoxazole Trimetoprim, Gentamicina, Vancomicina y Eritromicina; y para *Listeria* sp.: Sulfametoxazole Trimetoprim, Gentamicina, Eritromicina, Ampicilina y Ciprofloxacina; por encontrarse por encima de la media aritmética (Fig. 1).

DISCUSIÓN

De los resultados obtenidos de frecuencia en cuanto al ensayo de sensibilidad antibacteriana realizado a los diez cultivos de *Listeria monocytogenes*, tal como se muestra en la Tabla 01, se evidencia que esta bacteria es sensible en su valor más alto (90 %) al antibiótico gentamicina, por que dicha especie posee una sensibilidad natural a Gentamicina por ser un aminoglucósido, ya que inhibe la síntesis de proteínas a nivel ribosomal⁴.

Asimismo, revela una sensibilidad del 80% a ampicilina y sulfametoxazole trimetoprim, esto sería porque ampicilina, siendo un betalactámico, actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular e induce un efecto bacteriolítico; y en el caso del sulfametoxazol y trimetoprim, se combina una sulfonamida, que tiene acción bacteriostática por ser antagonista del PABA (ácido para aminobenzoico) impidiendo así la síntesis de ácido fólico y consecuentemente la síntesis de timina y purina; con el trimetoprim que complementa ésta acción por ser un inhibidor de la enzima dihidrofolato reductasa que actúa en la síntesis de ácido fólico.

Tabla 1. Frecuencia de cultivos sensibles de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* sp. provenientes de lugares de expendio de pescado de mercados de la ciudad de Trujillo frente a los antibacterianos seleccionados.

Antibacteriano	Frecuencia (%) de cultivos sensibles de:	
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> sp.
Ampicilina	80	87
Penicilina	0	7
Eritromicina	70	73
Sulfametoxazole Trimetoprim	80	73
Ácido Nalidíxico	30	13
Ciprofloxacina	30	87
Gentamicina	90	87
Vancomicina	80	100
Clorafenicol	30	27
Rifampicina	10	0
Tetraciclina	0	0

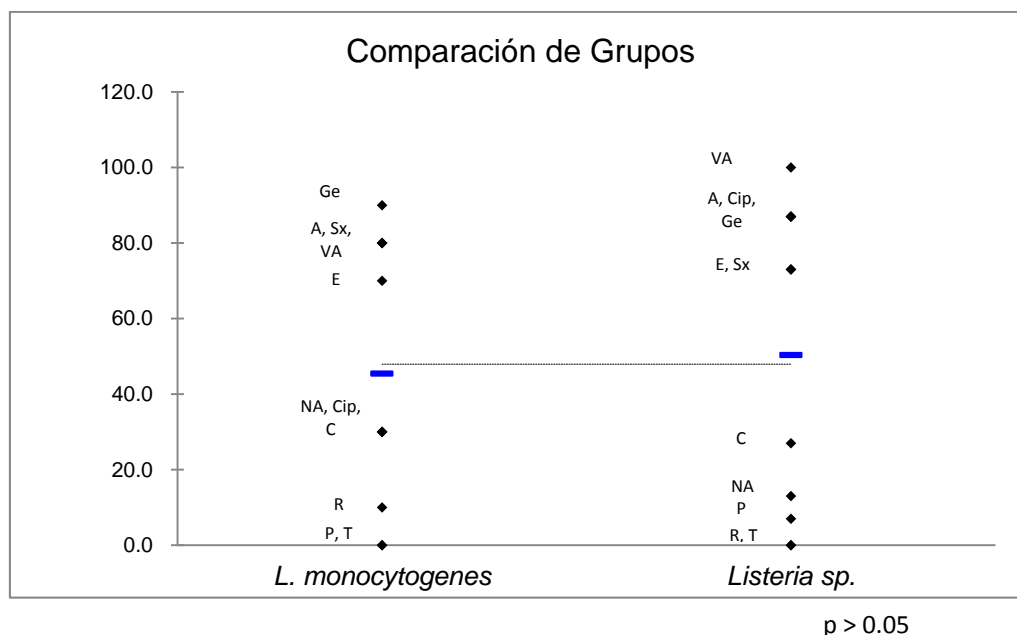


Fig. 1. Análisis de varianza (ANOVA) de la frecuencia de cultivos sensibles de *Listeria monocytogenes* y *Listeria sp.* Donde: A=Ampicilina; P= Penicilina; E=Eritromicina; SX= Sulfametoxazol Trimetoprim; NA=Acido Nalidíxico, CIP=Ciprofloxacina, G=Gentamicina; VA=Vancomicina; C=Cloranfenicol, R=Rifampicina; T=Tetraciclina. Representa la Media Aritmética —

Actualmente, se considera que las mejores opciones son la penicilina o la ampicilina, solas o asociadas a gentamicina. Y la combinación de trimetoprim y sulfametoxazol se ha utilizado con éxito en pacientes alérgicos a penicilinas, considerándose en la actualidad la terapia alternativa en esta circunstancia²¹. La actividad inhibitoria y bactericida de la ampicilina y gentamicina observada en el estudio frente a *L. monocytogenes* es una clara evidencia de que aún se mantiene el patrón de susceptibilidad a estos antibióticos de elección⁴.

Sin embargo, también se obtuvo un porcentaje de 80% de sensibilidad ante el antibiótico vancomicina, el que inhibe la síntesis de peptidoglucano y por lo tanto la síntesis de la pared celular. De otro lado, no se encontró ninguna cepa de *L. monocytogenes* sensible para tetraciclina y penicilina, pero sí de resistencia intermedia y resistencia.

Para *Listeria sp.*, se evidenció que el 100 % de los cultivos (15) fueron sensibles a vancomicina y se encontró una sensibilidad elevada (83%) para ampicilina, ciprofloxacina y gentamicina. La ciprofloxacina, como parte de las fluoroquinolonas, es un antibiótico de amplio espectro e inhibe la enzima topoisomerasa IV y provoca lisis celular. En el caso de gentamicina, ésta inhibe la síntesis proteica por alterar la interacción codón-anticodón dando una mala lectura del código genético e inhibir los procesos de iniciación y elongación de la síntesis proteica; siendo así un bacteriostático.

Cabe señalar que según los datos obtenidos, no hubo registro de sensibilidad para rifampicina y tetraciclina, pero si hubo resistencia intermedia y resistencia. (Ver Anexo 3). La literatura revela que existe una incidencia de al menos una cultivo resistente a ampicilina, eritromicina, vancomicina, cloranfenicol y tetraciclina, detectada en aislados procedentes de alimentos e infecciones clínicas⁴. Coincidiendo con los resultados obtenidos en la presente investigación.

Se realizó el estudio de análisis de varianza (ANOVA) para la obtención de resultados estadísticos, donde, según la Gráfica 01 se exhiben los antibióticos que pueden utilizarse ante la posible infección con alguna de las especies de *Listeria* ensayadas en este trabajo de investigación. Es así que para *L. monocytogenes* se puede utilizar Ampicilina, Sulfametoxazole Trimetoprim, Gentamicina, Vancomicina y Eritromicina, por encontrarse por encima de la línea que representa la media aritmética; en el caso de *Listeria sp.*, los antibacterianos factibles de usar son Sulfametoxazole Trimetoprim, Gentamicina, Eritromicina, Ampicilina y Ciprofloxacina.

Además, resultó q no hay diferencia significativa entre los resultados de ambas especies trabajadas de *Listeria*; por lo que se pueden utilizar los mismos antibióticos para ambas especies. Antibióticos que se encuentren sobre la media aritmética, ya que éstos serían más eficaces.

Por lo tanto, el presente trabajo evidencia que *Listeria* es un microorganismo sensible a una amplia gama de antibióticos, como lo describen Oteo y Alós; antibióticos como penicilina, ampicilina, gentamicina, eritromicina, tetraciclinas, rifampicina y vancomicina. Describiéndose además resistencias a macrólidos y a tetraciclinas en algunos aislamientos; que suelen estar codificadas por plásmidos, aunque también hay casos de resistencia a tetraciclinas codificada por el cromosoma; puntualizado así por dichos autores.

CONCLUSIONES

- No hay diferencia significativa entre *Listeria monocytogenes* y *Listeria* sp. con respecto a los antibacterianos evaluados.
- Se pueden usar los antibióticos Ampicilina, Sulfametoxazole Trimetoprim, Gentamicina, Vancomicina, Eritromicina y Ciprofloxacina para *Listeria monocytogenes* y *Listeria* sp.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alcayaga S, Hott B. *Listeria* y Listeriosis: un desafío de los nuevos tiempos. Rev Chile Salud Pública. 2008; 12(3): 188-195.
2. Rossi L, Paiva A, Tornese M, Chianelli S, Troncoso A. Brotes de infección por *Listeria monocytogenes*: una revisión de las vías que llevan a su aparición. Chile Infect. 2008; 25(5): 328-335.
3. Schöbitz R, Ciampi L, Nahuelquin Y. *Listeria monocytogenes* un peligro para la industria alimentaria. Agro sur. Chile. 2009; 37(1): 1-8.
4. Villalobos L, Martínez R. Susceptibilidad antimicrobiana de *Listeria* spp. aisladas de alimentos durante el periodo 2003-2004. Cumaná, Venezuela. Rev Soc Venezolana Microbiol. 2006; 26:31-34.
5. Gesche E, Ferrer J. Detección de *Listeria monocytogenes* en agua de mar y pescado provenientes de Áreas de Recolección de Productos Marinos. Alimentos. 1995; 20(34): 21-25.
6. Torres KJ, Sierra SC, Poutou RA, Vera H, Carrascal AK, Mercado M. Incidencia y diagnóstico de *Listeria monocytogenes*; microorganismo zoonótico emergente en la industria de alimentos. Rev UDCA Act Divulg Cient 2004; 7(1): 25-57.
7. Manual de la OIE sobre animales terrestres. *Listeria monocytogenes*. 2004. Cap. 2.10.14.
8. Torres K, Sierra S, Poutou R, Carrascal A, Mercado M. Patogénesis de *Listeria monocytogenes*, microorganismo zoonótico emergente. Revista MVZ Córdoba. Colombia 2005; 10(1): 511-543
9. Chávez R. Evaluación del control de *Listeria monocytogenes* usando métodos físicos y químicos en condiciones de laboratorio y sobre superficies contaminadas en relación al tiempo. Trujillo, Perú. 2011
10. Gesche, E. *Listeria monocytogenes* como causal de enfermedad transmitida por alimentos. Fleischwirtsch, español. 1989. (2): 41-44.
11. Gamboa A, Mejía D, Moreno P, Buitrago S, Pérez K, et al. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii* and *Listeria* especies isolated from swine processing facilities in Colombia. J Swine Health Prod. 2013; 21(1): 10-21.
12. Schöbit Z R., Ciampi L. y NahuelquinY. *Listeria monocytogenes* un peligro para la industria alimentaria. Agro sur. Chile 2009; 37 (1): 1-8
13. FAO. Codex Alimentarius, Directrices Sobre la Aplicación de Principios Generales de Higiene de los Alimentos para el Control de *Listeria monocytogenes* en los Alimentos. 2007.
14. Murray P, Rosenthal K, Kabayashi G, Pfaller M. Microbiología Médica. 5ªed. Barcelona. Elsevier Science. 2006.
15. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico Microbiológico. 5º ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2004.
16. Ministerio de Salud del Perú. Información estadística sobre listeriosis – años 2001 al 2008. La Libertad: Gerencia Regional de Salud La Libertad – Oficina de Informática. Telecomunicaciones y Estadística; 2009.

17. G. Malbrán C. Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales: test de difusión por discos y test de dilución. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Departamento Bacteriología. Servicio Antimicrobianos. Buenos Aires, Argentina. 2001.
18. Oteo J, Alós J. Servicio de Microbiología. Control de Calidad SEIMC. Hospital de Móstoles. Móstoles. Madrid. www.seimc.org/control/revisiones/bacteriologia/listeria.pdf [Consulta: Septiembre, 2012]
19. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard- 2da ed. NCCLS document M31-A2. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. CLSI document M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.
21. Zamora J., Chaves C. y Arias M. Comparación del perfil de sensibilidad a antibióticos de cepas de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. aisladas a partir de alimentos con cepas de origen clínico. Rev Alan Venezuela. 2006; 56 (2).



Eclosión de huevos de *Diphyllbothrium pacificum* en agua de mar a valores de pH modificados

Diphyllbothrium pacificum eggs hatching in seawater at pH values modified

Alice Barranzuela, Carmen Benites, Beatriz Guevara, Mayra Gutiérrez, Angie Julca^y César A. Jara

¹Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo- Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT.

RESUMEN

Diphyllbothrium pacificum es un cestodo que se desarrolla en el ambiente marino y produce la enfermedad denominada difilobotriasis en el hombre; sin embargo, muchos aspectos de su biología no han sido investigados, dentro de ellos, la resistencia a los cambios de pH del agua de mar, que poco a poco están siendo más notorios por el cambio climático. En el presente trabajo se determinó el porcentaje de eclosión *in vitro* de huevos de este parásito en agua de mar a valores de pH modificados: 7.5, 8.0 y 8.5. Se obtuvo formas adultas de *D. pacificum* de un perro doméstico infectado experimentalmente con larvas plerocercoides pertenecientes a la familia Diphyllbothriidae; del útero de las formas adultas se extrajeron los huevos y fueron suspendidos en solución salina al 0.9% durante ocho días para su embrionación. De la suspensión de huevos se tomó 0.4 mL y se colocaron en placas de Petri con 10 mL de agua de mar filtrada y con los valores de pH modificados; tres placas para cada valor. El porcentaje de eclosión se determinó por la observación de huevos sin coracidio o sin opérculo. Los porcentajes encontrados en los valores de pH 7.5, 8.0, 8.5 y el control 7.2 (agua de mar natural) fueron, 21.0, 29.1, 15.7 y 20.2, respectivamente. Encontrándose en el valor de pH 8.0 el mayor porcentaje de eclosión.

Palabras clave: *Diphyllbothrium pacificum*, pH, agua de mar, eclosión

ABSTRACT

Diphyllbothrium pacificum is a tapeworm that it conducts its life cycle in the marine environment and produces the disease called diphyllbothriasis in man; however, many aspects of its biology have not been investigated, among them, resistance to changes in pH of seawater, which are gradually becoming more noticeable by climate change. In this investigation the percentage of *in vitro* hatching eggs of this parasite in seawater at pH values modified: 7.5, 8.0 and 8.5 it was determined. *D. pacificum* adult forms was obtained of a domestic dog experimentally infected with plerocercoids-larvae belonging to the Diphyllbothriidae family; from uterus, eggs were removed and suspended in 0.9% saline for eight days for embryonation. Egg suspension of 0.4 mL was taken and placed in petri dishes with 10 mL of filtered seawater and modified pH values; three plates for each value. The percentage of hatching was determined by observation of eggs without coracidium or without operculum. The percentages found in the values of pH 7.5, 8.0, 8.5 and 7.2 control (natural seawater) were 21.0, 29.1, 15.7 and 20.2, respectively. It was found the highest percentage of hatching at pH 8.0.

Keywords: *Diphyllbothrium pacificum*, pH, seawater, hatching

INTRODUCCIÓN

En distintas regiones geográficas a nivel mundial se han registrado alrededor de 80 especies de *Diphyllobothrium*; sin embargo, en el Perú sólo se ha reconocido la presencia de *D. pacificum*^{6,9}. La forma adulta de esta especie presenta a los pinnípedos *Otaria byronia* "lobo chusco" y *Arctocephalus australis* "lobo fino" como huéspedes naturales y al hombre como huésped accidental; la larva plerocercoides, que es la forma infectante para ambos tipos de huéspedes, ha sido encontrada en alrededor 10 especies de peces de consumo humano en la costa peruana^{3,4,6}.

Las larvas plerocercoides, luego de ser ingeridas conjuntamente con tejido de pescado con deficiente cocción, se desarrollan rápidamente en adultos en el intestino de los hospedadores definitivos, dando sus primeros huevos de 2 a 6 semanas después de la infección; los huevos liberados en las heces llegan a un medio acuático para iniciar el proceso de embriogénesis que termina con la formación del coracidio; al eclosionar los huevos, el coracidio, móvil, nada y atrae la atención de potenciales primeros huéspedes intermediarios (copépodos) para ser ingeridos, penetrar la pared intestinal, establecerse en sus hemocelomas y desarrollarse como procercoide; finalmente, los peces planctofagos, segundos huéspedes intermediarios, se infectan al ingerir a los copépodos parasitados y la procercoide entra en sus tejidos donde se mantiene aislada por una capa adventicia y viable hasta ser ingerida por los hospederos finales^{5,9,11}.

El desarrollo de los estadios de otras especies de *Diphyllobothrium* está por diversos factores, tales como, pH, temperatura, salinidad, luz y concentración de oxígeno presentes en el agua de mar, aspecto que no ha sido completamente investigado en el caso de *D. pacificum*. En la zona costera del mar peruano, las aguas superficiales presentan una concentración salina de 3.5 g/L, temperatura promedio 19 °C y un pH que oscila entre 7 y 8.5¹². La presente investigación estuvo dirigida a determinar el porcentaje de eclosión in vitro de los huevos de *D. pacificum* en agua de mar a pH 7.5, 8.0 y 8.5; se espera un mayor porcentaje de eclosión a pH 8.0, conocimiento que será de utilidad para obtener la mayor cantidad de coracidios de utilidad para otras investigaciones y como parte de un probable control.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de huevos de *D. pacificum*³.

Se obtuvieron larvas plerocercoides a partir de ejemplares de *Galeichthys jordani* "bagre". En el peritoneo visceral y pared del estómago se observaron quistes de color blanquecino, estos fueron extraídos y separados a placas de Petri con solución salina al 0.9%, con ayuda de estiletes se rompieron los quistes obteniéndose las larvas que fueron identificadas como pertenecientes a la familia Diphylobothriidae.

Se realizó la infección experimental en *Canis familiaris* por vía oral con 10 larvas plerocercoides suspendidas en solución salina al 0.9%. En la quinta y sexta semana de infección se realizó el análisis coproparasitoscópico directo de *Canis familiaris*, donde se observó la presencia de huevos de *Diphyllobothrium*.

Se obtuvo las formas adultas de *D. pacificum* mediante la desparasitación de *C. familiaris* con Ciclonamida (5mg/kg), el céstodo se recolectó en solución salina y fue identificado como *D. pacificum*. Se identificó y separó los proglotidos grávidos de los cuales se extrajo los huevos mediante disección y colocados a una placa de Petri con solución salina al 0.9% durante 8 días para su embrionación.

Filtrado y ajuste del agua de mar a los valores de pH a evaluar

El agua de mar recolectada de Puerto Morín se filtró con la ayuda de papel de filtro. Se midió el pH del agua de mar natural obteniéndose 7.25, luego se ajustó a pH 7.5, 8.0 y 8.5 agregando NaOH. La medida exacta del pH se realizó con el pH Metro (previamente ajustado con solución buffer de pH 7.0 y 10.0).

Incubación de los huevos en agua de mar a pH 7.5, 8.0 y 8.5

Se colocó en placas de Petri 10mL de agua de mar a valor de pH modificado (tres placas por cada valor de pH), a cada placa se agregó 0.4mL de la suspensión de huevos. En una caja de tecnopor de aproximadamente 40x40cm, se colocaron las placas manteniéndose a una temperatura aproximada entre 18 y 20°C durante dos días.

Determinación del porcentaje de eclosión

Trascurrido el periodo de incubación (ocho días), se determinó el porcentaje de eclosión mediante el conteo de huevos sin opérculos en el microscopio óptico a 400 aumentos. El conteo se llevó a cabo utilizando 1 mL del contenido de cada placa en 10 laminas portaobjeto (0.1 mL por lamina).

RESULTADOS

Se observó eclosión de huevos de *D. pacificum* en todas las placas con valores de pH modificados; siendo los porcentajes de eclosión en pH 7.5, 8.0 y 8.5 y el control (pH 7.2) 21.02%, 29.08%, 15.68% y 20.25% respectivamente (Fig. 1).

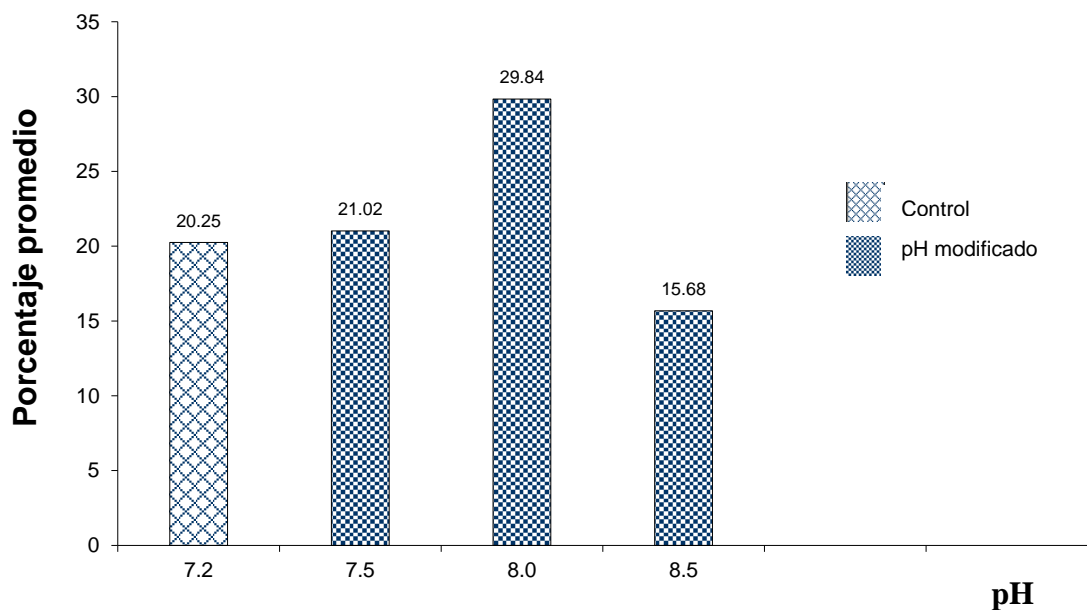


Fig. 1. Porcentaje promedio de huevos eclosionados de *Diphyllbothrium pacificum* a los pH 7.2; 7.5; 8.0 y 8.5.

DISCUSIÓN

El presente trabajo corresponde a la primera investigación del factor pH sobre la eclosión de los huevos de *D. pacificum* en agua de mar natural; pese a que *Diphyllobotrium sp* ha sido reconocido como un parásito humano durante mucho tiempo, aspectos como su biología y distribución actual aún son poco conocidos¹¹. *D. pacificum* es un parásito presente en zonas costeras de nuestro litoral peruano, específicamente cerca de islas que son el hábitat del huésped definitivo *Otaria byronia*, estas aguas presentan características físicas con valores establecidos como la concentración salina que presenta un valor de 3.5 g/L, temperatura promedio 19 °C y un pH que oscila entre 7 y 8.5¹². Estas características no son constantes debido a cambios climáticos globales de diferente magnitud que pueden afectar a los organismos que habitan las aguas del Océano Pacífico¹⁰.

En el resultado obtenido del ensayo control con un pH 7.2 (sin modificar); se observó un porcentaje de eclosión de 20.25%, mientras que el ensayo con pH ajustado a 7.5 presentó 21.02% de eclosión del total de la muestra analizada; comparado con el resultado del ensayo control, se ve una variación de 0.77%, mientras que en los ensayos con pH ajustado a 8.0 y 8.5, presentaron un porcentaje de eclosión de 29.89% y 15.68% respectivamente, presentando una variación de 9.64% en el ensayo con pH ajustado a 8.0 y 4.57% en el ensayo ajustado a pH 8.5, respecto a la placa control (figura 1); se obtuvo un mayor porcentaje de eclosión a pH 8.0, este resultado también coincide con investigaciones en donde se ha logrado *in vitro* la transformación de coracidio a procercoide del cestodo *Schistocephalus solidus*; para ello tuvieron que obtener los coracidios *in vitro*, de modo semejante a lo que se hizo en el presente estudio, y se determinó que, igualmente, el pH 8.0 permite una mayor eclosión que otros pHs¹³.

Existen estudios sobre la temperatura de eclosión de *D. latum* la cual se atribuye a un rango entre 15 y 25°C, es por ello que no se descarta la influencia del factor temperatura en el presente trabajo experimental. Por otro lado se conoce que existe una relación directamente proporcional entre la temperatura y el pH. Cuando la temperatura logra alcanzar en promedio 18.9 el pH ha llegado también a alcanzar un promedio de 8.04¹². Siendo 20°C la temperatura medida al momento de recolectar el agua de mar en la zona donde podemos encontrar el huésped definitivo (Puerto Morin), por otro lado teniendo en cuenta la temperatura de eclosión de los huevos de *D. latum* y la relación que existe entre la temperatura y el pH, se puede atribuir el resultado encontrado como respuesta a la hipótesis planteada¹² aunque no se descarta la influencia de otros factores en los resultados obtenidos ya que para *D. pacificum*, aún existen factores que no han sido estudiados¹¹, tal como se ha hecho con otras especies de seudofilideos^{14,15} queda por determinar si sustancias polutantes que luego de ser usados van al mar afectan la embrionación y viabilidad de los coracidios, aspecto de importancia dado que mar recibe muchas de esas sustancias.

AGRADECIMIENTO

Al Mg. Orlando Pretell Sevillano y a la la Mg. Patricia Elizabeth Torres Plasencia, docentes del departamento de Química Biológica y Fisiología Animal, por proporcionar el pH Metro y por su orientación durante el ajuste del pH del agua de mar en los valores evaluados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Miranda H, Fernández W, Bocanegra R. Diphyllbothriasis Estado Actual en el Perú Descripción de nuevos casos. Arch Peruanos Pat Clin 1967; 21(1): 53-70.
2. Escalante H, Miranda H. Hallazgo de las larvas plerocercoides en peces marinos del Perú y desarrollo de formas adultas del parásito en *Canis familiaris*. Bol Chile Parasitol 1986; 41: 7-13.
3. Escalante H, Jara C, Chico J. Nuevos hallazgos de larvas plerocercoides de *Diphyllbothrium pacificum* en peces marinos del Perú. REBIOL 1988; 8(1): 7-18.
4. Scholz T, García HH, Romano K, Wicht B. Update on the Human Broad Tapeworm (Genus *Diphyllbothrium*), Including Clinical Relevance. Clin Microbiol Rev 2009; 22(1): 146-160.
5. Martínez FA, Troiano JA, Gauna AL, Duchene A, Siscardi A. Frecuencia de infección por *Diphyllbothrium* sp. (cestoda: Diphyllbothriidae) en carnívoros silvestres de Argentina. Bol Chile Parasitol 2000; 55(1): 100-103.
6. Cabrera CR, Tantaleán VM, Rojas MR. *Diphyllbothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956 *Canis familiaris* de la ciudad de Chincha, Perú. Bol Chile Parasitol 2001; 56(1-2): 26-28.
7. Torres P, Franjola R, Pérez J, Auad S, Uherek F, Miranda JC, et al. Epidemiología de la Difilobotriasis en la Cuenca del Río Valdivia. Rev Saúde Pública 1988; 23(1): 45-57.
8. Santos FLN, Faro LB. El primer caso confirmado de *Diphyllbothrium latum* en Brasil. Souvenirs. Inst Oswaldo Cruz 2005; 100(6): 685-686.
9. Jiménez JA, Rodríguez S, Gamboa R, Rodríguez L, García HH. *Diphyllbothrium pacificum* La infección rara vez se asocia con anemia megaloblastica. Am J Trop Med Hyg 2012; 87(5): 897-901.
10. Sagua H, Neyra I, Araya J, Gonzales J. Nuevos casos de infección humana por *Diphyllbothrium pacificum* (Nybelin, 1931) Margolis, 1956 en Chile y su probable relación con el fenómeno del niño, 1975-2000. Bol Chile Parasitol. 2001; 56(1 -2): 22-25.
11. Torres P. Difilobotriasis. En: Atias A (ed.), Parasitología Médica. Santiago de Chile: Impresos Universitaria S.A, 2005; pp.201-211.
12. Instituto del Mar Peruano -IMARPE. El Ambiente Marino Costero de la Región la Libertad, 2010. Callao: IMARPE; 2010. Volumen 40, Números 3-4.
13. Jakobsen RJ, Scrarsack JP, Hammarschmidt K, Deines P, Kalbe M, Milinski M. *In vitro* transition of *Schistocephalus solidus* (Cestoda) from coracidium to procercoide and from procercoide to plerocercoid. Exp Parasitol. 2012; 130: 267-273
14. Khalil M, Furness D, Polwart A; Hoole D. X-ray microanalysis (EDXMA) of cadmium exposure eggs of *Botriocephalus acheilognathi* (Cestoda; Botriocephaliidae) and the influence of this heavy metal on coracidial hatching and activity. Int J Parasit. 2009; 39: 1093-1098.
15. Pietrock M, Marcogliese DJ. Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. Trends in Parasitol 2003; 19(7): 293-299.



Efecto repelente del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), bajo condiciones experimentales

Repellent effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) endosperm-oil in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), under experimental conditions

Judith Roldán Rodríguez, Richar Morales Rodríguez Y Gisela Otiniano Cerna
Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se determinó el efecto repelente de las concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Familia: Euphorbiaceae) contra la picadura de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) en condiciones experimentales. Se utilizaron especímenes hembras de *Cx. quinquefasciatus* de ocho días de edad, en estado de inanición durante tres días, las cuales fueron expuestas para alimentarse de *Gallus gallus*, de un mes de edad; se le aplicó 0.1mL/10cm² de aceite en el cuello y cabeza de cada una de las concentraciones evaluadas. Se utilizó 30 especímenes en cada concentración y en los grupos control positivo (DEET al 20%) y negativo (diluyente: Etanol); el tiempo de exposición fue de 5 minutos a intervalos de 30 min hasta que se produzca la primera picadura; el ensayo se realizó en cinco repeticiones evaluándose el tiempo de protección y porcentaje de repelencia. Se determinó los más altos porcentajes de protección en las concentración de 100 y 1000 ppm, con un 100% de repelencia hasta las 180 horas de evaluación; no se encontró diferencias estadísticas significativas entre ambas concentraciones (P<0.05). Se concluye que el aceite del endospermo de *R. communis* tuvo actividad repelente en las concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm.

Palabras clave: *Culex quinquefasciatus*, aceite del endospermo, *Ricinus communis*.

ABSTRACT

The repellent effect of the concentrations of 10, 100 and 1000 ppm of *Ricinus communis* (Family Euphorbiaceae) oil-endosperm against bite of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in experimental conditions was determined. *Cx. quinquefasciatus* female specimens, eight days old, in a state of starvation for three days, were used; then they were exposed to feed *Gallus gallus*, one month old; it was applied 0.1mL/10cm² oil in the neck and head of each of the concentrations tested. 30 specimens were used at each concentration and in the positive control group (20% DEET) and negative (solvent: ethanol); exposure time was 5 minutes at intervals of 30 min until the first bite occurs; the trial was conducted in five replicates evaluating the time and percentage repellency protection. The highest percentages of protection was determined in the concentration of 100 and 1000 ppm, with 100% repellency to 180 hours of evaluation; no significant statistical difference between both concentrations (P <0.05). It was concluded that the *R. communis* oil endosperm was repellent activity at concentrations of 10, 100 and 1000 ppm.

Keywords: *Culex quinquefasciatus*, oil-endosper, *Ricinus communis*.

INTRODUCCIÓN

Culex quinquefasciatus Say, 1823 constituye un problema de salud pública porque causa alergias mediante su picadura e intranquilidad debido a su acecho constante por elevado número de ejemplares, asimismo, y a que transmite filariasis por *Wuchereria bancrofti* y *Dirofilaria immitis*, y virosis por el virus del Nilo occidental, de la encefalitis de San Luis y la encefalitis equina venezolana^{1,2,3,4}.

Cx. quinquefasciatus es el mosquito más frecuentemente encontrado en el ambiente humano, tanto urbano como rural, y es considerada una especie acentuadamente antropofílica y endofágica^{4,5}. Los adultos presentan hábitos nocturnos, con un rango de dispersión no excesivo y con estadios inmaduros en criaderos constituidos por aguas tanto limpias como con alto grado de contaminación, abundante contenido de materia orgánica, con detritos en proceso de fermentación, en ambientes sombreados, lénticos o semilénticos^{3,4,5,6}.

Uno de los enfoques alternativos más eficaces en el marco del programa de control biológico consiste en explorar la biodiversidad florística y entrar en el campo del uso de los insecticidas más seguros de origen botánico como un método sencillo y sostenible de la lucha contra los mosquitos⁷. Otra medida es la protección personal mediante el uso de productos repelentes, las que se definen como sustancias que actúan de forma local evitando que un insecto en pleno vuelo se pose y pique en la piel^{8,9}. De ellos, el más eficaz y persistente en la piel es el DEET (N-N- dietil-m-toluamida)^{10,11}. Sin embargo, el uso de aceites esenciales de *Cymbopogon* spp., *Eucalyptus* spp. y *Ocimum* spp. ha demostrado la misma eficacia que el mencionado compuesto químico, aunque menos duradero; estas plantas han sido tradicionalmente utilizadas para repeler a los mosquitos en zonas selváticas como el Amazonas boliviano^{12,13}.

Los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 100 metabolitos secundarios, que pueden clasificarse en compuestos fenólicos, terpenoides y alcaloides sobre la base de sus orígenes biosintéticos, se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas que incluyen las Compuestas, Labiadas, Lauraceae, Myrtaceae, Rosaceae, Rutaceae y Umbelíferas y pueden ser extraídos a través de diversos métodos, tales como: expresión, destilación con vapor, extracción con solventes volátiles, enflorado, la extracción con fluidos supercríticos y hidrodestilación¹⁴.

R. communis, arbusto con amplia distribución mundial, presenta semillas que constan de un embrión pequeño con sus dos cotiledones delgados y el albumen, que es blando, compacto y aceitoso, que contiene cantidades aproximadas de éster palmítico (1.2%), esteárico (0.7%), araquídico (0.3%), hexadecenoico (0.2%), oleico (3.2%), linoleico (3.4%), linolenico (0.2%), ácido ricinoleico (89.4%) y ácidos dihidroxi esteárico, alcaloides como la ricinina y la toxoalbumina ricina^{15,16,17}; el ácido ricinoleico es ampliamente utilizado en la industria cosmetológica y la toxoalbumina ricina es uno de los tóxicos vegetales más potentes^{18,19,20}. Precisamente, un obstáculo importante para el cultivo generalizado de ricino es el contenido de la ricina en sus semillas²¹.

Se ha identificado trece componentes químicos de la semilla de *R. communis*, de los cuales, germacreno D, *trans*-cariofileno, bicilogermacreno y germacreno B son los compuestos mayoritarios²². Estos compuestos en forma de extractos o aceites esenciales demostraron eficacia como larvicidas, repelentes, inhibitorios de la emergencia del adulto y/o como disuasorio de la oviposición contra *Ae. aegypti*, *An. stephani*, *An. arabiensis*, *Cu. quinquefasciatus* y *An. Alboipictus*^{23,24,25,26,27,28}; sin embargo, estos resultados muestran mucha discordancia entre el mismo compuesto fitoquímico, sobre todo el aceite esencial. Las razones de esta variabilidad son las condiciones climáticas, condiciones estacionales y geográficas, la técnica, periodo de cosecha y la destilación, así como, la procedencia geográfica²⁹. Ello justifica evaluar diversas plantas de varias regiones biogeográficas de cada país para encontrar plantas con alto potencial en la eliminación de larvas y adultos de mosquitos, que formarían parte de las estrategias de control y manejo integrado de mosquito haciendo uso de los recursos naturales y, así, reducir el uso de insecticidas organosintéticos en el combate contra mosquitos comunes, tales como *Cu. quinquefasciatus*.

El presente informe contiene los resultados de una investigación que estuvo orientada a evaluar la actividad repelente de las concentraciones de 10,100 y 1000ppm de aceite del endospermo de semillas de *R. communis* contra la picadura de *Cu. Quinquefasciatus*, en condiciones experimentales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

En el estudio se utilizaron 750 hembras de *Cx. quinquefasciatus* obtenidas a partir de larvas colectadas en criaderos naturales del distrito de Virú, provincia de Virú, Región La Libertad.

El aceite de *R. communis* extraído a partir de 300g de endospermo de semillas colectadas del centro poblado San Roberto, Distrito de Chao, Provincia de Virú, Departamento La Libertad.

Obtención de las larvas de *Culex quinquefasciatus*

Se colectaron los estadios larvales I, II, III y IV de criaderos naturales del distrito de Virú; los cuales fueron transportados al Laboratorio de Artrópodos (LABARTP) de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), para su identificación taxonómica y crianza. Las larvas fueron instaladas en el insectario dentro de bandejas de porcelana de 35 x 35 cm² para 800 – 1000 larvas aproximadamente conteniendo 2L de agua libre de cloro y alimentadas con un producto balanceado estéril “purina”; las pupas fueron transferidas a una jaula de crianza con medidas de 30x30x30 cm (Anexo 1a y b)³².

Los adultos fueron alimentados con una dieta a base de solución azucarada hasta el quinto día de emergencia y mantenidas a una temperatura de 27 ± 2°C, y una humedad de 70-80. Las hembras fueron utilizadas para la realización de los respectivos bioensayos para determinar la actividad repelente a concentraciones de 10,100 y 1000ppm de aceite de *R. communis*.

Obtención del aceite del endospermo de semilla de *Ricinus communis*

Las semillas de *R. communis* fueron recolectadas en las zonas de cultivo del centro poblado San Roberto del distrito de Chao, provincia de Virú, Departamento de La Libertad (Anexo 2a), se seleccionaron manualmente, eligiéndose las semillas secas y ausentes de magulladura (Anexo 2b) que fueron identificadas en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (Anexo 3) y posteriormente fueron trasladados al Laboratorio de Ingeniería Química para la extracción del aceite.

Desactivación de la toxina y Secado de las semillas

Las semillas se sumergieron en agua destilada y a ebullición por un período de 30 minutos para desactivar la toxina, posteriormente, se sometieron a un secado al horno a una temperatura de 45 °C por un tiempo de 2 horas y luego fueron descascarillado, el cual se realizó de forma manual con la ayuda de un mortero.

Extracción del aceite

El proceso de extracción del aceite (Anexo 4) se realizó por medio del método Soxhlet en el cual se utilizó como solvente hexano, en una relación masa/volumen de 1:4 por un tiempo de 2 horas y una temperatura entre 85- 86 °C. Se utilizó 300g de endospermo de *R. communis*. Se utilizó un mortero para triturar los endospermos de *R. communis* luego se pesó 50g de muestra que se colocó dentro de bolsas de 10x8cm hechos de gasa los cuales posteriormente fueron colocados en la cámara al interior del extractor, se ensambló las partes del equipo: el balón, extractor Soxhlet, el adaptador y el refrigerante. Se procedió a calentar el balón conteniendo 200mL de hexano a una temperatura entre 85-86°C; el proceso es cíclico, por lo que se dejó calentado de 2 horas para extraer todos los lípidos de la muestra⁴⁴, pasado este tiempo se recuperó el solvente a medida que se condensa en la cámara de extracción. Se enfrió el balón conteniendo el aceite para luego colocarlo en la estufa durante una hora, con la finalidad que el hexano se evapore completamente y se obtengan el aceite, luego de una hora en la estufa se dejó enfriar a temperatura ambiente y se anotó el peso del balón conteniendo el aceite. Para este proceso se utilizó un balón de 250mL, se obtuvo el peso del balón vacío al inicio y final del proceso y se determinó el porcentaje de aceite. El aceite extraído se colocó en frascos ámbar y se refrigeró aproximadamente a 10°C hasta su ensayo.

El porcentaje de Aceite se halló por medio de la siguiente fórmula³³:

$$\% \text{ Aceite} = \frac{W_{bf} - W_{bi}}{W} \times 100$$

Donde:

W_{bi} = Peso del balón vacío (peso inicial).

W_{bf} = Peso del balón más la grasa (peso final).

W = Peso de la muestra

Preparación de las concentraciones de repelente (etanol)

Se realizaron diluciones con etanol (98.6%) a las concentraciones de 10,100 y 1000ppm.

Evaluación de la actividad repelente de *R. communis*

▪ Establecimiento de las unidades experimentales

Se utilizaron 750 hembras de *Cx. quinquefasciatus*, 8 días de edad sin alimentación sanguínea. Las cuales fueron colocadas en jaulas de 30x30x30 cm. Se estableció tres grupos experimentales (10,100 y 1000ppm); dos grupos controles: Positivo con DEET 20 % (C+) utilizando un repelente sintético marca PREMIER FORTE del Laboratorio FARMAINDUSTRIA S.A. con N° de lote 11205842 y un control Negativo con diluyente etanol al 98.6%(C-). Se utilizó 30 mL de aceite ensayo. Para cada concentración se utilizaron 30 especímenes, el ensayo se realizó en cinco repeticiones

▪ Determinación de la avidez

Se determinó la avidez de ingesta sanguínea colocando 30 hembras de *Cx. quinquefasciatus* en estado de inanición (3días) dentro de una de las jaulas de crianza que contenía a *G. gallus* “pollo” de aproximadamente 300 g de peso al cual se le dejó expuesta a la picadura las cabeza y cuello. Esta actividad se realizó entre las 18 horas hasta las 20 hs.

▪ Evaluación de la actividad repelente

Para la evaluación del efecto repelente contra la picadura de *Cx. quinquefasciatus* se utilizaron 30 mosquitos hembras en estado de inanición (3días) para cada concentración (10,100 y 1000ppm) y los grupos control (DEET 20 % (C+) y con diluyente etanol al 98.6%(C-), los cuales fueron instalados en jaulas de crianza. Como fuente alimenticia se utilizó un pollo a quien se le aplicó 0.1mL/10cm² de aceite esencial en el cuello y cabeza de cada una de las concentraciones a ser evaluadas. Después de secar en el aire durante 2 min, se le introdujo en la jaula que contenía a los 30 mosquitos hembra durante 5 minutos a intervalos de 30 min³⁴; del mismo modo se procedió con los controles. Cada ensayo se repitió cinco veces con mosquitos diferentes.

▪ Determinación del tiempo de protección y el porcentaje de repelencia

El tiempo de protección, corresponde, al tiempo que transcurre desde la aplicación del producto hasta que se posan³⁵. Se estimó el tiempo de protección del aceite por cada concentración determinando la concentración con efecto repelente satisfactorio (tiempo de protección >180min)¹⁰.

El porcentaje de repelencia fue determinado mediante la fórmula de porcentaje de repelencia³⁶.

$$\text{Repelencia} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde:

C= número de mosquitos atraídos en el control.

T= número de mosquitos atraídos hacia las aéreas tratadas.

Análisis de datos

Los resultados obtenidos de la actividad repelente del aceite de *R. communis* en *Cx. quinquefasciatus* fueron sometidos al análisis de varianza ANOVA y una prueba de comparación de medias TUKEY programa SPSS VERSION 20.0 con un grado de significancia de 0,05 a fin de determinar las diferencias entre las concentraciones y el grupo control.

RESULTADOS

En la Fig. 1 se observa la el tiempo de protección (min) a la picadura de *Cx. quinquefasciatus* encontrándose los más altos porcentajes de protección en las concentración de 100 y 1000ppm, las cuales alcanzaron hasta las 180 horas un 100% de repelencia no encontrándose diferencias significativas entre ambas (P<0.05) y entre el DEET al 20 (Fig. 2).

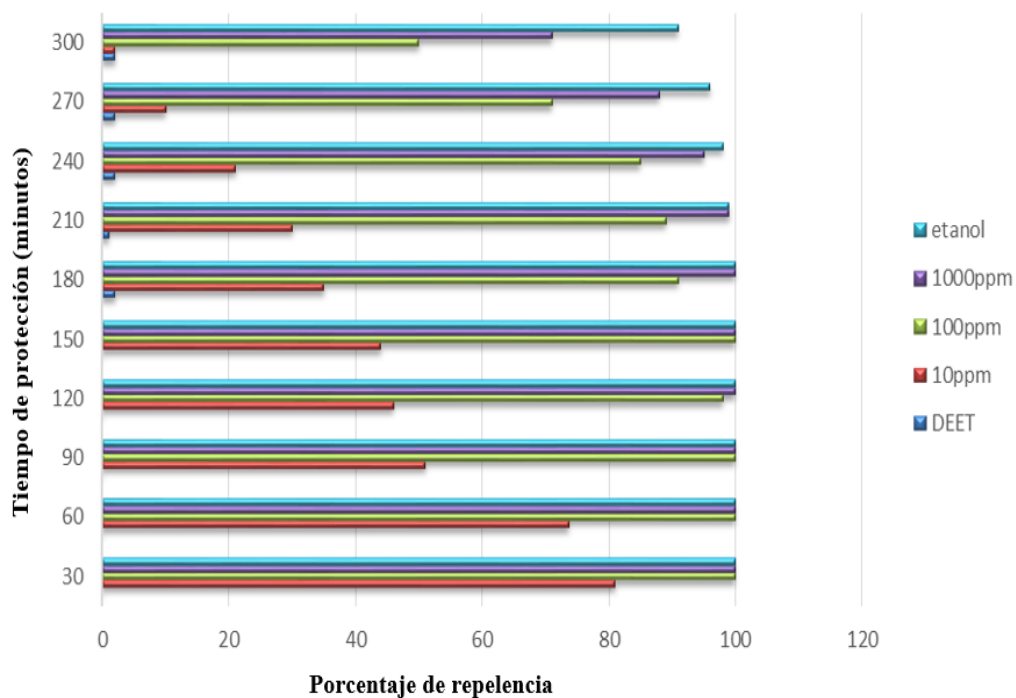
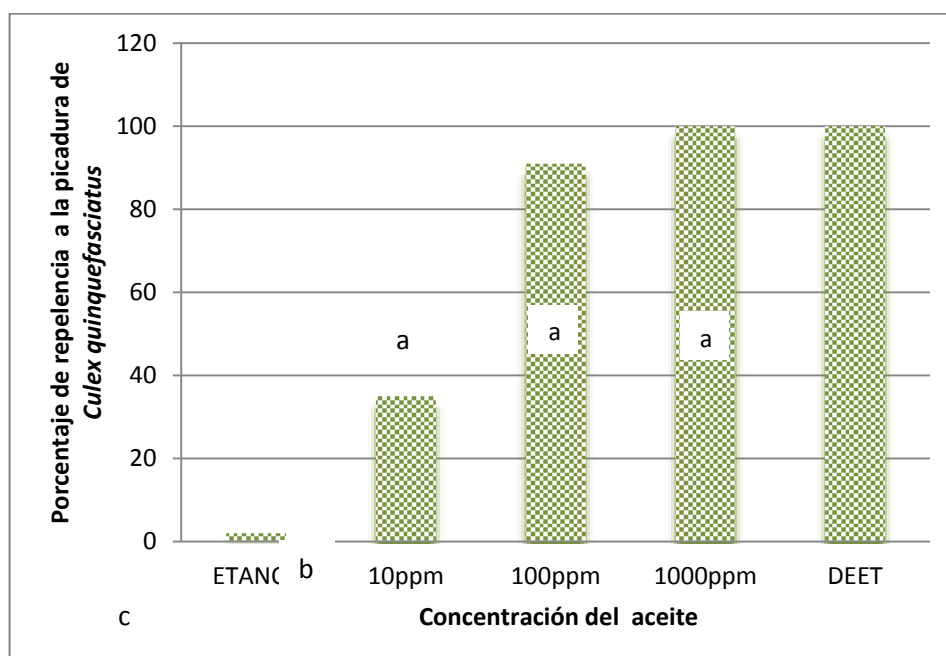


Fig. 1. Tiempo de protección (min) de las diferentes concentraciones (10,100 y 1000ppm) del aceite de *Ricinus communis* contra la picadura de *Culex quinquefasciatus* procedentes de criaderos naturales del distrito de Virú (provincia Virú).



Letras iguales: no diferencia significativa; Letras diferentes: diferencia significativa ($P < 0.05$)

Fig 2. Porcentaje de repelencia a las diferentes concentraciones (10,100 y 1000ppm) del aceite de *Ricinus communis* A. Juss contra la picadura de *Culex quinquefasciatus* procedentes de criaderos naturales del distrito de Virú (provincia Virú) hasta los 180 minutos de exposición.

DISCUSIÓN

El método de evaluar los efectos de repelencia en animales utilizado en el presente trabajo, ya está siendo reportada por otros investigadores como Tennyson et al³⁷, utilizaron ratones para evaluar extractos botánico contra *An. stephensi*, *Ae. aegypti* y *Cx. quinquefasciatus*; asimismo, Kiplang³⁷ y Mwangi³⁸, evaluaron la actividad repelente de *Ocimum basilicum*, *Azadirachta indica* y *Eucalyptus citriodora* utilizando como fuente de alimento conejos contra la picadura *Ae. aegypti*. El hábito ornitofílico de *Cx. quinquefasciatus* ha permitido usarlo como fuente de alimento a *Gallus gallus* en el presente trabajo.

Los resultados al evaluar la repelencia de 10,100 y 1000ppm del aceite del endospermo de *R. communis* colectados en el centro poblado San Roberto, Distrito de Chao, Provincia de Virú, Departamento La Libertad contra la picadura de *Cx. quinquefasciatus* procedente del distrito de Virú, Región La Libertad, se encontró que las concentraciones de 100 y 1000ppm al tiempo de protección de 180 minutos el porcentaje de repelencia fue superior al 90%; por lo tanto, a esas concentraciones y tiempo de protección el efecto repelente de este aceite es satisfactorio, estos resultados al ser sometidos al análisis estadístico (ANOVA) no mostraron diferencia significativa entre dichas concentraciones al igual que el DEET 20% utilizado como control positivo. Estos resultados son similares a los de Sai et al³⁹, quienes demostraron que *R. communis* tiene actividad repelente para un tiempo de protección de 4 horas contra mosquitos. Según lo propuesto por Nieves et al⁴⁰, para seleccionar una concentración que sea considerada como repelente, es necesario un tiempo de protección mayor o igual a los 180 minutos. Sin embargo existe una leve tendencia a la disminución de la actividad repelente con el aumento del tiempo de exposición, este hecho puede ser atribuido a la alta volatilidad de los metabolitos presentes en los aceites.

Los resultados obtenidos en diversos estudios de la actividad insecticida de diferentes partes de la planta de *R. communis* están respaldados por diversas publicaciones como el obtenido por Collavino et al¹⁶ que obtuvo un molido a partir de hojas y evaluó su actividad insecticida en *Plodia interpunctella* a tres concentraciones de las cuales la concentración del 15% logro la mortalidad de todas las larvas y actuó en un tiempo adecuado cuando la población de la plaga fue moderada. Ramos et al⁴¹ determinó la actividad insecticida e insectistática contra *Spodoptera frugiperda*, con mejor tratamiento para el extractos acuosos de semilla seguido por el de hoja a nivel de la concentración de viabilidad larval cincuenta (CVL50) con 7.40×10^3 mg/mL⁻¹ y 2.55×10^3 mg/mL⁻¹ respectivamente. Según Pacheco et al⁴² el efecto insecticida del extracto de *R. communis* no se atribuye únicamente a un compuesto activo si no a una mezcla de compuestos y a la proporción en que estos se encuentran en el extracto, o también está directamente relacionado con el origen del material vegetal o variedad utilizada así como las condiciones climáticas y edáficas bajo las cuales se desarrollan las plantas.

Estudios realizados para determinar la actividad repelente de *R. communis* han sido reportados contra *Apion* sp “picudo del ejote”, *Conotrachelus* sp “picudo de la guayaba”, utilizando macerado acuoso de toda la planta al 10% y un producto comercial VIORAM (aceite de higuera)44; asimismo se obtuvo repelencia contra *Acromyrmex lundii* “hormiga negra común” a partir de extractos acetónicos y acuosos¹⁵. Sus propiedades repelente contra insectos también han sido reportados por Pacheco et al⁴² quienes evaluaron la repelencia de extractos hidroetanólicos de las hojas y semillas de *R. communis* contra *Scyphophorus acupunctatus* obteniendo mayor repelencia en las hojas.

Se han identificado moléculas repelentes en la planta de *R. communis* como flavonoides: quercetina, quercitrina y rutina en extracto hidroetanólico de las hojas reportados por Pacheco et al⁴²; a su vez la quercetina asilado de extractos acuosos de hojas tiene efecto insecticida, ovicida y disuasor de la ovoposición frente a *Callosobruchus chinensis* L.”gorgojo chino del frijol” reportado por Upasani et al⁴³

Según los resultados se obtuvo actividad repelente del aceite extraído del endospermo de *R. communis*, lo cual indica que presenta sustancias químicas que producen cierto rechazo frente a los mosquito de *Cx. quinquefasciatus*, esto se debería a la presencia de moléculas como el ácido linoleico, oleico contenidos en el aceite⁴⁴ y se han indicado en la muerte y repelencia de cucarachas⁴⁵; asimismo las lectinas que se han detectado principalmente en los cotiledones y endospermo de *R. communis* constituyendo entre el 2 y 10% del total de sus proteínas según Bencomo et al⁴⁶ y Álvarez et al⁴⁷; todos estos moléculas son capaces de irritar el sentido del olfato y perder la orientación hacia

su huésped, lo cual indica que esto estaría sucediendo con *Cx. quinquefasciatus*, sin embargo, son necesarios futuros estudios para identificar su papel y los diversos mecanismos fisiológicos con el insecto involucrados en la atracción hacia el hospedador.

La repelencia producida por el DEET es debido al bloqueo de receptores del ácido láctico lo que produce la interferencia del vuelo de los mosquitos lo que resulta en la pérdida del hospedero. El ácido láctico está presente en el olor y sudor de animales de sangre caliente, que es atractivo para las hembras de *Ae aegypti*; en estudio de comportamiento del ácido láctico este es esencial para las picaduras de este mosquito, pero por si solo es ligeramente atractivo para este, lo que indica un sinergismo con otros componentes del olor humano⁴⁸.

Según Patel et al⁴⁹ los repelentes además de ser usados en su estado natural han sido muy comúnmente incorporados en lociones, cremas, pastas u otras preparaciones, ya sea para facilitar su aplicación o para garantizar un efecto más duradero. Característica que permitiría enfocar el uso del aceite de *R. communis* por sus propiedades cosméticas al contener en su composición el ácido ricinoleico, importante materia prima industrial para numerosos productos por sus propiedades cicatrizante, antiirritante, antiinflamatoria, hidratantes, antioxidantes, antibacteriano y antifúngico.

CONCLUSIÓN

- El aceite del endospermo de *Ricinus communis* tiene actividad repelente en las concentraciones de 10,100 y 1000ppm.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Brito AC, Fontes G, Rocha EMM, Rocha DAM, Regis L. Development of *Dirofilaria immitis* (Leidy) in *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say) from Maceió, Alagoas, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94(4):575-576.
2. Ministerio de Salud Perú. 1989. Programa Nacional de Zoonosis. Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión. 78-84 pp.
3. Moncada L, Salazar M, López M. Alergia en el humano inducida por la saliva de insectos de la familia Culicidae. Rev Fac Med 2011(59):2
4. Salazar M, Moncada L. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. Biomédica 2004;24:385-92
5. Forattini O, Kakitani I, La Corte Dos Santos R, Kobayashi K, Ueno H, Fernández Z. Potencial sinantrópico de mosquitos *Kerteszia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. Rev Saúde Pública 2000; 34: 565-9.
6. García O, Londoño Y. Adaptación de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) a tres diferentes pisos térmicos bajo condiciones de laboratorio. Trabajo de Grado como requisito parcial para optar al título de Médicos Veterinarios. Universidad de la Salle Facultad de Medicina Veterinaria Bogotá 2007.
7. Alvarado B. Determinación de la actividad larvicida de seis extractos y aceites de plantas del género *Lippia* nativas de Guatemala, contra *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* vectores transmisores del dengue y el paludismo respectivamente. Tesis Doctoral Universidad de San Carlos de Guatemala 2011.
8. Blackwell A, Stuart E, Estambale BA. The repellent and antifeedant activity of oil of *Myrica gale* oil against *Aedes aegypti* mosquitoes and its enhancement by the addition of salicylic acid. The Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh 2003; 33 (3): 209-214.
9. Choochote W, Chaitong U, Kamsuk K, Jitpakdi A, Tippawangkosol P, Tuetun B, Champakaew D, Pitasawat B. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. Fitoterapia 2007; 78 (5):359-364.
10. Fradin MS, Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. N Engl J Med 2002; 347:13-18.
11. Isman MB. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology 2006; 51:45-66
12. Moore S, Darling S, Sihuíncha M, Padilla N, Devine GA. A low-cost repellent for malaria vectors in the Americas: results of two field trials in Guatemala and Peru. Malaria Journal 2007, 6:101.
13. Schmutterer, H. Properties and Potential of Natural Pesticides from the Neem Tree, *Azadirachta indica*. Ann Rev Entomol, Palo Alto. v. 35, p. 271-297. 1990.
14. Leyva M, Tiomno O, Tacoronte J, Marquetti M, Montada D. Essential Plant Oils and Insecticidal Activity in *Culex quinquefasciatus*, Insecticides - Pest Engineering, Dr. Farzana Perveen (Ed.), ISBN: 978-953-307-895-3, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/insecticides-pest-engineering/essential-plant-oils-and-insecticidal-activity-inculex-quinquefasciatus2012>.

15. Caffarini P, Carrizo P, Pelicano A, Roggero P, Pacheco J. Efecto de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* (ricino), *Melia azedarach*(paraíso) y *Trichillia glauca*(trichillia), sobre la hormiga negra común(*Acromyrmex lundii*). IDESIA. 2008; 26(1):59-64.
16. Collavino M, Pelicano A, Giménez RA. Actividad insecticida de *Ricinus communis* L. sobre *Plodia interpunctella* HBN.(Lepidoptera:Phycitinae). Rev FCA UN Cuyo 2006;38(1):3-18.
17. Pharmacy College, Itaura, Chandeshwar, Azamgarh-276128, Uttar Pradesh. *Ricinus communis* LINN: A Phytopharmacological Review. Int J Pharm Pharm Sci. 2012; 4(4):25-29.
18. Goytia-Jimenez MA, Gallegos-Goytia CH, Nuñez-Colin CA. Relación entre variables climáticas con la morfología y contenido de aceite de semillas de higuera (*Ricinus communis* L.) de Chiapas. Revista chapingo serie ciencias y del ambiente.2011; 17(1):41-48.
19. Zamora F, Duran N, Medina M, Torres D, Acosta Y, Moreno R. Et al. Comportamiento agronómico de cultivos de tártago (*Ricinus communis* L.) en el sector Cuabana, Municipio Falcón, estado Falcón, Venezuela. Multiciencias 2011; 11(2):129-135.
20. Jamshed Iqbal, Sumera Zaib, Umar Farooq, Afsar Khan, Irum Bibi, y Saba Suleman. Antioxidant, Antimicrobial, and Free Radical Scavenging Potential of Aerial Parts of *Periploca aphylla* and *Ricinus communis*. ISRN Pharmacology 2012:6.
21. Mirarchi, ferdinandoL. CBRNE- Ricin, e Medicine bioterrorism and warfare center, hamot medical center. agricultura research 2004; 49:44-48.
22. Leyva M, Castex M, Montada D, Quintana F, Lezcano D, Marquetti M, et al. Actividad repelente de formulaciones del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.)S.T. Blake (Myrtales: Myrtaceae) en mosquitos. Anales de Biología.2012; 34:47-56.
23. Krishnappa K, Elumalai K, Dhanasekaran S y Gokulakrishnan J. Larvicidal and repellent properties of *Adansonia digitata* against medically important human malarial vector mosquito *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). J Vector Borne Dis 2012; 49: 86–90.
24. Abdalla M. Elimam, Khitma H. Elmalikb y Faysal S. Ali. Larvicidal, adult emergence inhibition and oviposition deterrent effects of foliage extract from *Ricinus communis* L. against *Anopheles arabiensis* and *Culex quinquefasciatus* in Sudan. Tropical Biomedicine 2009; 26(2):130–139.
25. Kweka EJ, Munga S, Mahande A M, Msangi S, Mazigo HD, Adrias AQ etal. Protective efficacy of menthol propylene glycol carbonate compared to N,N-diethyl-methylbenzamide against mosquito bites in Northern Tanzania. Parasites & Vectors 2012; 5:189.
26. Sumithra1 M y Vasugi N Raja. Mosquito repellency finishes in blended denim fabrics. Sumithra & Raja 2012; (4): 1614-1616.
27. Satti AA, Eltayeb AEE y Mahmoud AK. Preliminary studies on phytochemical constituents and mosquito larvicidal activities of *Ricinus communis* L. IJBPAS 2013; 2(3): 538-551.
28. Shyamapada M. Exploration of larvicidal and adult emergence inhibition activities of *Ricinus communis* seed extract against three potential mosquito vectors in Kolkata, India. Asian Pac J of Trop Med 2010;3(8):605-609.
29. Panizzi L, Flamini G, Cioni PL and Morelli I. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. J. Ethnopharmacol1993; 39(3): 167-170.
30. Desilva D, Hemingway J, Ramson H, Vaughan A. Resistance to insecticides in Insect vectors of disease: est-a3, a novel amplified esterase associated with amplified est-b1 from insecticide resistant strains of the mosquito *Culex quinquefasciatus*. Exp Parasitol 1997;87: 253-9.
31. Kumar S, Wahab N, Warikoo R. Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. Asian Pac J Trop Biomed 2011; 1(2): 85-88.
32. Pérez O, Rodríguez J, Bisset J, Leyva M, Díaz M et al. Manual de indicaciones Técnicas para insectarios. Edit. Ciencias Médicas- La Habana 2004.
33. Perea M. Efecto del secado por lecho fluidizado en la estructura de semillas de *Ricinus communis* y en la extracción de su aceite como fuente alternativa de biocombustibles.[Tesis Doctoral]. México D F Inst Politécnico Nacional, Escuela de Ciencias Biológicas Sección de estudios de Posgrado e Investigación. 2011.
34. Mark S, Fradin M, Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. N Engl J Med. 2002; 347(1).
35. Schreck C, Govern Mc. Repellents and other personal protection strategies against *Aedes albopictus*. J Am Mosq Control Assoc 1989; 5: 247-252.
36. Innocent E, Cosam CJ, Nicholas KG, Mayunga H.H N y Hassanali A. Constituents of the essential oil of *Suregada zanzibariensis* leaves are repellent to the mosquito, *Anopheles gambiae*. J Insect Science 2010; 10(57):1-6.
37. Tennyson S, Ravindran J, Eapen A, William J. Repellent activity of *Ageratum houstonianum* Mill. (Asteraceae) leaf extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Asian Pac J Trop Dis 2012; 2(6): 478-480.

38. Kiplang'at K, Mwangi R. Repellent Activities of *Ocimum basilicum*, *Azadirachta indica* and *Eucalyptus citriodora* extracts on Rabbit Skin against *Aedes aegypti*. Journal of Entomology and Zoology Studies 2013; 1 (5): 84-91.
39. Sai B, Saravanan T, Ragavi M, Kviya G, Anushree A, Arul D et al. Screening of Local Plants for Their Repellent Activity against Mosquitoes (Diptera: Culicidae). J Mosquito Res 2013; 3(14): 97-104.
40. Nieves E, Fernández J, Lias J, Rondón M, Briceño B. Actividad repelente de aceites esenciales contra las picaduras de *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). Int J Biol Trop 2010; 58 (4): 1549-1560.
41. Ramos M, Pérez S, Zavala M, Rodríguez C, Mahuku G. Actividad de extractos acuosos de *Ricinus communis* y de *Azadirachta indica* contra *Spodoptera frugiperda*. Centro Internacional del Mejoramiento del Maíz y del Trigo. Lima. Perú.
42. Pacheco-Sánchez C, Villa-Ayala P, Montes-Belmont R, Figueroa-Brito R, Jiménez-Pérez A et al. Repellency of hydroethanolic extracts of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. Florida Entomologist. 2012;95(3):706-710.
43. Upasani M, Kotkar M, Mendki S y Maheshwari L. Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids Pest Man Sci 2003;59: 1349-1354.
44. Pacheco C. Efecto del extracto hidroetanólico de Higuierilla *Ricinus communis* L. sobre el adulto del picudo del agave *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal.[Tesis Maestría]. Yautepec, Inst politécnico Nacional, centro de desarrollo de productos bióticos 2009.
45. Rollo D, Borden H, Casey B. Endogenously produced repellent from American cockroach (Blattaria: Blattidae): function in death recognition. Environ Entomol 1995; 24(1):116-124.
46. Bencomo J, Gómez P, Basonta P. Lectina: propiedades biológicas, aplicaciones y perspectivas. Hematol Inmunol Hemoter 1985; 2: 130-41.
47. Álvarez D, De la Fuente L, Villarrubia O, Mendéz De San Pedro C Ortiz E. Actividad biológica de *Ricinus communis* sobre mosca doméstica *Musca domestica*. Med Trop 1996; 48(3):1561-3054.
48. Geier M, Sass H y Boeckh J. A search for components in human body odour that attract females of *Aedes aegypti* In: Olfaction in Mosquito-Host Interactions. Ciba Foundation Symposium 1996:132-148.
49. Patel K, Gupta A, Oswal J. A review on: Mosquito repellent methods. IJPCBS 2012; 2(3):310-317.



Producción de semilla de *Pterophyllum scalare* "pez ángel" en sistema cerrado, Trujillo-Perú

Seed production of *Pterophyllum scalare* "angelfish" in closed system, Trujillo-Peru

Alina Zafra Trelles y Kriss Vela Alva

¹Departamento Académico de Pesquería. ²Escuela AP de Pesquería. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. azafra@unitru.edu.pe

RESUMEN

Se investigó la producción de semilla de *Pterophyllum scalare* en sistema cerrado de julio a diciembre 2014, realizado en el laboratorio de Maricultura de la Universidad Nacional de Trujillo. Se experimentó con tres parejas reproductoras de escalares, las cuales se acondicionaron en acuarios de 80 y 140 L para obtener las puestas y el número de huevos hasta el desarrollo de larva. La semilla fue puesta en tanques de 0,5m³ para determinar su porcentaje y realizar la crianza considerando la mortalidad. La frecuencia reproductiva por pareja de escalares varió entre 8 y 13 puestas y el rango del número de huevos por puesta fue de 450 y 2718. El aporte de semilla de *P. scalare* fue del 30 % y se logró a los 15 días con una sobrevivencia en la crianza del 100% a una temperatura promedio de 26,8°C, pH de 7,64 y oxígeno de 5 mgL⁻¹. Se concluye que la producción de semilla promedio de *P. scalare* fue de 3,49 millares por pareja reproductiva en sistema cerrado.

Palabras clave: Producción de semilla, *Pterophyllum scalare*, reproducción, Acuicultura Ornamental

ABSTRACT

Seed production of *Pterophyllum scalare* in closed system from July to December 2014, conducted in the laboratory of Mariculture of the National University of Trujillo was investigated. It experimented with three breeding pairs of scalars, which were conditioned in aquariums 80 and 140 L for the sunsets and the number of eggs to developing larva. The seed was placed in tanks 0,5m³ to determine their percentage and perform considering raising mortality. The breeding pair of scalar frequency varied between 8 and 13 sunsets and the range of the number of eggs per clutch was 450 and 2718. The contribution of seed of *P. scalare* was 30% and was achieved after 15 days with a survival in raising 100% to an average temperature of 26,8°C, pH of 7,64 and 5 mgL⁻¹ oxygen. It is concluded that *P. scalare* average seed production was 3.49 thousand per breeding pair in closed system.

Keywords: Seed production, *Pterophyllum scalare*, angelfish, reproduction, Ornamental Aquaculture.

INTRODUCCIÓN

Una de las especies nativas más representativas en la Acuicultura Ornamental originaria de la Amazonía peruana es *Pterophyllum scalare* "pez angel" o "escalar"¹. Esta especie pertenece a la familia Cichlidae y que se caracteriza por habitar aguas con poco movimiento, abundante vegetación y que existen por lo menos tres especies las cuales son tropicales y sobreviven al cautiverio^{2,3}.

Otra de las características de los cíclidos es que son territorialistas y agresivos, como los apistos, cíclido Joya, cíclidos boca de fuego, cíclidos convicto, Ram, peces ángeles, Kribens y Discos⁴. Las investigaciones de manejo en estos cíclidos nativos como *A. ocellaris*, *Cichla ocellaris*, *Cichlasoma festivum* y *Pterophyllum scalare* han permitido la acuicultura comercial de tipo ornamental sin embargo aún se prefiere introducir cíclidos africanos como *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus*, *O. niloticus*, *O. urolepis*, *O. hornorum*, *Tilapia rendalli*, así como híbridos de tilapia roja⁵.

En México y Colombia, Agudelo⁶ y Mioulane⁷ señalan que las experimentaciones en la crianza de los escalares, se caracterizan porque los parámetros fisicoquímicos se deben mantener a temperaturas de 25 a 31 °C, pH de 6,0 a 7,5 y oxígeno de 3 a 5 mgL⁻¹. Además el agua necesita una dureza con rangos de 80 a 100 mgL⁻¹ con periodos de fotoperiodo de 12 horas^{1,8,9}.

En cuanto a la alimentación de *P. scalare* se destaca la preferencia por alimento vivo como larvas de mosco *Culex*, *quinquefasciatus*, *Artemia salina*, *Tubifex tubifex*, *Daphnia pulex*, *Brachionus plicatilis* y *Culex pipiens* sin embargo mantener altas producciones de los peces ángeles requiere de alimento artificial para incrementar su crecimiento y supervivencia^{8,10,11,12}.

El alimento es indispensable para el crecimiento y la reproducción, Rosas¹³ reporta que *P. scalare* alimentado con *Daphnia magna* logra pesos de 0,8 g y longitudes de 43 mm, mientras que con alimento artificial en escamas su crecimiento en peso y talla fue de 0,57 g y 35 mm en 85 días de crianza indicando además que la supervivencia fue del 97 % en ambos tratamientos.

Otro de los aspectos importantes es la reproducción de los escalares, sin embargo debido a al valor económico de estos, la información de las características y manejo de reproductores fue limitada. Mioulane⁷ reporta que la reproducción depende de la alimentación, y que generalmente las puestas fluctúan entre 300 a 800 huevos con porcentajes de eclosión que varían entre 65 y 85 %^{14,6,15,9}.

En Estados Unidos, se comercializa diferentes variedades (rayada, marmoleada, fantasma, etc.) de *P. scalare*, los precios fluctúan entre U. S. \$ 2 a 8 (S/. 6 a 24) para tallas entre 20 y 25 mm y el costo por una pareja de reproductores fluctúa entre U.S. \$125 a 175 (S/.375 a 525)⁸.

Actualmente las investigaciones en peces ornamentales en países asiáticos como Singapur y Taiwan están orientadas a obtener peces transgénicos fluorescentes¹⁶, las experimentaciones se han realizado en peces amazónicos ornamentales, como es el caso de *Gymnocorymbus ternetzi* "monjita" (primer pez ornamental fluorescente), y en Taiwan experimentaron con *Amatitlania nigrofasciata* y *Pterophyllum scalare* "pez angel" indicando además que estas especies pueden reproducirse e introducir este carácter en la progenie. La investigación tuvo por objetivo producir semilla de *Pterophyllum scalare* "pez angel" en sistema cerrado, Trujillo-Perú.

MATERIAL Y MÉTODOS

La producción de semilla de *P. scalare* "pez angel", se realizó en sistema cerrado de julio a diciembre 2014 en el laboratorio de Maricultura de la Universidad Nacional de Trujillo. Se acondicionaron acuarios de 80 y 140 L con agua filtrada y reposada con líneas de aire, termostatos de 200 W y filtros mecanico-biológicos. Luego se aclimataron tres parejas de adultos maduros sexualmente a los cuales se les pesó e inicialmente se colocaron dos parejas reproductoras en el acuario de mayor volumen.

Se registraron en fichas los parámetros fisicoquímicos del agua: temperatura con un termómetro digital Taylor, pH con un pHmetro digital P-test 1 y oxígeno kit cualitativo Sera por semana y durante los eventos reproductivos. El manejo y control de los sistemas de producción para los escalares fue diario registrando la mortalidad de reproductores.

A los reproductores se les brindó alimento artificial Nutrafin Basic de 46 % de proteína con una frecuencia alimenticia de tres veces al día (8:00, 12:00 y 16:00 horas) con una tasa de alimentación del 2 %, además de alimento vivo (*Daphnia magna* y *Tubifex tubifex*).

En la reproducción de los escalares se colocó una placa de puesta de PVC de 30 x12cm para que sirva de sustrato de fijación a los huevos luego se registró el número de puestas por pareja reproductiva y se contó el número de huevos por puesta con un contador mecánico además se obtuvieron el promedio de estos por pareja y periodo reproductivo.

El desarrollo de los huevos hasta larva se realizó en baldes de 10L y acuarios de 80 L con filtros y aireación permanente. Las larvas de los escalares fueron alimentadas ad libitum con nauplios de artemia para lo cual se eclosionaba en forma diaria cistos de artemia con agua de 35 ppt y aireación constante.

Después de alcanzar el desarrollo a semilla por tener la forma y coloración de los adultos se les colocó en Tanques de 0,5m³ acondicionados con termostatos, filtros y aireación y se les alimentó con artemia y Nutrafin Basic en escamas con una frecuencia alimenticia de tres veces al día y se registró el porcentaje y número de semilla producida por las parejas de reproductores además se realizó el monitoreo y control diario considerando la mortalidad en esta etapa de crianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tres parejas de reproductores de *P. scalare* de un año de edad y pesos entre 9 y 12 g estaban maduras sexualmente y se caracterizaron como Pareja 1: macho negro y hembra negra, Pareja 2: macho Koi y hembra marmoleada y Pareja 3: macho Koi chocolate con hembra Koi (Fig.1).

Al poner dos parejas reproductoras en el acuario de 140 L se evidenció el fuerte territorialismo de los machos alfa desarrollando una conducta agresiva reportada también por Estrada⁴. Lo que ocasionó mortalidad de dos reproductores y se tuvo que recomponer las parejas reproductoras. La pareja 1^a: macho Koi chocolate y hembra marmoleada (fig.2) y la pareja a 2^a: macho plateado con hembra negra.



Fig. 1. Parejas de reproductores de *Pterophyllum scalare* después de la aclimatación de 30 minutos en acuarios de 80 y 140 L.

Las características del sistema cerrado para los reproductores de los escalares permaneció con volúmenes constantes de 80 y 140 L con sifoneo de restos de excretas y alimento y en cuanto a los parámetros fisicoquímicos fueron controlados y se mantuvieron a temperatura promedio de 26,8 °C, pH de 7,64 y 5 mgL⁻¹, coincidiendo con los rangos que reportan Agudelo⁶ y Mioulane⁷ en la crianza de esta especie.

La reproducción de la pareja 1^a se realizó de julio a noviembre con 13 puestas en rangos de 8 a 19 días, el rango del número de huevos fue de 450 a 2122 con un total de 13 947 huevos mientras que la pareja 2^a puso ocho puestas entre agosto y octubre con un rango de huevos entre 450 y 2718 con un total de 9 349 huevos y un promedio 1073 y 1169 huevos por puesta para las parejas 1^a y 2^a respectivamente (Fig.3, Tabla 1). Esto confirmó que el número de huevos de los escalares en este experimento fue superior al reportado por otros investigadores^{14,6,7,15,9}. En la reproducción de los escalares fue fundamental la selección de los reproductores, así como la temperatura y el alimento que favorecieron la puesta y el número de huevos.

En la etapa de larvas, los escalares se alimentaron de 4 a 5 nauplios de artemia con un comportamiento depredador activo y soportando alta densidad (fig.4), esto permitió que el desarrollo a semilla se obtuviera a los 15 días, y que la mortalidad de huevo a larva que fue exponencial con un 70 % disminuyera en la etapa de semilla.

En cuanto a la semilla de *P. scalare*, se determinó un 30 % como sobrevivencia desde la etapa de huevo a larva. En la pareja de escalares 1^a la semilla fluctuó entre 135 y 637 con un total de 4184 individuos producidos de julio a noviembre mientras que en la pareja 2^a varió entre 135 y 815 con un total de 2805 alevinos en el periodo reproductivo de agosto a octubre (Tabla 1).



Fig. 2. Pareja reproductora 1^a con macho Koi chocolate y hembra marmoleada la cual tuvo mayor frecuencia de puestas, la hembra marmoleada aceptó a otro reproductor.



Fig.3. Puesta de huevos de *P. scalare* "escalar" en una placa de PVC



Fig.4. Larvas de *P. scalare* alimentadas ad libitum con nauplios de artemia.

Tabla 1. Frecuencia de puestas, número de huevos y porcentaje de semilla de *Pterophyllum scalare* en el 2014.

Pareja 1ª				Pareja 2ª			
Nº	Puesta	N º huevos	Semilla	Nº	Puesta	N º huevos	Semilla
1.		875	263	1.		464	139
2.	julio	450	135	2.	agosto	1329	399
3.		1232	370	3.		1500	450
4.	agosto	2122	637	4.		1349	405
5.		1651	495	5.	setiembre	450	135
6.		1087	326	6.		919	276
7.	setiembre	1248	374	7.		2718	815
8.		859	258	8.	octubre	620	186
9.		974	292	Total		9349	2805
10.		657	197	prom		1169	
11.	octubre	774	232				
12.		1328	398				
13.	noviembre	690	207				
Total		13947	4184				
Prom		1073					
Puesta							
Total de semilla por pareja 1ª y 2ª						6989	
Semilla promedio por pareja de reproductores						3494	

La producción de semilla de los escalares presentó etapas críticas de huevo a larva, sin embargo cuando se transformaron a semilla presentaron mayor resistencia y no se tuvo mortalidad. La forma y la coloración de los escalares son producto del cruce de las variedades obteniendo mayormente tonalidades oscuras y marmoleadas (fig.5). De la calidad de la semilla dependerá el costo que como indica Swam⁸ los juveniles y adultos presentan precios diferenciables por tiempo de crianza y función. Su alto potencial biótico de los escalares lo privilegian en ser una especie ornamental de tipo comercial.

La producción de escalares se convierte en una oportunidad no solo de tipo comercial, sino que además brinda las opciones de admirar, mantener y conservar estos cichlidos nativos extraordinarios que tiene nuestra Amazonía peruana.

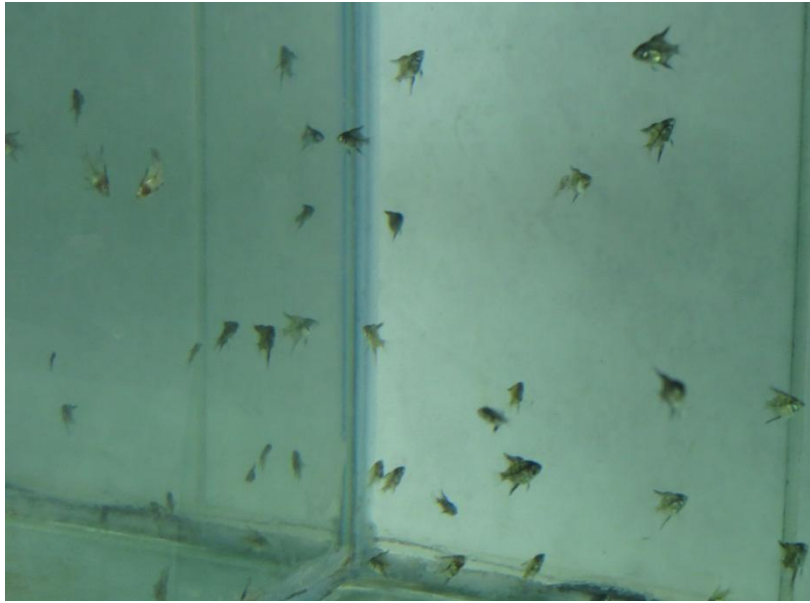


Fig.5. El desarrollo a semilla de *P. scalare* con forma y coloración al igual que en los adultos se caracterizó por el desarrollo de las aletas dorsal y anal.

En los tanques de crianza, la semilla de *P. scalare* se mantuvo por dos meses con alimentación mixta, y sin mortalidad (fig. 6), este elevado porcentaje de supervivencia coincide con las investigaciones de Soriano y Hernández¹⁰ y García & Gómez¹⁷ quienes alimentando con alimento vivo e inerte lograron supervivencias de 88 y 97 %.

En esta etapa de crianza se podría seleccionar el stock de juveniles o reproductores considerando la variedad, tiempo y gastos en la alimentación.



Fig.6. Semilla de *P. scalare* criadas en tanques de 0,5 m³ en sistema cerrado

CONCLUSIÓN

- La producción de semilla promedio de *P. scalare* fue de 3,49 millares por pareja reproductiva en sistema cerrado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Norman J. A history of fishes. 3ra ed. London: Ernest been Limited. 1975.
2. Coleman R, Galvani A. Egg size determines Offspring size in Neotropical Cichlid fishes (Teleostei: Cichlidae). *Copeia* 1998; 1: 209-213.
3. Dill W, Cordone A. History and status of introduced Fishes in California, 1871-1996. State of California The Resources Agency Department of Fish and Game. *Fish Bull*; 1997; 178: 1-415.
4. Estrada M. Cuidados y manejo de un acuario de agua dulce. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 2002.
5. Álvarez R, Salazar P. Nuevos ciclidos (Pisces:Cichlidae) introducidos a Colombia. *Dahlia* 2001; 4: 55-60.
6. Agudelo D. Establecimiento de un centro de reproducción de *Pterophyllum scalare* (pez ángel o escalar). Colombia. *Revista LASALLISTA* 2005; 2(2): 26-30.
7. Mioulane P. Tout sur L'aquarium. Les guides pratiques. Tout pousse a aller chez Gamm vert. Ed. Protea. 2010.
8. Swam L. Reproduction of angelfish *Pterophyllum scalare*. Aquaculture Extension. Illinois-Indiana Sea Grant Program. Sea Grant #IL-IN-SG-FS--936. Purdue University. USA. 1994.
9. Korzelecka A, Szalast Z, Pawlos D, Smaruj I, et al. Early ontogenesis of the angelfish, *Pterophyllum scalare* Schultze, 1823 (Cichlidae). *Sociedad Brasileira de Ictiología. Neotropical Ichthyology* 2012; 10(3): 576-576.
10. Soriano M, Hernández D. Tasa de crecimiento del pez angel *Pterophyllum scalare* (Perciformes:Cichlidae) en condiciones de laboratorio. Laboratorio de Acuicultura CIB. Universidad Autónoma de Morelos. México *CIB* 2002; 12(2):1-33.
11. Olascoaga T, Luna J. Aprovechamiento de alimento vivo *Culex quinquefasciatus* en la dieta del pez cebrá *Brachidanio rerio* (Pisces: Cyprinidae) con énfasis en la reproducción. *Revista AquaTIC* 2005; 22: 20-25.
12. Aqua-Cuba. El Acuarista Cubano. *Bol. Informativo* 2007; 13: 1-11.
13. Rosas, E. Efecto de dos dietas en el crecimiento y sobrevivencia en juveniles de *Pterophyllum scalare*. Tesis de Biólogo Pesquero. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2012.
14. Morales I, Olvera H. Frecuencia de desove de diferentes variedades del pez ángel *Pterophyllum scalare* (Pisces: Cichlidae). Unidad de Apoyo Académico Acuario, Biología, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 2000.
15. Farahi A, Kasiri D, Sudagar M, Talebi A. The effect of Ascorbic Acid in Hatching Performance and Tolerance against Environmental Stressor (High Temperature) by Immersion of Angel Fish (*Pterophyllum scalare*, Schultze,1823) Fertilized Eggs. *J Fish and Marine Sciences*. 2011; 3(2): 121-125.
16. Scotto C. Peces transgénicos fluorescentes en el Perú: Bioseguridad y análisis de riesgos pendientes. *The Biologist* 2010; 8(2): 235-243.
17. García M, Gómez H. Growth of angel fish *Pterophyllum scalare* (Gunther, 1862) juveniles fed inert diets. *Avan Investig Agropec AIA* 2005; 9(3): 49-60.



Tallas de comercialización y porcentaje de juveniles de la pesca artesanal en los mercados de los distritos El Porvenir y La Esperanza (Trujillo, Perú). 2014.

Sizes marketing and juvenile percentages of artisanal fisheri in the Markets from El Porvenir and La Esperanza Districts (Trujillo, Peru). 2014.

Bilmia Veneros Urbina, Elena Icochea Barbaran y Geiner Bopp Vidal

Departamento de Pesquería. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se determinó la talla media de comercialización y el porcentaje de juveniles de los principales peces procedentes de la pesca artesanal y comercializada en los mercados de abasto del distrito El Porvenir y La Esperanza (Trujillo, Perú), los mercados en los distritos fueron seleccionados tomando como criterios el tamaño y la mayor concurrencia de los habitantes. Las especies muestreadas fueron bonito, caballa, lisa, cachema, suco, pejerrey, merluza, jurel y lorna. La talla media de comercialización de cinco especies estuvo debajo de la talla mínima de captura legal establecida y cuatro sobre ésta talla. El porcentaje de juveniles comercializados esta sobre el mínimo legal establecido en ocho especies. Se concluye que existe un alto porcentaje de comercialización de ejemplares juveniles y que la talla media de comercialización se encuentra debajo de la talla mínima legal establecida por el Ministerio de la Producción, lo que nos indica que existe un riesgo de la pesquería de estos recursos.

Palabras clave: Talla, comercialización, juveniles, pesca artesanal, Trujillo (Perú).

ABSTRACT

The average market size and the percentage of juveniles of major fish from artisanal fisheries was determined and sold in food markets district El Porvenir and La Esperanza (Trujillo, Peru), markets in the districts were selected on the basis that the size and .The greatest concurrence of people. Sampled specimens were, mackerel, mullet, weakfish, croaker, silver side, hakes, mackerel and lorna drum. The average size of commercialization of five species was below the minimum size established legal catch-four is upon this. The percentages of juveniles are marked on the legal minimum established of eight species. We conclude that a high percentage of marketing juveniles is below the legal minimum size established by the Ministry of Production, which indicates that there is a risk of the fishery on these resources.

Key Words: Market size, juvenile, artisanal fisheries, Trujillo (Peru).

INTRODUCCIÓN

El mar constituye un medio especialmente rico en formas de vida, muchas de las cuales suponen una fuente importante de alimento para la humanidad. La variedad de recursos pesqueros es enorme y de características muy diferentes, tanto por las especies que los constituyen como por sus capacidades productivas. A la hora de someterlos a explotación hay que tener en cuenta esta condición porque no todos soportan la misma intensidad de pesca¹.

La variedad de especies ícticas que existe en el mar peruano, se debe a la confluencia de las corrientes de aguas frías del sur y aguas cálidas del norte, presentándose de esta manera zonas de afloramiento con enorme significado biológico en la economía del mar, por ello las pesquerías son orientadas a capturas específicas donde prima el ambiente acuático al que pertenecen como son pelágicos entre estos *Engraulis ringens* “anchoveta”, *Sardinops sagax sagax* “sardina”, *Scomberomorus japonicus* “caballa”, *Trachurus picturatus murphyi* “jurel”, *Sarda sarda chilensis* “bonito”, demersales como *Merluccius gayi peruanus* “merluza”, *Paralichthys* sp, “lenguado”, *Paralabrax humeralis* “cabrilla”, *Cynoscion analis* “cachema”, *Paralonchurus peruanus* “suco”, *Genypterus maculatus* “congrío”; y costeros como *Seriola violácea* “cojinoba”, *Brevortia maculata chilcae* “machete”, *Mugil cephalus* “lisa”, *Sciaena deliciosa* “lorna”, *Isacia conceptionis* “cabinza”, *Odontesthes regia regia* “pejerrey”, *Cheilodactylus variegatus* “pintadilla”².

Las poblaciones marinas son recursos renovables, es decir que las pérdidas causadas por la mortalidad natural que les afecta es compensada por la incorporación de nuevos individuos producto de la reproducción de las especies. Resulta evidente que cualquier arte de pesca ha sido diseñado para obtener capturas de especies que puedan ser comercializadas y que, consecuentemente, genera una serie de mortalidades sobre las poblaciones potencialmente explotables. Por lo tanto, la pesca actúa sobre una población haciendo descender el número de supervivientes³.

Las tallas mínimas se establecen, en principio, como medida para garantizar que las capturas se realizan sobre ejemplares a los que ya se les ha dado oportunidad de reproducirse. La única manera de dirigir la captura hacia las tallas adecuadas es la utilización de artes de pesca selectivos para dichos tamaños. El Ministerio de la Producción, mediante Resolución Ministerial N°209-2001-PE, aprueba las tallas mínimas de captura, así como la tolerancia máxima de ejemplares juveniles de principales peces marinos e invertebrados, con la finalidad de proteger nuestros recursos. En los últimos tiempos, las distintas organizaciones implicadas en la gestión y ordenación de los recursos han alertado sobre la disminución de las capturas, y consideran que gran parte de los recursos explotados se encuentran en situación de sobreexplotación o sobrepesca.

La Pesca Artesanal en el Perú representa un segmento importante de la actividad económica, tanto por el número de empleos que genera, así como por su contribución en la producción alimentaria para consumo humano directo, sin embargo la presión de pesca está originando una reducción de las tallas de captura de algunas especies, lo cual estaría afectando su recuperación natural. Se cuenta con poca información que describa las tallas de comercialización y el porcentaje de juveniles de los recursos ícticos en los diferentes mercados, asimismo, no se conoce si las especies comercializadas están cumpliendo con las disposiciones del Ministerio de Producción, por lo que en el presente trabajo se ha considerado necesario analizar las tallas de comercialización y el porcentaje de juveniles de los peces procedentes de la pesca artesanal en los mercados de los distritos el Porvenir y La Esperanza (Trujillo, Perú) durante el año 2014.

MATERIAL Y METODOS

La población de estudio estuvo constituida por los peces procedentes de la pesca artesanal comercializados en los mercados Los Portales, Santa Rosa, Víctor Larco y 7 de junio del distrito El Porvenir y San Martín, Jerusalén, La Victoria y Modelo del distrito La Esperanza, estos mercados fueron seleccionados tomando como criterio el tamaño y la mayor concurrencia de los habitantes de los distritos.

Los muestreos se realizaron cada 15 días y al azar, a las especies más comerciales y que estuvieron presentes durante todo el año de muestreo, se identificó las especies utilizando claves taxonómicas⁴ y se midió la longitud total con un ictiómetro graduado al milímetro.

Se aplicó el Test de Kolmogorov-Smirnor para determinar si las distribuciones de frecuencias de los ejemplares muestreados en los mercados de cada distrito eran diferentes o iguales. La información obtenida se procesó utilizando los programas computacionales Word y Excel 2010.

RESULTADOS

La aplicación del Test de Kolmogorov-Smirnor demostró que las distribuciones de frecuencias de las especies analizadas por mercado en cada distrito eran iguales, lo mismo que para los distritos, por lo que se optó por trabajar todos los ejemplares como una sola muestra.

Se muestrearon nueve especies que estuvieron presentes en todos los mercados, obteniéndose la talla promedio de comercialización para los mercados de El Porvenir y el de La Esperanza, las cuales estadísticamente no son diferentes. Las tallas medias de comercialización, de caballa, lisa, bonito, suco, jurel y la merluza se encuentran debajo de la talla mínima de captura establecida por el Ministerio de la Producción (Tabla 1).

El bonito presento una moda a los 42 cm y su distribución de frecuencias de longitud vario entre 32 y 72 cm, con un 84,28% de ejemplares comercializados debajo de la Talla Mínima de captura (Fig. 1). La caballa presento un rango de distribución de frecuencias comprendido entre 19 y 42 cm de longitud, observándose una distribución polimodal, con una moda a los 26 cm y otra a los 34 cm (Fig. 2), en esta especie el porcentaje de especies comercializados debajo de la Talla Mínima de Captura fue de 68,11% .

En la lisa la distribución de frecuencias de longitud estuvo comprendida entre los 24 y 45 cm, observándose la moda a los 37 cm, así mismo de los ejemplares analizados el 46,61% corresponde a juveniles (Fig. 3). La cachema presento una distribución de tallas polimodal, comprendida entre los 18 y 40 cm, y las modas estuvieron ubicadas a los 22 y 23 cm respectivamente (Fig. 4). El porcentaje de juveniles de esta especie fue del 35,78%.

La distribución de frecuencia de longitud del suco fue polimodal observándose las modas a los 26, 34 y 40 cm y su distribución de frecuencias estuvo comprendida entre los 22 y 43 cm, con porcentaje de juveniles comercializados de 81,38% (Fig. 5).

Tabla 3. Longitud promedio de los peces comercializados en los mercados de los distritos El Porvenir y La Esperanza (Trujillo, Perú), durante el año 2014

Nombre Científico	Nombre Común	Distrito El Porvenir		Distrito La Esperanza	
		NE	LPC	NE	LPC
<i>Scomber japonicus peruanus</i>	“caballa”	460	28,04	324	27,32
<i>Mugil cephalus</i>	“lisa”	364	36,84	286	34,43
<i>Sarda sarda chilensis</i>	“bonito”	359	43,86	398	42,35
<i>Cynoscion analis</i>	“cachema”	422	28,63	299	27,22
<i>Sciaena deliciosa</i>	“lorna”	509	30,81	499	29,12
<i>Paralonchurus peruanus</i>	“suco”	496	32,96	347	31,78
<i>Trachurus picturatus muphy</i>	“jurel”	486	28,66	354	29,54
<i>Merluccius gayi peruanus</i>	“merluza”	549	37,35	294	36,78
<i>Odontesccthes regia regia</i>	“pejerrey	293	18,76	199	17,24

NE= número de ejemplares; LPC= longitud promedio de comercialización

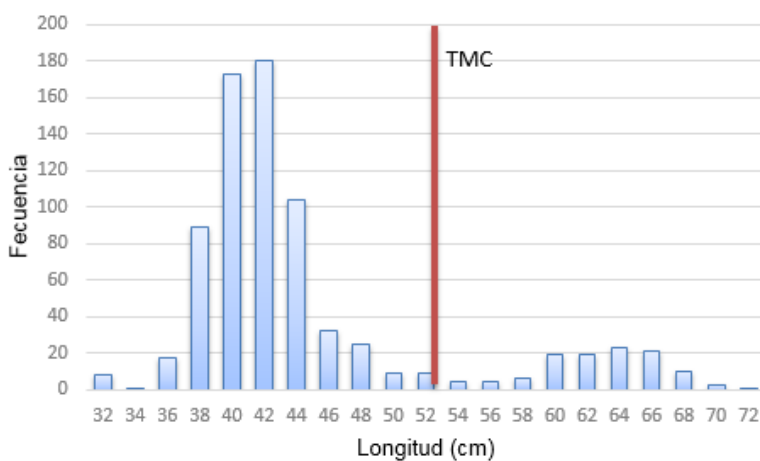


Fig. 1. Composición por tallas de la comercialización de *Sarda sarda chilensis* “bonito” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

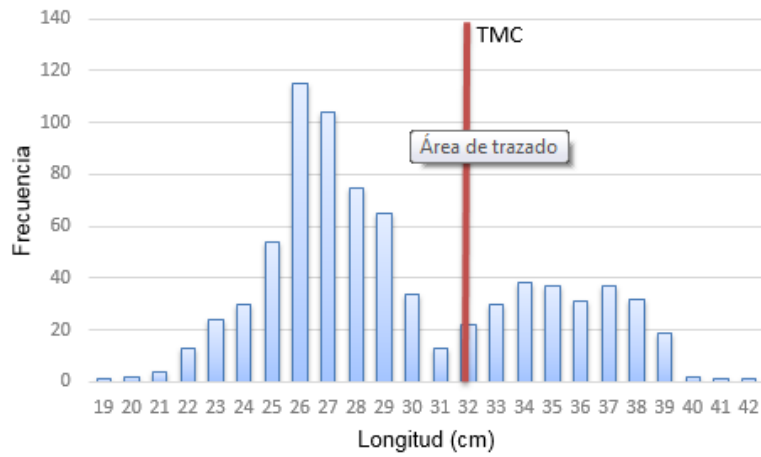


Fig. 2. Composición por tallas de la comercialización de *Scomber japonicus peruanus* “caballa” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

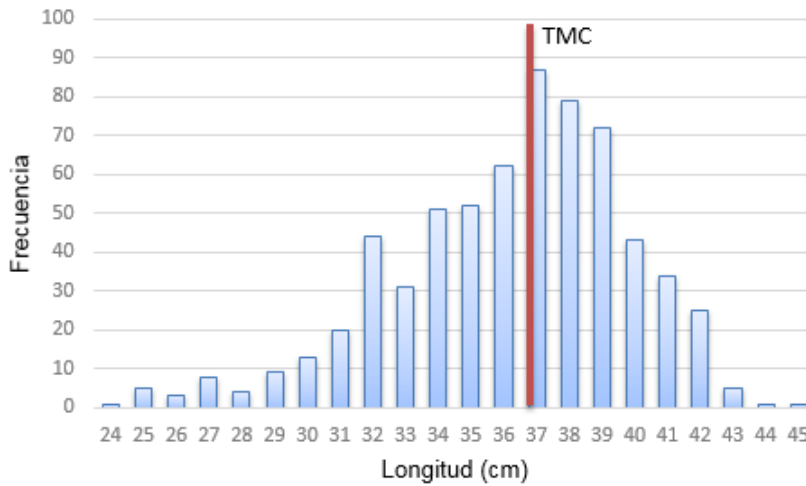


Fig. 3. Composición por tallas de la comercialización de *Mugil cephalus* “lisa” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

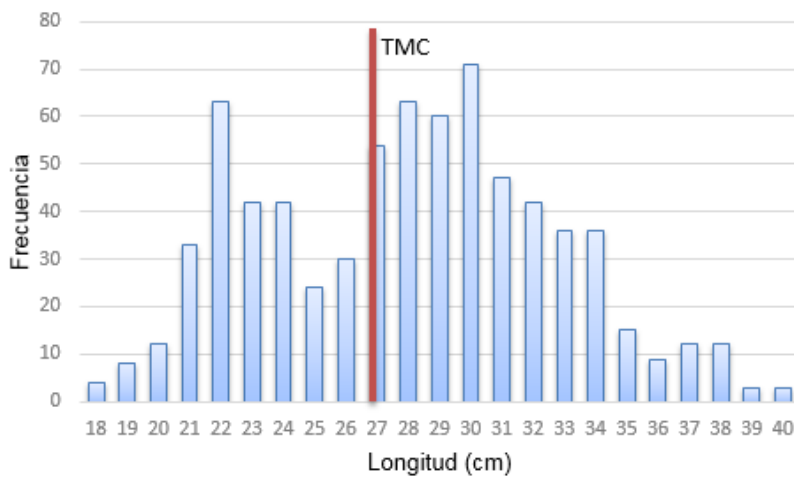


Fig. 4. Composición por tallas de la comercialización de *Cynoscion analis* “cachema” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

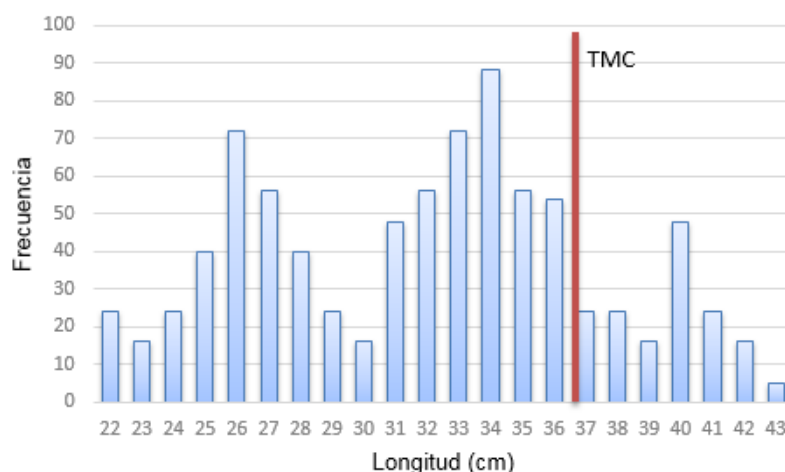


Fig. 5. Composición por tallas de la comercialización de *Paralonchurus peruanus* “suco” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

El pejerrey presentó una distribución de frecuencias de longitud comprendida entre los 11 y 25 cm, con una moda a los 19 cm y el porcentaje de juveniles comercializados fue de 10,36% (Fig. 6). La distribución de frecuencias de longitud de la meluza estuvo entre los 17 y 51 cm y fue polimodal, pero la moda con mayor frecuencia estuvo ubicada a los 19 cm, y presentó un 42,70% de juveniles comercializados (Fig. 7).

La lorna presentó una distribución de frecuencias entre los 17 y 48 cm de longitud con una moda ubicada a los 28 cm, el porcentaje de juveniles comercializados fue de 13,09% (Fig. 8).

El jurel presentó una distribución de frecuencias de longitud ubicada entre los 18 y 32 cm con una moda a los 25 y con el 96,39% de juveniles comercializados (Fig. 9).

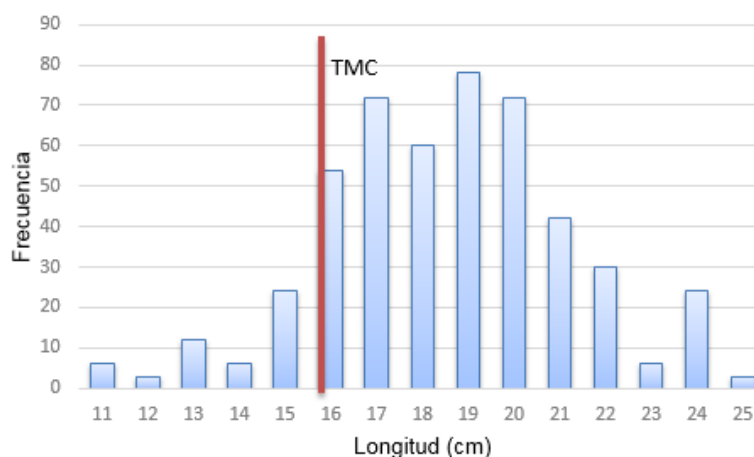


Fig. 6. Composición por tallas de la comercialización de *Odontesthes regia regia* “pejerrey” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

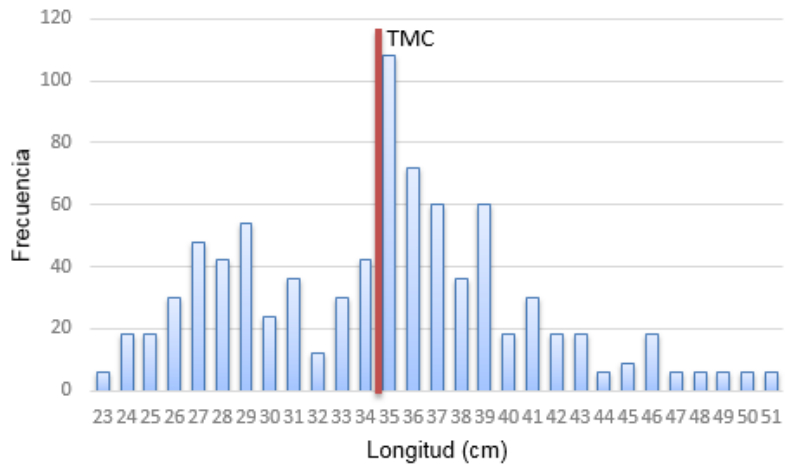


Fig. 7. Composición por tallas de la comercialización de *Merluccius gayi peruanus* “merluza” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

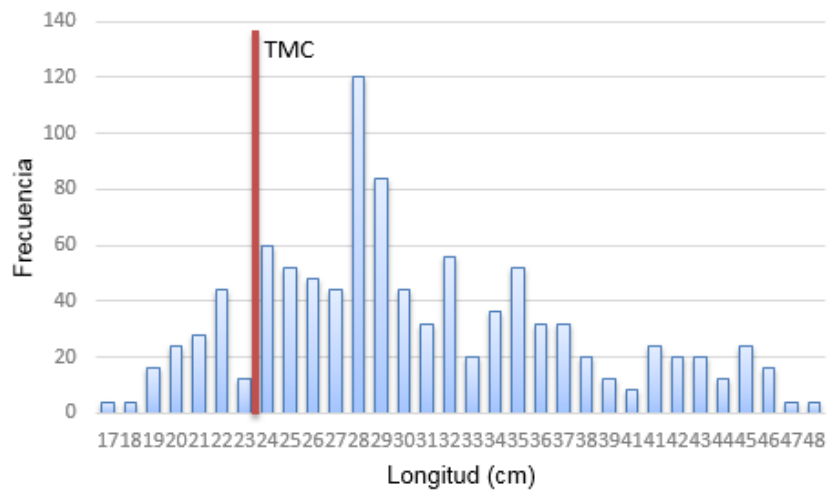


Fig. 8. Composición por tallas de la comercialización de *Sciaena deliciosa* “lorna” en el distrito El Porvenir, (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

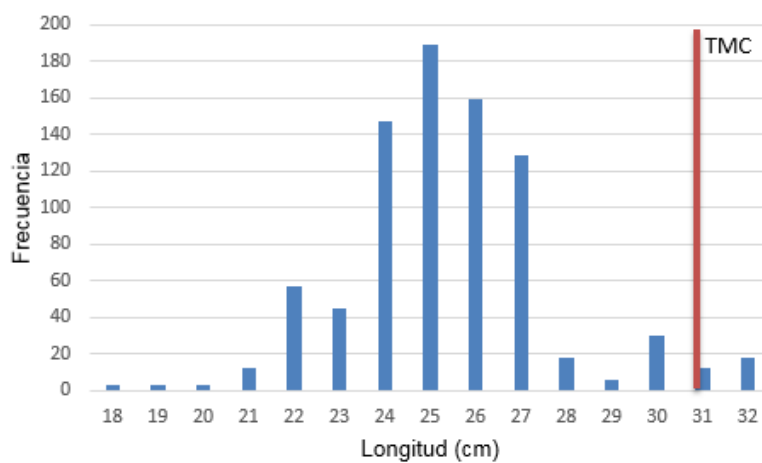


Fig. 9. Composición por tallas de la comercialización de *Trachurus picturatus murphy* “jurel” en el distrito El Porvenir (Trujillo, Perú), durante el año 2014.

DISCUSIÓN

La conservación de un recurso depende del cumplimiento de las medidas de protección determinadas para ese recurso y su ambiente, así como de la participación activa y responsable de los pescadores lo que garantiza la sustentabilidad de los recursos, la participación de las autoridades en hacer cumplir las normas de ordenamiento para garantizar una pesquería sustentable.

La permanente migración del poblador andino hacia la costa, ha motivado la incorporación de ellos en las actividades de la pesca, lo cual sumado al incremento poblacional y de las necesidades del pescador tradicional, ha generado una mayor presión de pesca, con el riesgo de una extracción desmedida de los recursos litorales, lo que está ocasionando graves consecuencias ecológicas y socioeconómicas, poniendo en peligro la conservación de los recursos⁵.

Las tallas máximas de captura de lorna se ha visto descender en los últimos tiempos: se ha registrado un valor de 33 cm⁶, el cual resulta ser menor de los reportados en investigaciones previas^(7,8,9) para el departamento de La Libertad donde se indican valores de 44, 50 y 42 cm, respectivamente, esto difiere con el valor obtenido el cual fue de 48 cm, así mismo el porcentaje de juveniles comercializados esta dentro de la tolerancia máxima establecida para la captura de esta especie, lo cual podría evidenciar un proceso de recuperación de este recurso.

El pejerrey si bien no es un recurso que este sobreexplotado, y sus valores encontrados cumple con la R.M. N° 209-2001.PE. es necesario hacer un seguimiento de este recurso para evitar su sobreexplotación.

Los recursos que presentan una alta comercialización de juveniles, nos indica que están sometidos a una alta presión de pesca, aplicada a los ejemplares juveniles, más si consideramos que la tallas promedio de comercialización están por debajo de la talla mínima legal de captura y el porcentaje elevado de juveniles que supera el porcentaje tolerancia máximo legal establecido de acuerdo a la R.M. N°209-2001.PE.

La talla mínima de captura esta íntimamente relacionada con la estimación del tamaño optimo de malla de las redes a fin de evitar la captura de individuos por debajo de esa talla, en las especies estudiadas se observa que el porcentaje de captura de juveniles es alto, mayor del porcentaje de juveniles establecidos por el Ministerio de la Producción. La captura indiscriminada de ejemplares pequeños, puede provocar una serie de consecuencias en la estructura de la población cuyos efectos se traducen tanto en una disminución de los rendimientos pesqueros, como en la aparición de estados de sobreexplotación que alteren la relación stock-reclutamiento, pudiendo causar el colapso de la pesquería cuyos efectos se traducen tanto en una disminución de los rendimientos pesqueros, como en la aparición de estados de sobreexplotación que alteran la relación stock-reclutamiento, pudiendo causar el colapso de la pesquería¹⁰.

La explotación elevada de cualquier especie, tiene su principal impacto en el potencial reproductivo, debido a que generan cambios en la estructura de la población o el stock y generalmente cuando se hace la explotación de un stock se produce la “juvenación” del mismo, es decir una disminución de las clases anuales¹¹.

Las pesquerías de las especies analizadas están en peligro debido a que las posibilidades de reemplazo de los ejemplares capturados no se produce en los niveles apropiados, es decir no se permite la recuperación del stock por lo que se sugiere una disminución de la captura de juveniles, lo cual conlleva a un cambio en el tamaño de malla y un manejo adecuado de estos recursos, para lo cual es necesario conocer los componentes que intervienen en el sistema como son las bases biológicas, ambientales, normativas y de extracción para la sostenibilidad de los recursos⁶.

CONCLUSIONES

- La talla promedio de comercialización de *Sarda sarda chilensis* “bonito”, *Scomber japonicus peruanus* “caballa”, *Paralonchurus peruanus* “suco”, *Trachurus picturatus muyphy* (jurel) y *Mugil cephalus* “lisa” se encuentra debajo de la talla mínima legal de captura.
- El porcentaje de comercialización de juveniles esta sobre la tolerancia máxima legal establecida a excepción de *Odonthesthes regia regia* “pejerrey” y *Sciaena delisiosa* “lorna”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguirre P. Manual de Biología Pesquera. 2012. <http://www.bubok.es/libros/210258/MANUAL-DE-BIOLOGIA-PESQUERA>
2. Tresierra A, Culquichicón Z. Biología Pesquera. Trujillo, Perú: Edit. Libertad. 1993.
3. Bohnsack JA. Marine reserves: Lessons from Florida. In: M. M. Yoklavich (ed.), Marine harvest refugia for west coast rockfish: a workshop NOAA-TM-NMFS-SWFSC-255, 1998; pp.89-99.
4. Chirichigno N, Velez M. Clave para identificar los peces marinos del Perú. Publicación Especial. Instituto del Mar del Perú. 2da. Edic. 1998.
5. Bocanegra C. Caleta de Huanchaco (Perú): Un modelo de Utilización Sostenida de Recursos Litorales. Resúmenes del III Seminario Latinoamericano de Pesca Artesanal y III Reunión Regional Desarrollo Costero Integrado. Octubre 1991. Lima Perú. Pag.:91. 1991.
6. Veneros B. Caracterización de las bases biológicas-pesqueras para el manejo sustentable de los principales recursos que soportan la pesca artesanal en la zona costera de la región La Libertad, Perú. Tesis de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2008.
7. Cavero R. Análisis comparativo de las estructuras óseas usadas para la determinación de edad y crecimiento de lorna *Sciaena delisiosa* (Tshudi, 1985), procedente de la Caleta de Huanchaco. Informe de Título de Biólogo Pesquero. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 1996.
8. López J. Alimento y hábitos alimentarios de *Sciaena delisiosa* “lorna” procedente de la Caleta de Huanchaco – La Libertad durante Noviembre de 1995 a Marzo de 1996. Informe de Título de Biólogo Pesquero. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 1996.
9. Gamarra D. Crecimiento y Tasa de Explotación de *Sciaena delisiosa* “lorna” procedente de la pesca artesanal del litoral del departamento La Libertad de noviembre 2002 a octubre del 2003. Tesis de Biólogo Pesquero. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2003.
10. Tresierra A, Culquichicón Z, Veneros B. Dinámica de Poblaciones. Trujillo, Perú: Edit. Libertad. 1995.
11. Tresierra A, Culquichicón Z. Dinámica de la población de *Sciaena delisiosa* “lorna” procedente de La Libertad. OGPRODEIN. Universidad Nacional de Trujillo. 2003.



Flora vascular de los humedales Tres Palos, Ascope, Perú, 2013

Vascular Flora of Wetlands Tres Palos, Ascope, Peru, 2013

Katia L. Monzón Licera y Freddy Peláez

¹Tesista, Escuela AP Ciencias Biológicas. ²Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

La amenaza principal para los humedales Tres Palos (Ascope, Perú) constituye el deterioro de los mismos debido a la ampliación de frontera agrícola; sin embargo, no se han reportado trabajos florísticos específicos para estos humedales a pesar de su importancia. La presente investigación estuvo dirigida a elaborar el inventario de la flora vascular y realizar la comparación florística de estos humedales con algunos de la costa peruana como Choc Choc, Chan Chan, Balsares de Huanchaco, Algarrobal El Cañoncillo, Pantanos de Villa, de Chimbote y Manglares de Tumbes y obtener el valor de similitud entre estos. Los Humedales Tres Palos están situados en el Departamento La Libertad, Provincia de Ascope (07°59'24.5" - 08°1'48.42" de latitud sur y 079°12'44.5" - 079°13'05.9" de longitud oeste). Cuenta con seis hábitats principales. La flora vascular está compuesta por 51 especies en 22 familias, el 76.47% representa a las magnoliópsidas y el 23.53% a las liliópsidas. Las familias con más especies son Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Cyperaceae y Chenopodiaceae. Las formas de crecimiento determinantes son las hierbas 82.35%, arbustos 15.69% y lianas 1.96%. Al realizar la comparación con otros humedales costeros se presentó mayor similitud con los humedales de Chan Chan seguido por los humedales de Chimbote, Pantanos de Villa, Choc Choc, Balsares de Huanchaco, Manglares de Tumbes y Cañoncillo.

Palabras clave: Humedales, flora vascular, algarrobal, pantanos, Manglares

ABSTRACT

The main threat to wetlands Tres Palos (Ascope, Peru) is deterioration thereof due to agricultural land expansion; however, it has not reported specific floristic works to these wetlands despite its importance. This work was done with the purpose of development of the inventory of the vascular flora and the floristic comparison of these wetlands with some of the Peruvian coast as Choc Choc, Chan Chan, Balsares Huanchaco, Algarrobal Cañoncillo, Pantanos de Villa, Chimbote and Mangroves of Tumbes and gets the value of similarity between them. Tres Palos Wetlands are located in the La Libertad Department, Ascope Province (07 ° 59'24 .5 " - 08 ° 1'48 .42 " south latitude and 079 ° 12'44 .5" - 079 ° 13'05 .9 "W). It has six main habitats. The vascular flora consists of 51 species in 22 families; the magnoliópsida represents 76.47 % and the liliópsidas 23.53 %. Families with more species are Asteraceae , Poaceae , Fabaceae , Cyperaceae and Chenopodiaceae . Growth forms determinants are herbs 82.35 % , 15.69 % shrubs and lianas 1.96 % . When comparing with other coastal wetlands was greater similarity to Chan Chan wetlands followed by Chimbote, Pantanos de Villa, Choc Choc, Balsares Huanchaco , Mangroves of Tumbes and Cañoncillo.

Keywords: Wetlands, vascular flora, Mangroves, pantanos

INTRODUCCIÓN

Se estima que los humedales, verdaderos ambientes de transición entre sistemas terrestres y acuáticos, abarcan más de 1.280 millones de hectáreas en todo el planeta aunque estas estimaciones varían significativamente entre los diferentes estudios y dependen fuertemente de la definición de humedales utilizada y de los métodos para delimitarlos^{1,2,3}.

En el Perú se han reconocido un total de 92 humedales costeros: 56 naturales, 11 artificiales, 11 extinguidas y 14 desembocaduras de ríos; en la costa de la Región La Libertad, por su lado, se consideran a 16 cuerpos de agua dentro de esta categoría: Guadalupito, Tres Chozas, Chao, Comositán, El Carmelo-Virú, Puerto Morí o Punta Guañape, Salaverry, Pozo del Diablo, Tres Palos-El Charco, Boca de Río Chicama, Boca La Grama, San Bartolo, El Tubo, Cañoncillo y Boca de Río Jequetepeque⁴.

Aunque la contribución de los humedales a la economía ha sido mayormente ignorada, muchas poblaciones rurales dependen de ellos para desarrollar diversas actividades y es el único medio a través de los cuales logran satisfacer sus necesidades básicas de subsistencia; al mismo tiempo, incrementan la belleza paisajística y presentan una alta diversidad biológica^{4,5}.

La amenaza para los humedales es de naturaleza antrópica, por la ampliación de la agricultura que permite que un número creciente de ellos estén siendo drenados³; asimismo, son afectados por los procesos de urbanización con la consecuente contaminación y destrucción del hábitat y los recursos biológicos^{6,7}. La situación de los humedales Tres Palos no es ajeno a estas amenazas, considerándose que la principal es el deterioro debido a la ampliación de frontera agrícola, además de factores climáticos como el evento El Niño en los años 97/98.⁶

Estudios efectuados en los humedales de la provincia de Trujillo están relacionados a: la conservación ex situ de *Scirpus californicus* “totora” en Huanchaco (Trujillo-Perú)⁸, el cultivo de totora y el efecto de las lagunas de oxidación sobre los totorales de la caleta de Huanchaco⁹, la caracterización de los Humedales Costeros de La Provincia de Trujillo⁶, el deterioro de los Humedales de Choc Choc, Moche (Trujillo-Perú) por aguas servidas domésticas⁷ y la calidad ecológica de los humedales de la provincia de Trujillo, Perú, en base a la flora acuática.¹⁰ Sin embargo, no se han reportado trabajos florísticos específicos para Tres Palos, a pesar de su importancia.

En este informe se presentan los resultados de una investigación dirigida a elaborar el inventario de la flora vascular de los humedales Tres Palos (Ascope, Perú) y a realizar la comparación florística de estos humedales con algunos de la costa peruana como Choc Choc, Chan Chan, Balsares de Huanchaco, Algarrobal El Cañoncillo, Pantanos de Villa, de Chimbote y Manglares de Tumbes y obtener el valor de similitud entre estos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Los humedales Tres Palos están situados en el Departamento La Libertad, Provincia de Ascope. La zona de estudio está comprendida entre los 07°59'24.5"- 08°1'48.42" de latitud sur y 079°12'44.5" - 079°13'05.9" de longitud oeste. Constituyen un grupo de 20 pozas de aproximadamente 26,5 ha excavadas muy cerca al mar, utilizadas para sembrar totora y junco para múltiples usos, especialmente con fines artesanales⁶.

El área es parte de un complejo arqueológico y está protegido por el Instituto Nacional de Cultura. Los centros poblados más cercanos son el de La Esperanza y el de Santiago de Cao⁴. Se consideraron seis hábitats¹¹:

- **Espejos de agua:** Generalmente aguas pardo-claras hasta turbias.
- **Totorales:** Zonas en suelos inundados y caracterizado por presencia de *Typha angustifolia*.
- **Zona arbustiva:** Representada por sector de arbustos, cerca de borde de camino y gramadales.
- **Vega de ciperáceas:** Vecina a cuerpos de agua y al gramadal.
- **Gramadal:** Se caracteriza por presencia de Poáceas (*Distichlis spicata*, *Sporobolus virginicus*, *Paspalum vaginatum*).
- **Canal:** Hechos a fines de controlar el flujo de agua o para servir como drenes.

Proceso de herborización y determinación taxonómica

La colección de muestras de plantas vasculares se realizó en cuatro excursiones, de Marzo a Agosto de 2013, tratando de cubrir todos los hábitats presentes. Las muestras fueron puestas en papel periódico y luego colocadas en una prensa botánica para su transporte y posterior herborización según la metodología clásica para fanerógamas¹².

La determinación sistemática de las especies se efectuó en el Herbarium Truxillense (HUT). La nomenclatura se basó según el catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú¹⁴ y el portal W³TROPICOS¹⁵. El material botánico fue depositado en el Herbarium Truxillense (HUT).

Análisis de datos con respecto a la comparación de floras

Se realizó la comparación florística de los humedales Tres Palos (Ascope – La Libertad) con lo registrado en el Algarrobal El Cañoncillo (Pacasmayo-La Libertad)¹⁶, Balsares de Huanchaco (Trujillo-La Libertad)^{6, 9}, humedales de Chan Chan (Trujillo-La Libertad)¹⁷, humedales de Chimbote (Chimbote-Ancash)¹⁸, humedales de Choc Choc (Trujillo-La Libertad)⁷, Manglares de Tumbes (Zarumilla-Tumbes)¹⁹, Pantanos de Villa (Lima)¹¹ basándose en el cálculo del coeficiente de similitud de Sørensen (CS), que relaciona el número de géneros en común con la media aritmética de los géneros en ambos sitios²⁰

$$I_s = 2c/a+b \times 100$$

Donde:

a = número de géneros presentes en el sitio A

b = número de géneros presentes en el sitio B

c = número de géneros presentes en ambos sitios A y B.

Se clasificó los valores hallados en: Bajo (10 - 23), medio (24 - 38) y alto (39 - 63), de acuerdo a los resultados obtenidos.

El dendrograma de similitud fue realizado con el software PRIMER 5.

RESULTADOS

La flora vascular de los humedales Tres Palos está constituida por 51 especies, incluidas en 22 familias. La magnoliópsidas (dicotiledóneas) son el grupo mejor representado con el 76.47% y las liliopsidas (monocotiledóneas) representan el 23.53%. Las familias con mayor riqueza de especies fueron las Asteraceae y Poaceae con 8 especies cada familia, seguida por Fabaceae (6), Chenopodiaceae (3) y Cyperaceae (3) (Tabla 1). Las formas de vida mejor representadas son las hierbas 82.35%, seguidas de arbustos 15.69% y lianas 1.96%.(Tabla 2).

Estas especies están distribuidas en los 6 hábitats determinados para estos humedales Tres Palos (Tabla 3), la mayor cantidad de especies se encuentra en los canales (31 especies), seguida por los gramadales (9), zona arbustiva (8), totoral (4), vega de ciperáceas (3), y cuerpos de agua (3) (Fig. 1). Los biotipos principales en el gramadal son: *Distichlis spicata*, *Sporobolus virginicus*, *Paspalum vaginatum*; en vega de ciperáceas principalmente encontramos *Cyperus laevigatus*. Otras especies se hallan en varios hábitats, por ejemplo *Typha angustifolia*, en sitios inundados; *Paspalum vaginatum*, ocupa dos hábitats por su rápido crecimiento; *Scirpus americanus*, ocupa todos los hábitats excepto los cuerpos de agua y zona arbustiva. (Tabla 3).

La presencia o ausencia de géneros dentro de las floras seleccionadas (Tabla 5) fueron comparadas utilizando el coeficiente de similitud de Sørensen, que permitió determinar que los humedales Tres Palos presentaron alta similitud con los humedales de Chan Chan seguido por Chimbote, Pantanos de Villa, Choc Choc; similitud media con Balsares de Huanchaco y baja con Manglares de Tumbes y El Cañoncillo. (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Los humedales de Tres Palos presentan una flora vascular compuesta por 51 especies en 22 familias (Tabla 1). El número de especies registradas es alto en comparación a lo reportado para esta misma zona por Tresierra et al. ⁶ y Alvitez et al. ¹⁰, con 17 especies cada uno, probablemente a que se ha hecho el muestreo en un periodo más largo, considerando diferentes tipos de hábitats. Asimismo en relación con otros humedales como Cañoncillo (18 especies) ¹⁶, Huanchaco 16 ^{6, 9}, Choc Choc 23⁷, Chimbote 41¹⁸ y Pantanos de Villa 43¹¹. Con los Manglares de Tumbes es muy parecida la riqueza de especies que cuenta con 53.

En cuanto a los grupos de flora vascular, el 76.47% corresponde a Magnoliópsidas y el 23.53% de Liliópsidas. Las familias con mayor número de especies fueron Asteraceae (8 especies que representa 15.69%), Poaceae (8 especies que representa 15.69%), Fabaceae (6 especies que representa 11.76%), Chenopodiaceae (3 especies que representa 5.88%) y Cyperaceae (3 especies que representa 5.88%), el resto está bajo 4% (Tabla 2). Estas familias coinciden en ser las mejores representadas en la flora de los humedales de Chimbote¹⁸, Choc Choc ⁷, Pantanos de Villa ¹¹, Balsares de Huanchaco ^{6, 9} y Chan Chan. ¹⁷

Tabla 1. Flora vascular de los humedales Tres Palos expresada en número de familias, géneros, especies y el porcentaje de especies.

DIVISION/CLASE/FAMILIA	N° de Familias	N° de Géneros	N° de Especies	% de Especies
MAGNOLIOPHYTA				
MAGNOLIOPSIDA (DICOTILEDONEAS)	19	38	39	76.47
Aizoaceae		1	1	1.96
Amaranthaceae		1	1	1.96
Apiaceae		2	2	3.92
Asteraceae		8	8	15.69
Boraginaceae		2	2	3.92
Capparaceae		1	1	1.96
Chenopodiaceae		2	3	5.88
Convolvulaceae		2	2	3.92
Euphorbiaceae		2	2	3.92
Fabaceae		6	6	11.76
Loranthaceae		1	1	1.96
Nyctaginaceae		1	1	1.96
Plantaginaceae		1	1	1.96
Portulacaceae		1	1	1.96
Rhamnaceae		1	1	1.96
Scrophulariaceae		1	1	1.96
Solanaceae		2	2	3.92
Verbenaceae		2	2	3.92
Vitaceae		1	1	1.96
LILIOPSIDA (MONOCOTILEDÓNEAS)	3	11	12	23.53
Cyperaceae		2	3	5.88
Poaceae		8	8	15.69
Typhaceae		1	1	1.96
TOTAL	22	49	51	100

Tabla 2. Formas de vida de la flora vascular de los humedales Tres Palos.

Forma de vida	Número de especies	Porcentaje %
Arbusto	8	15.69
Hierba	42	82.35
Liana	1	1.96
TOTAL	51	100.00

Tabla 3. Distribución de las especies de plantas vasculares de los Humedales Tres Palos en los hábitats.

Clase/Familia/Especie	Presencia en Hábitats					
	1	2	3	4	5	6
MAGNOLIOPSIDA(DICOTILEDONEAS)						
AIZOACEAE						
<i>Sesuvium portulacastrum</i> (L.) L.				x		
AMARANTHACEAE						
<i>Alternanthera halimifolia</i> (Lam.) Standl. ex Pitt.						x
APIACEAE						
<i>Apium laciniatum</i> (DC.) Urb.						x
<i>Hydrocotyle bonariensis</i> Lam.				x		x
ASTERACEAE						
<i>Ambrosia peruviana</i> Willd.						x
<i>Baccharis glutinosa</i> Pers.					x	
<i>Bidens pilosa</i> L.						x
<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.						x
<i>Enydra sessilifolia</i> (Ruiz & Pav.) Cabrera	x					
<i>Flaveria bidentis</i> (L.) Kuntze						x
<i>Sonchus oleraceus</i> L.						x
<i>Spilanthes leiocarpa</i> DC.				x		
BORAGINACEAE						
<i>Cordia lutea</i> Lam.					x	
<i>Heliotropium curassavicum</i> L.						x
CAPPARACEAE						
<i>Cleome spinosa</i> Jacq.						x
CHENOPODIACEAE						
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.						x
<i>Chenopodium murale</i> L.						x
<i>Salicornia fruticosa</i> L.				x		
CONVOLVULACEAE						
<i>Cressa truxillensis</i> Kunth				x		
<i>Ipomoea crassifolia</i> Cav.						x
EUPHORBIACEAE						
<i>Euphorbia hypericifolia</i> L.						x
<i>Ricinus communis</i> L.					x	
FABACEAE						
<i>Acacia huarango</i> Ruiz ex J.F. Macbr.					x	
<i>Cassia bicapsularis</i> L.					x	
<i>Medicago lupulina</i> L.						x
<i>Melilotus indicus</i> (L.) All.						x
<i>Vicia graminea</i> Sm.						x
<i>Vigna luteola</i> (Jacq.) Benth.						x
LORANTHACEAE						
<i>Psittacanthus chanduyensis</i> Eichler					x	
NYCTAGINACEAE						
<i>Cryptocarpus pyriformis</i> Kunth					x	
PLANTAGINACEAE						
<i>Plantago major</i> L.						x
PORTULACACEAE						
<i>Portulaca oleracea</i> L.						x
RHAMNACEAE						
<i>Scutia spicata</i> (H. & B. ex Willd.) Weberb.					x	
SCROPHULARIACEAE						
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.			x			
SOLANACEAE						
<i>Datura stramonium</i> L.						x
<i>Solanum americanum</i> Mill.						x
VERBENACEAE						
<i>Verbena litoralis</i> Kunth						x
<i>Lippia nodiflora</i> (L.) Michx.				x		

VITACEAE					
<i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson & C.E. Jarvis					X
LILIOPSIDA (MONOCOTILEDONEAS)					
CYPERACEAE					
<i>Cyperus rotundus</i> L.				X	
<i>Cyperus laevigatus</i> L.	X			X	
<i>Scirpus americanus</i> Pers.		X	X	X	X
POACEAE					
<i>Chloris virgata</i> Sw.					X
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.					X
<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene				X	
<i>Eriochloa pacifica</i> Mez					X
<i>Paspalum vaginatum</i> Sw				X	X
<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	X				
<i>Setaria verticillata</i> (L.) P. Beauv.					X
<i>Sporobolus virginicus</i> (L.) Kunth				X	
TYPHACEAE					
<i>Typha angustifolia</i> L.		X			X

Leyenda: Cuerpos de agua: 1; Totoral: 2; Vega de ciperáceas: 3; Gramadal: 4; Zona arbustiva: 5; Canal: 6

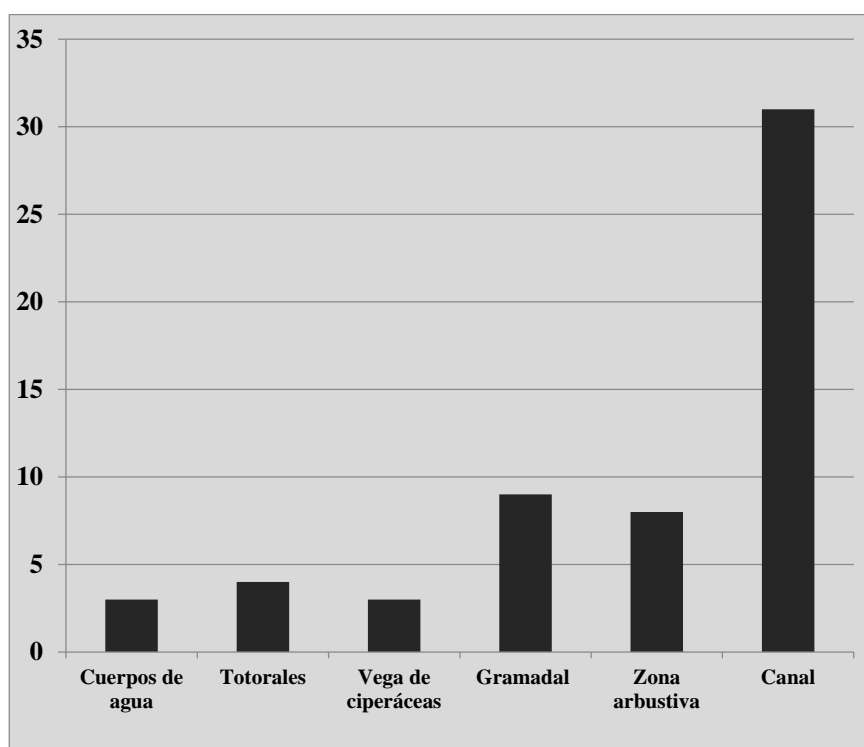
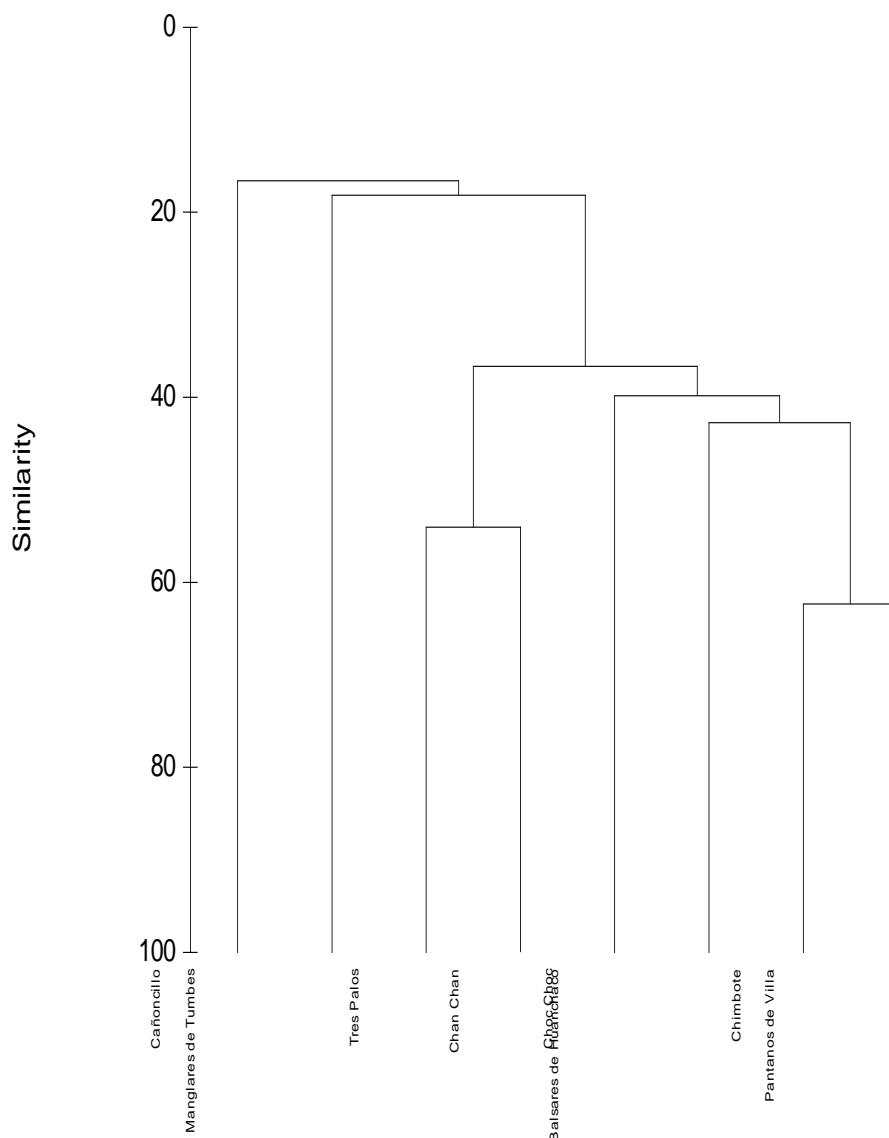


Fig. 5 Número de especies presentes en cada uno de los hábitats identificados.

Tabla 4. Comparación de flora a nivel genérico utilizando el coeficiente de Sørensen. El número total de géneros compartidos en paréntesis.

	Manglares de Tumbes	Cañoncillo	Balsares de Huanchaco	Chan Chan	Choc Choc	Chimbote	Pantanos de Villa
Tres Palos	24.176(11)	18.75(6)	32.258(10)	54.054(40)	39.437(14)	48.837(21)	42.697(19)
Manglares de Tumbes		14.035(3)	10.909(3)	22.695(16)	18.75(6)	17.722(7)	14.634(6)
Cañoncillo			21.429(3)	17.544(9)	10.811(2)	15.385(4)	18.182(5)
Balsares de Huanchaco				21.429(12)	40(7)	44(11)	41.509(11)
Chan Chan					33.058(20)	41.176(28)	34.532(24)
Choc Choc						44.068(13)	35.484(11)
Chimbote							62.338(24)

Fig. 6. Dendrograma de similitud entre las floras de los humedales costeros de Tres Palos, Manglares de Tumbes, Cañoncillo, Huanchaco, Chan Chan, Choc Choc, Chimbote y Pantanos de Villa.



Las formas de crecimiento (Tabla 2) dominantes fueron las hierbas (82.35%) seguidas de arbustos (15.69%) y lianas (1.96%). Esta información está de acuerdo con humedales de Chimbote¹⁸, con 85% de hierbas y un 10% de arbustos y 2% de lianas.

La identificación de 6 hábitats en la zona de estudio coincidió con lo reportado en Pantanos de Villa y humedales de Chimbote.^{11, 18} La figura 5 presenta que el mayor número de especies es para canales (31), seguido por gramadales (9), zona arbustiva (8), totoral (4), vega de ciperáceas (3) y Cuerpos de agua (3). Las especies restringidas a un solo hábitat pueden tomarse como indicadoras o biotipos, las especies útiles para este fin son *Distichlis spicata*, *Sporobolus virginicus*, *Paspalum vaginatum*, para el gramadal, *Cyperus laevigatus* para la vega de ciperáceas, en los canales se encuentran la mayoría de especies.

Uno de los biotipos más representativos de estos ecosistemas es *Scirpus californicus*, en el caso de Tres Palos no fue registrada, a pesar de que existen referencias de su existencia, pues las pozas fueron destruidas como consecuencia de los desbordes producidos por el Río Chicama a causa del fenómeno El Niño 97/98, que secó las pozas y afectó la calidad y cantidad de totora.⁶

En la Tabla 4 aparecen los valores de similitud y el agrupamiento, respectivamente, de Tres Palos y otros humedales de la costa peruana. (Ver Anexo Tabla 5) La mayor similitud ocurre con el humedal de Chan Chan (54.054%), seguido por Chimbote (48.837%), Pantanos de Villa (42.697%), Choc Choc (39.437%). Similitud media con Balsares de Huanchaco (32.258%), Manglares de Tumbes (24.176%) y bajo con Cañoncillo (18.75%). Al respecto, Rostworowski (1981)²², indica que originalmente estos espacios (humedales) se desarrollaban en toda la costa yuxtaponiéndose al desierto y acompañando a los ríos en sus desembocaduras al océano, pero han ido desapareciendo por diversas amenazas. Y perdiendo importantes especies antes registradas como es el caso para Pantanos de Villa,¹¹ y de Tres Palos (no se registró *S. californicus*)

La cercanía geográfica puede influir en los valores de similitud así como las comunidades vegetales presentes en los humedales,¹⁸ pese a la cercanía con los Balsares de Huanchaco el valor de similitud es medio probablemente debido a que la lista de géneros para Huanchaco es de estudios de 1994 y 1997,^{6, 9} y en estas áreas de cultivo exclusivamente totora y la diversidad biológica de otras especies vegetales es baja,⁵ como se trata de un área artificial, generalmente se elimina la flora que no es de aprovechamiento. Las amenazas para estos estudios han influido en su composición florística, por ende en los valores de similitud. Ahora estos “wachaques” o “valsares” que anteriormente pintaban de verde las playas desde Chan Chan hasta Santiago de Cao se han secado en su mayoría.²³

Los valores de similitud de Tres Palos con Manglares de Tumbes y Cañoncillo son medio y bajo respectivamente pues estos ecosistemas incluyen diferencias con respecto a un gramadal, y los humedales Tres Palos se presentan en un gramadal, con el predominio de *Distichlis spicata*. Además la variación de valores de similitud dependen también de los estudios florísticos.

La importancia de estos ambientes radica tanto para la conservación de especie de aves migratorias, como por constituirse en lugares propicios para promover la educación ambiental y el turismo. El conocimiento de la vegetación es importante para trazar planes de conservación a futuro o de recuperación de estos ecosistemas frágiles tan deteriorados en la actualidad.

CONCLUSIONES

- La flora vascular de los humedales Tres Palos está representada por 51 especies agrupadas en 22 familias.
- Las familias con mayor porcentaje de especies fueron: Asteraceae (15.69%), Poaceae (15.69%), Fabaceae (11.76%), Chenopodiace (5.88%) y Cyperaceae (5.88%).
- El valor mayor de similitud por géneros compartidos fue con los humedales de Chan Chan y el menor valor de similitud fue con Cañoncillo.
- El hábitat con mayor porcentaje de especies (32) fue el canal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Corporación Ambientes Acuáticos De Chile. Los humedales no pueden esperar: Manual para el Uso Racional del Sistema de Humedales Costeros de Coquimbo. Luna Quevedo, D. (ed.) 136pp, Santiago, Chile ISBN 956-8520-01-5. 2005.
2. RAMSAR. Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971), 4a. edición. Secretaría de la Convención de Ramsar, Gland (Suiza). 2006.
3. Evaluación de los Ecosistemas del Milenio. Los Ecosistemas y el Bienestar Humano: Humedales y Agua. Informe de Síntesis World Resources Institute, Washington, DC. 2005.v
4. Pronaturaleza. Los Humedales de la costa Peruana: documento base para la elaboración de una estrategia de conservación. G y G Impresores SAC. Lima. Perú. 2010.
5. Ñique M. Balzares de Huanchaco. In: Atlas Ambiental de la ciudad de Trujillo. Plan DEMETRU, Municipalidad Provincial de Trujillo. Trujillo, Perú. 2002.
6. Tresierra A, Alvítez E, León J. Caracterización de los Humedales Costeros de la Provincia de Trujillo. REBIOL 1997; 17(1y 2): 81-94.
7. Ñique M. Área de Conservación Regional “Humedales de Choc Choc” (Propuesta para el Gobierno Regional La Libertad, Perú). <http://www.oocities.org/humedalesperu/chochoc/ChocChoc.htm>. 2005.
8. Vidal J, Larco E, Ñique M, Alva B. Conservación ex situ de *Schoenoplectus californicus* (C.A.Mey) Soják Huanchaco (Trujillo-Perú). Rev Antenor Orrego 1993; 2(2): 17-27.
9. Tresierra A, Alvítez E, Díaz E. Cultivo *Schoenoplectus californicus*, “TOTORA” y el efecto de las lagunas de oxidación sobre los totorales de la Caleta de Huanchaco (Trujillo-Perú). REBIOL 1994; 14(1-2): 26-36.
10. Alvítez E, Fernández A, Peláez F, Medina C. Calidad ecológica de los humedales de la provincia de Trujillo, Perú, en base a la flora acuática. REBIOL 2012; 32(1): 64-103.
11. León B, Cano A, Young K. La flora vascular de los Pantanos de Villa, Lima, Perú. Adiciones y guía para las especies comunes. Publicaciones del Museo de Historia Natural-UNMSM 1995; (B) 38: 1-39.
12. Rodríguez E, Rojas R. El Herbario: Administración y Manejo de Colecciones Botánicas. Segunda Edición. Editado por Rodolfo Vásquez Martínez. Missouri Botanical Garden, Perú. 2006.
13. Sagástegui A, Leiva S. Flora invasora de los cultivos del Perú. Editorial Libertad E.I.R.L. Trujillo. 1993.
14. Brako, L, Zarucchi J. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. 1993. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Garden. 1993; 45:1-1286.
15. W3TROPICOS. Jardín Botánico de Missouri. Disponible en: <http://www.tropicos.org/>. 2013.
16. Alvítez E, Fernández M, Peláez F, Rodríguez E. Flora acuática del algarrobal El Cañoncillo, Pacasmayo, La Libertad, Perú. REBIOL 2007; 27 (1y 2): 78-88.
17. Rodríguez E. Inventario florístico del complejo arqueológico de Chan Chan, 2013. <http://www.ericrodriguezr.blogspot.com/>(citado 2013/08/29).
18. Arana C, Salinas L. Flora vascular de los Humedales de Chimbote, Perú. Rev. Peru. Biol. 2003; 10(2): 221-224.
19. INRENA. Plan Maestro del Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes 2007-2011. Lima. Perú, 2007.
20. Moreno CE. Métodos para medir la biodiversidad, Vol N° 1: Manuales y Tesis SEA. Zaragoza, 2001.
21. Mostacero J, Coico F, Gamarra O. Fanerógamas del Perú: Taxonomía, Utilidad y Ecogeografía. Editora Normas Legales S.A.C. Trujillo. 2009.
22. Rostworowski M. Recursos naturales renovables y pesca: siglos XVI y XVII. Inst Est Peruanos. 1981.
23. Cesma, ANREC. Pantanos de Huanchaco Reserva Chimú de Pesca artesanal. Trujillo. 2001.

Guía para los autores

La revista **REBIOL** es el órgano oficial de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo que publica investigaciones en los diversos campos de las Ciencias Biológicas y afines. Se admiten investigaciones científicas y tecnológicas que no estén publicados parcial ni totalmente o en estado de revisión en otro medio de publicación. La recepción de los informes es permanente y la prioridad de su publicación se hará de acuerdo al orden en el que fueron aceptados y aprobados. La publicación se realizará luego de ser sometido a un arbitraje anónimo por personas versadas.

Naturaleza de los informes.

Se acepta para publicaciones sólo aquellos informes de las categorías siguientes: **a) trabajos originales**, que son informes completos, orientados al registro de hechos o fenómenos y al desarrollo de conceptos (generalizaciones, leyes o teorías; **b) notas científicas**, que son artículos cortos, sobre asuntos muy específicos, que aportan al conocimiento, pero no necesariamente al desarrollo de conceptos, cuyos resultados son difícilmente verificables, debido a que son hechos o fenómenos muy esporádicos o la muestra es muy difícil de encontrar (también puede prepararse de esta manera sobre nuevos métodos, técnicas y aparatos y redactados de modo que no es posible su repetición por razones de propiedad industrial y otros; y **c) revisiones o monografías**, que son informes críticos en los que se reúnen, analizan y discuten informaciones ya publicadas y relativas a un solo tema.

Preparación del manuscrito

Los manuscritos deben ser redactados de modo impersonal, en una extensión máxima de 20 páginas para los trabajos originales, 10 para las notas científicas y 35 para las revisiones bibliográficas. Deben ser escritos a doble espacio, con márgenes de 3 cm a cada lado.

Se recomienda evitar errores gramaticales y de puntuación en el texto y seguir las normas internacionales relacionadas con la escritura de los nombres científicos, de números, de símbolos o abreviaturas de prefijos de pesos y medidas, matemáticos, estadísticos y químicos. Además, no se debe escribir palabras completamente con mayúscula, salvo para siglas y en las figuras.

Estructuración del manuscrito.

Los trabajos originales y las notas científicas deben estructurarse en este orden: **título** (en español e inglés, de una extensión aproximada a no mayor de las 20 palabras, sin abreviaturas, fórmulas químicas ni autores de taxa científicos), **autor(es)** y **dirección(es)**, **resumen y abstract** (en un solo párrafo y extensión aproximada a las 200 palabras), **introducción, material y métodos, resultados, discusión, reconocimientos** (opcional y sólo a personas que han contribuido significativamente a la investigación), **referencias bibliográficas**, **tabla(s) y/o figura(s)** (opcional) y leyendas de figuras. Con las mismas características, las revisiones, por su lado, deben estructurarse en este orden: **título, autor(es)** y **dirección(es)**, **tabla de contenidos, introducción, tópicos de revisión, reconocimientos** (opcional), **referencias bibliográficas, tablas y figuras** (opcional) y leyendas de figuras.

Las referencias y las citas bibliográficas deberán estructurarse acogiéndose a uno de los sistemas internacionales, de preferencia el de **Vancouver**. Las tablas sólo deben tener tres líneas horizontales y ninguna vertical, un título claro y entendible por sí mismo, sin necesidad de recurrir al texto y precedido de un número arábigo.

Descripción de los procedimientos para el manejo de los manuscritos

Los autores enviarán sus manuscritos al Editor (cjara@unitru.edu.pe) conjuntamente con una carta declarativa.

El Editor verifica si el material enviado se ajusta a la línea editorial de la revista. Si es conforme, el artículo es sometido a un sistema de arbitraje de pares (**peer review**), recurriendo a mínimo dos (02) revisores o evaluadores externos, para que en el plazo máximo

de quince días expresen sus opiniones (según la “**Hoja de Opinión**”), recomendando la aceptación o rechazo del artículo. Si el artículo no se ajusta a la línea editorial, el Editor se reserva el derecho de enviar un informe al autor para cambiar o rehacer su artículo, total o parcialmente, teniendo los autores que iniciar nuevamente el proceso de envío de su trabajo. En el peor de los casos, el manuscrito se rechaza y es comunicado a los autores, adjuntando un informe con las razones de la denegación. Los nombres de los revisores se mantienen en el anonimato para el(los) autor(es) durante todo el proceso. **Aunque, para facilitar el arbitraje, los autores pueden enviar una lista de cuatro (4) posibles revisores, especialistas en el tema del artículo, con sus respectivas direcciones de correo electrónico.**

Hoja de Opinión

Los revisores responden a las siguientes preguntas:

1. ¿El manuscrito representa una contribución nueva y original?
2. ¿El resumen es adecuado?
3. ¿Las palabras clave son las adecuadas?
4. ¿El material enviado especifica claramente el propósito del trabajo?
5. ¿El método, estrategia, intervención o experimento es idóneo, aplicable y replicable?
6. ¿Los resultados son válidos para otros contextos y realidades?
7. ¿Se logra el objetivo declarado?
8. ¿Se cita bibliografía adecuada y actualizada para el desarrollo del tema?
9. ¿Considera que las conclusiones están acordes con la información que se presenta?
10. ¿El material debe ser revisado en términos de estilo, ortografía y gramática?
11. ¿Cómo calificaría este manuscrito?

Sobresaliente __; Muy bueno __; Bueno __; Regular __; Deficiente __.

12. ¿El artículo es aceptable para su publicación?

SI, en su forma actual.

SI, con algunas modificaciones

SI, después de una revisión importante

NO, debe ser rechazado.

Tras el regreso de las opiniones, éstas se envían al autor para que tenga en cuenta las sugerencias y/o comentarios de los revisores y vuelva a presentar el manuscrito. Se repite el procedimiento hasta que no haya observaciones.

Nota

Mientras el manuscrito se esté evaluando para su publicación, no podrá ser enviado a otras revistas. Una vez aprobado para publicación, todos los derechos de reproducción total o parcial pasarán a la revista REBIOL.

Envíos

Los manuscritos deberán ser preparados en Word para Windows (formato electrónico y digital) y enviados a:

REBIOL

Av. Juan Pablo II s/n - Ciudad Universitaria

Facultad de Ciencias Biológicas

Universidad Nacional de Trujillo

Trujillo, Perú

Email: cjara@unitru.edu.pe