

REBIOL

REVISTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA



Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de Trujillo

Volumen 37, Número 2

Julio - Diciembre, 2017



ISSN: 2313-3171(En Línea)

LA TESIS EN EL NUEVO CURRÍCULO DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

Con la finalidad de preparar al estudiante y que demuestre que es capaz de hacer investigación científica y comunicarlo, está insertado curricularmente en todos los niveles: pregrado y posgrado (Segunda Especialidad, maestría y doctorado) en concordancia con la Ley Universitaria 30220 y Estatuto de la Universidad Nacional de Trujillo, vigentes, el desarrollo y sustentación de una **Tesis**.

En la currícula previa de la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología se tenía el **Sistema Implementado de la Generación y Evaluación de la Investigación del Trabajo Final de la Carrera Profesional (Tesis)**, en concordancia con el Criterio 3.1: Generación y Evaluación de Proyectos de Investigación con los estándares 46-55 del Modelo de Calidad para la Acreditación de las Carreras Profesionales Universitarias de Ciencias Biológicas, propuesta por el CONEAU y con el Plan Operativo de la Facultad de Ciencias Biológicas (POI); sin embargo, uno de los cinco **ejes curriculares de la nueva currícula** es investigación + desarrollo + innovación (I+D+I) que inserta a la esencia puramente cognoscitiva de las Tesis las nociones de desarrollo e innovación vinculados al sector productivo.

Para plasmar el mencionado eje curricular se plantea la Unidad de Competencia 5: investigación + desarrollo + innovación en la que el estudiante de pregrado, **“Formula y ejecuta proyectos de investigación con principios éticos en ciencia y tecnología, los difunde en eventos y revistas científicas para contribuir en la solución de necesidades de la sociedad”** y estos proyectos los desarrollará en el **Curso de Tesis I**, dirigido a proponer una investigación y plasmarlo en un proyecto (noveno ciclo) y en el **Curso de Tesis II**, en el cual se ejecuta la investigación (décimo ciclo). No obstante, si se tiene en cuenta que cronológicamente un ciclo dura cuatro meses, resulta corto el tiempo para cumplir por completo con lo propuesto en la Unidad de Competencia 5 referente a la publicación en revistas científicas, si se tiene en cuenta que estos medios de comunicación, sólo para aceptar el artículo, se toman tiempos mayores a seis meses. Entonces, queda por proponer mejoras al respecto, una de ellas podría ser la siguiente: que existan tres Cursos de Tesis (I, II y III en octavo, noveno y décimo ciclo): en Tesis I se propondría el proyecto, en Tesis II y primer mes de Tesis III se ejecutaría la investigación y el tiempo restante se redactaría el informe de Tesis bajo el formato de artículo científico, tal y como se hace en la Universidad Cayetano Heredia con buenos resultados porque todas las Tesis serían publicadas, a diferencia de lo que ocurre ahora que pocas son publicadas. Eso significaría, a su vez, que desaparezca el curso de Metodología de la Investigación Científica del VII ciclo.

Foto de la portada: Nombre científico: *Rhodopis vester* (Lesson, 1829). Nombre común: "Colibrí". Familia: Trochilidae Lugar: Área de Conservación Privada Lomas del Cerro Campana, Trujillo. Foto tomada por De La Vega Pando Luis Alberto, Polo Corro José Luis y Pollack Velásquez Luis Enrique.

REBIOL

Volumen N° 37, Número 2, Julio - Diciembre, 2017

Contenido/Contents

ARTÍCULOS ORIGINALES/ORIGINAL PAPERS

- Efecto del extracto acuoso de *Moringa oleifera* sobre el índice mitótico y la frecuencia de micronucleos en *Allium cepa*/Effect of the aqueous extract of *Moringa oleifera* on the mitotic index and the frequency of micronuclei in *Allium cepa*. FLORENCIA VERGARA QUISPE Y CARLOS QUIJANO-JARA ----- 5
- Efecto biocida de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante sobre larvas III de *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio/Biocidal effect of *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutant on larvae III of *Aedes aegypti* under laboratory conditions. WILLIAN BLAS-CERDÁN, GINA ZAVALA-ESPEJO, JOSÉ SALDAÑA-JIMÉNEZ, WILLIAN BLAS-ROEDER Y DEYVI MELÉNDEZ-RODRÍGUEZ-----14
- Efecto sinérgico del 2,4-Diclorofenoxiacético y el Bencilaminopurina en la inducción de callos de *Jatropha macrantha* (Euphorbiaceae)/Synergistic effect of 2,4-Diclorofenoxiacético and Bencilaminopurina in the callus induction of *Jatropha macrantha* (Euphorbiaceae). ANGÉLICA LÓPEZ ZAVALA Y ELOY LÓPEZ MEDINA-----22
- Selección de levaduras nativas productoras de etanol a partir de “chicha de jora” elaborada artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú/Selection of native yeasts ethanol producing from "chicha de jora" Handcrafted in the district of Santiago de Chuco, La Libertad-Peru. ANÍBAL QUINTANA DÍAZ, EVA E. VILLANUEVA TARAZONA, PEDRO A. ALVARADO SALINAS Y LUIS A. LLENQUE DÍAZ-----27
- Cinética de inactivación térmica de *Salmonella* sp. en jugo de fresa, *Fragaria* sp./ Kinetics of thermal inactivation of *Salmonella* sp. in juice of *Fragaria* sp. LUIS A. LLENQUE-DÍAZ, ANÍBAL QUINTANA-DÍAZ, EVA E. VILLANUEVA DE CUEVA, NELVER A. MORENO-RUIZ Y ROSA M. SEGURA-VEGA-----36
- Enterobiasis en niños menores de 6 años del distrito Víctor Larco Herrera (Trujillo, Perú). 2016/Enterobiasis among children under six years-old from Victor Larco Herrera district (Trujillo, Peru). 2016. FLOR DEL CARMEN SORIANO Y CÉSAR A. JARA-----44
- Socioepidemiología de las helmintiasis intestinales en perros de casa (*Canis familiaris*) y los riesgos en la comunidad. Chiclayo-Perú. 2015-2018/Socioepidemiology of the gastrointestinal helminthiasis in house dogs (*Canis familiaris*) and risk factors. Chiclayo-Peru. 2015-2018. RUTH ALVA FERNÁNDEZ Y CÉSAR A. JARA -----53
- Efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)/Effect of temperature on the development cycle of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). ROBERT MARQUINA-BAZÁN AÍDA CARBAJAL DE WILSON-----63
- Pesquería del pejerrey, *Odontesthes regia regia*, en Puerto Casma, Ancash (Perú). 2010-2015/Fisheries of *Odontesthes regia regia* in Casma Port, Ancash (Peru). 2010-2015.

BILMIA VENEROS URBINA, ELENA ICOCHEA BARBARÁN, NANCY CORDOVA ROSARIO Y CRISTIAN
GELDRES CRUZ-----70

POLITICA EDITORIAL

- Guía para los autores -----77



Efecto del extracto acuoso de *Moringa oleifera* sobre el índice mitótico y la frecuencia de micronucleos en *Allium cepa*

Effect of the aqueous extract of *Moringa oleifera* on the mitotic index and the frequency of micronuclei in *Allium cepa*

Florencia Vergara Quispe y Carlos Quijano-Jara

Laboratorio de Genética de Poblaciones. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú

RESUMEN

Moringa oleifera es usada alrededor del mundo debido a que se le atribuye diversas propiedades medicinales; sin embargo, poco se sabe sobre sus efectos adversos sobre el material genético. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del extracto acuoso de semillas de *M. oleifera* sobre el índice mitótico y la frecuencia de micronúcleos utilizando el test *Allium*. Se expusieron las raíces de *Allium cepa* a 0.05, 0.1, 0.5 y 1g/L de extracto acuoso de semillas de *M. oleifera* durante 8 horas y se analizaron las raicillas a las 0, 48 y 72 horas de recuperación. A partir de las 48 horas se evidenció daño citotóxico con disminución del índice mitótico en todas las raíces expuestas al extracto con respecto al tratamiento 0 g/L y sin alterar el índice de cada fase mitótica. No se observaron diferencias significativas en las frecuencias de micronúcleos entre los tratamientos. Las alteraciones del IM pueden deberse a la presencia de sustancias desconocidas o poco estudiadas, que se encuentran presentes en *M. oleifera*, tales como glucosinolatos, isotiocianatos, etc.

Palabras clave: Extracto acuoso, *Moringa*, Índice Mitótico, Micro núcleos

ABSTRACT

Moringa oleifera is used around the world because it is attributed various medicinal properties; however, little is known about their adverse effects on the genetic material. The objective of this study was to evaluate the effect of the aqueous extract of *M. oleifera* seeds on the mitotic index and the frequency of micronuclei using the *Allium* test. The roots of *Allium cepa* were exposed to 0.05, 0.1, 0.5 and 1g / L of aqueous extract of seeds of *M. oleifera* during 8 hours and rootlets were analyzed at 0, 48 and 72 hours of recovery. After 48 hours, cytotoxic damage was observed with mitotic index decrease in all the roots exposed to the extract with respect to the treatment 0 g / L and without altering the index of each mitotic phase. No significant differences were observed in the micronucleus frequencies between the treatments. The alterations of the IM can be due to the presence of unknown or little studied substances, which are present in *M. oleifera*, such as glucosinolates, isothiocyanates, etc.

Keywords: Aqueous extract, *Moringa*, Mitotic Index, Micronuclei

INTRODUCCIÓN

A través de la historia el hombre ha usado las plantas para satisfacer sus necesidades con propósitos medicinales y todos estos conocimientos han transmitido por tradición a través de las generaciones^{1,2}. Se estima que la frecuencia de uso es mayor en los países en vía de desarrollo, debido a la inaccesibilidad de los tratamientos^{3,4}.

Moringa oleifera “moringa” fue introducida oficialmente al Perú en 1999⁵, es la especie más conocida del género *Moringa* y pertenece a la familia Moringaceae, siendo el único género encontrado⁶. Es oriunda del noroeste de la India, se encuentra ampliamente distribuido por toda la India, Asia occidental, península Arábiga, África del Este y del Oeste, Caribe, Florida, Centroamérica y América del Sur^{6,7}. Presenta un alto contenido de carbohidratos, proteínas, vitaminas, flavonoides, ácidos grasos poliinsaturados, alcaloides, isotiocianatos, saponinas, oxalatos, minerales, entre otros nutrientes^{8,9} y se cree que sus propiedades pueden aliviar más de 300 enfermedades¹⁰.

Entre los beneficios que se le puede atribuir está la capacidad analgésica¹¹ propiedades antiinflamatorias¹², antidiabética, restaurador de tejidos¹³, para tratar la gastritis¹⁴, la hipertensión¹⁵, como antioxidantes y anticancerígenas¹⁶.

El uso de productos naturales con fines medicinales, aumentan cada día más, sin embargo, se han encontrado evidencias de que plantas, consideradas como medicinales, presentan alta concentración de sustancias como los alcaloides y los glúcidos cianogénicos, que producen toxicidad a nivel celular^{17,18}. En el caso de *M. oleifera* L existen diversas investigaciones donde se observa toxicidad debido a su forma de empleo; tal como, Canett, et al.¹⁹ que llegaron a la conclusión de que las partes potencialmente tóxicas vendrían a ser la raíz, la corteza y las semillas debido a que presentan sustancias tóxicas para el organismo, como moringina, moringinina, spirochin y bencil isocianato. Algunos autores encontraron moringa puede ocasionar daño hepático y renal²⁰, citotoxicidad²¹ y genotoxicidad²².

Existen diversos ensayos para determinar la genotoxicidad y citotoxicidad de ciertas sustancias, entre los cuales encontramos ensayos *in vitro* como son los cultivos de ciertas líneas celulares de tejidos²³ y los ensayos *in vivo* en los que se utilizan organismos modelo como *Mus musculus*²⁴, *Artemia salina*²⁵, *Drosophila melanogaster*²⁶, *Lactuca sativa*, *Lepidium sativum*²⁷, *Vicia faba*²⁸, *Allium cepa*²⁹, entre otras especies.

El test *Allium* fue usado por primera vez por Levan³⁰ y desde entonces ha venido siendo usado por diferentes investigadores hasta la actualidad. Se ha empleado para observar alteraciones producidas por diferentes sustancias como químicos y pesticidas³¹, control ambiental³² y extractos naturales³³. Este test ha sido reconocido por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, quienes bajo el Programa Gene-Tox, indicaron que el Test *Allium* es un test recomendado para mostrar el efecto mutagénico de ciertas sustancias, debido a su alto grado de sensibilidad³⁴.

La inaccesibilidad de muchos fármacos sumado a nuestras costumbres ancestrales ha llevado a muchas personas en nuestro país a buscar remedios naturales para combatir diversas enfermedades. Las semillas de “moringa” han alcanzado un mayor impacto que las hojas y han comenzado a usarse de distintas formas y dosis; dejando de lado que el uso inadecuado de sustancias puede llegar a ser nocivo para la salud, ante lo cual es necesario llevar a cabo una serie de análisis que determinen su toxicidad a diferentes niveles, como por ejemplo a nivel del ciclo celular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico.

Se compró semillas de *M. oleifera* “moringa” de la Asociación de Agricultores del valle encantado el Progreso – Patapo, Chiclayo, junto con material vegetal necesario para realizar la identificación, la cual se hizo en el “*Herbarium Truxillense*”.

Obtención de extractos de *Moringa oleifera*.

Las semillas fueron lavadas, secadas y peladas, eliminando la cascara que los cubría, se procedió a pulverizar las semillas y se hizo una solución madre (SM), que se obtuvo diluyendo un gramo de semilla de *Moringa oleifera* en un litro de agua destilada (1g/L). Esta mezcla se colocó por 30 minutos

en un homogenizador magnético y luego se filtró en papel filtro Watman N°1, para eliminar algunas partículas no disueltas³⁵.

Enraizamiento de bulbos de *Allium cepa* L.

Se colocaron bulbos de *Allium cepa*, sin las raíces ni catafilas secas, en agua mineral embotellada en oscuridad con la finalidad de obtener raíces de 3 a 4 cm. El agua se renovó cada 24 horas durante tres días, para los tratamientos se utilizaron bulbos que se encontraban en buen estado y que presentaban como mínimo 10 raíces de tamaño homogéneo³⁶.

Diseño experimental.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. A partir de la solución madre se diluyó con agua destilada para obtener concentraciones de 1, 0.5, 0.1 y 0.05 g/L, se consideró también un grupo control consistente en agua mineral (0 g/L). Se asignaron los tratamientos aleatoriamente y se dejaron los bulbos por un lapso de 8 horas, cumplido el tiempo se colectó la primera muestra de las raíces, la cual fue colocada en 5 mL con Carnoy; los bulbos fueron colocados en agua mineral donde inició el tiempo de recuperación y pasados las 48 y 72 horas se colectó muestras de raíces.

Obtención de preparados citológicos.

Las raíces fijadas fueron refrigeradas a 4 grados hasta el momento de su coloración y análisis. Se utilizó el protocolo de Tjio & Leván³⁷ modificado para la tinción, se agregó una proporción de 9 gotas de Orceína acética al 2% por 2 gota de HCl al 1.5N, dejándolo colorear por un tiempo de 1 hora, luego se utilizó la técnica de aplastamiento o “squash”.

Determinación del Índice Mitótico e Índice de Fases.

Para el análisis de índice mitótico se utilizó un microscopio compuesto con el objetivo 40X; se contó usando la técnica de barrido, aproximadamente 2000 células por unidad experimental. Una vez obtenida la cantidad de células en cada fase se usó la fórmula descrita por Berrocal, et al.³⁸, para hallar el Índice Mitótico (IM) y el Índice de cada fase mitótica (IF):

$$IM = \frac{\text{Número de células en división}}{\text{Número de células totales}} \times 100\%$$

$$IF = \frac{\text{Número de células por fase mitótica}}{\text{Número de células en división}} \times 100\%$$

Determinación de micronúcleos.

Para el análisis de micronúcleos se utilizó un microscopio compuesto con el objetivo 40x; se contó, usando la técnica de barrido, aproximadamente 2000 células por unidad experimental.

Análisis estadístico.

Los datos obtenidos fueron organizados mediante tablas y gráficos; y se utilizó análisis de varianza para determinar diferencias significativas el índice mitótico y micronúcleos de los tratamientos, luego se hizo uso de prueba de contrastación de Tukey. Se utilizará el software InfoStat versión libre actualizada el 18-07-2017 para Windows.

RESULTADOS

Se encontró que a las 0 horas el porcentaje de índice mitótico aumentó conforme aumenta la concentración de *M. oleífera*, entre 0,05 y 0,5 g/L, pero que cuando se utiliza 1 g/L disminuye (Tabla 1), que las 48 horas de tratamiento hay un súbito aumento en el porcentaje cuando se emplea 0.05 a 1.0 g/L y disminuye, luego, a mayores concentraciones del vegetal (Tabla 2). Por el contrario, a las 72 horas de tratamiento el porcentaje disminuye de cuando se usa 0.05 a 1.0 g/L y luego vuelve a disminuir (Tabla 3).

Cuando se analizó el porcentaje de micronúcleos por cada 2000 células se encontró que conforme aumenta el tiempo de exposición de 0 a 48 y luego a 72 horas, el porcentaje aumenta (Tabla 4, Figs. 1 y 2).

Tabla 1 Índices mitóticos y de fases mitóticas ($\bar{X} \pm SD$) a las 0 horas de recuperación en raíces de *Allium cepa* L. var. roja arequipeña, tratadas con extracto acuoso de semillas de *Moringa oleífera* L. a diferentes concentraciones

TRATAMIENTOS	INDICE MITÓTICO (%)	FASE MITÓTICA (%)			
		Profase	Metafase	Anafase	Telofase
0 g/L	11.36 ± 0.44a	54.69 ± 5.93a	9.02 ± 2.29a	10.31 ± 0.77a	26.75 ± 6.59a
0.05 g/L	11.87 ± 0.62a	57.69 ± 9.46a	9.51 ± 2.61a	7.62 ± 2.38ab	25.18 ± 4.90a
0.1 g/L	11.90 ± 0.83a	59.08 ± 5.44a	10.06 ± 1.37a	8.54 ± 1.29ab	22.32 ± 4.73a
0.5 g/L	11.94 ± 0.31a	57.50 ± 1.64a	11.89 ± 0.43a	8.10 ± 2.72ab	22.51 ± 3.91a
1 g/L	10.77 ± 0.26a	59.33 ± 6.48a	8.67 ± 1.73a	4.47 ± 1.61b	27.53 ± 6.13a

Valores con letra común no son significativamente diferentes (p>0.05)

Tabla 2 Índices mitóticos y de fases mitóticas ($\bar{X} \pm SD$) a las 48 horas de recuperación en raíces de *Allium cepa* L. var. roja arequipeña, tratadas con extracto acuoso de semillas de *Moringa oleífera* L. a diferentes concentraciones

TRATAMIENTOS	INDICE MITÓTICO (%)	FASE MITÓTICA (%)			
		Profase	Metafase	Anafase	Telofase
0 g/L	13.00 ± 0.38a	59.01 ± 5.02a	10.26 ± 0.33a	6.98 ± 1.93a	23.75 ± 2.78a
0.05 g/L	11.13 ± 0.53b	57.89 ± 10.14a	11.23 ± 3.14a	6.84 ± 3.40a	24.03 ± 4.19a
0.1 g/L	10.98 ± 0.70b	59.57 ± 4.83a	12.63 ± 3.00a	5.84 ± 3.42a	21.96 ± 0.77a
0.5 g/L	11.39 ± 0.53b	56.83 ± 2.93a	12.49 ± 1.43a	6.78 ± 0.88a	23.89 ± 3.03a
1 g/L	11.28 ± 0.16b	50.65 ± 3.77a	14.38 ± 1.95a	9.18 ± 3.65a	25.78 ± 4.22a

Valores con letra común no son significativamente diferentes (p>0.05)

Tabla 3 Índices mitóticos y de fases mitóticas ($\bar{X} \pm SD$) a las 72 horas de recuperación en raíces de *Allium cepa* L. var. roja arequipeña, tratadas con extracto acuoso de semillas de *Moringa oleífera* L. a diferentes concentraciones

TRATAMIENTOS	INDICE MITÓTICO (%)	FASE MITÓTICA (%)			
		Profase	Metafase	Anafase	Telofase
0 g/L	14.12 ± 0.68a	52.97 ± 1.07a	12.01 ± 3.77a	8.38 ± 0.14a	27.86 ± 2.61a
0.05 g/L	10.76 ± 0.58b	54.28 ± 5.81a	11.33 ± 1.86a	7.02 ± 1.13a	27.37 ± 5.86a
0.1 g/L	10.52 ± 0.63b	53.73 ± 6.14a	12.67 ± 1.58a	7.25 ± 1.35a	26.36 ± 6.71a
0.5 g/L	10.67 ± 0.75b	54.22 ± 1.55a	11.41 ± 1.53a	10.12 ± 3.48a	24.25 ± 3.21a
1 g/L	12.00 ± 0.91b	60.81 ± 4.88a	9.79 ± 2.74a	8.10 ± 0.67a	21.30 ± 2.11a

Valores con letra común no son significativamente diferentes (p>0.05)

Tabla 4. Índice de células que presentaron micronúcleos ($\bar{X} \pm SD$) encontrados en las raíces de *Allium cepa* L. var. roja arequipeña, tratada con extracto acuoso de semillas de *Moringa oleifera* L. a diferentes concentraciones

TRATAMIENTOS	Micronúcleos (% para 2000 células)		
	0h	48h	72h
0 g/L	0 ± 0a	0.00 ± 0a	0.33 ± 0.58 ^a
0.05 g/L	0.33 ± 0.58a	0.33 ± 0.58a	2.00 ± 1.00ab
0.1 g/L	0.67 ± 0.58a	0.67 ± 0.58a	2.67 ± 1.15ab
0.5 g/L	0.67 ± 0.58a	1.00 ± .100a	1.00 ± 0.00ab
1 g/L	0.67 ± 0.58a	0.67 ± 0.58a	2.33 ± 0.58ab

Valores con letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

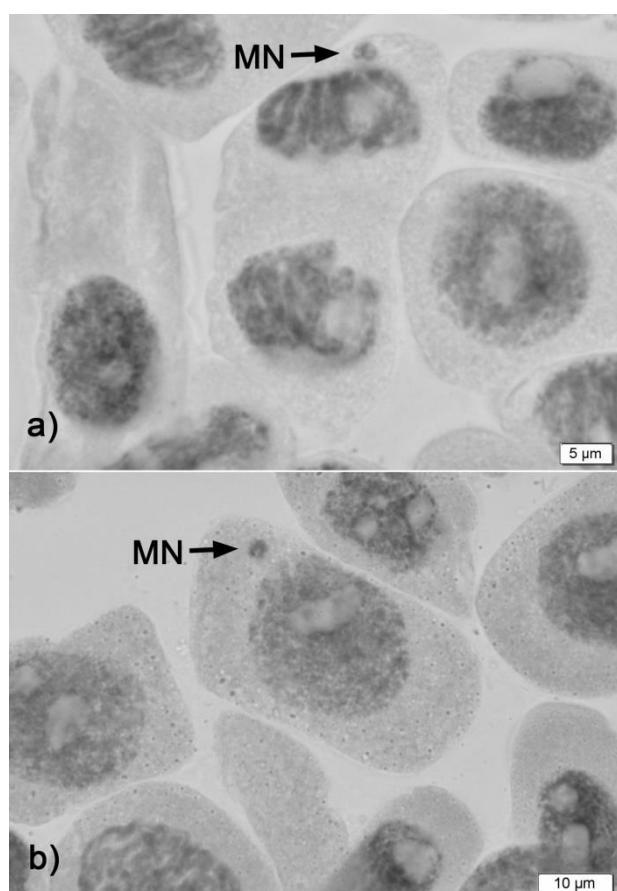


Fig. 1. Células que presentan Micronúcleos (MN) a) célula en telofase que presenta micronúcleo y b) célula en interfase con micronúcleo. Microfotografías obtenidas con el Microscopio Olympus Trinocular BX41 a 1000A.

DISCUSIÓN

El test *Allium* presenta un alto grado de sensibilidad a sustancias tóxicas³⁹, se suele usar como parámetro el índice mitótico (IM) cuya variación significativa sirve como evidencia de daño o inhibición de la división celular⁴⁰.

En el presente estudio se encontró que a las 48 y 72 (Tabla 2 y 3) horas hubo disminución estadísticamente significativa de los índices mitóticos de los tratamientos concordando con lo

afirmado por Malakahmad, et al. ⁴¹ indicando que la disminución del índice mitótico se debe a la presencia de una sustancia citotóxica que va a inhibir las actividades del ciclo celular.

Existen diferentes formas por las cuales se puede modificar el ciclo celular, por ejemplo cuando el daño ocurre en las proteínas que regulan estos procesos, lleva a la célula a seguir una vía apoptótica intrínseca o bloquear el pase de un etapa a otra⁴²; pero también puede deberse a un daño directo en el ADN, el cual lleva a detener el ciclo celular en la fase G2 o después de la mitosis, en la fase G1⁴³; es por ello que no se observó diferencias significativas del IM a la 0 horas del tiempo de recuperación (Tabla 1), pero en el tiempo, el IM se vio afectado mostrando diferencias significativas en relación con el tratamiento 0g/L. Estudios demuestran que las sustancias tóxicas pueden afectar el IM acelerando o disminuyendo el tiempo en que la célula demora en cada fase mitótica⁴⁴, pero en el presente estudio no ocurrió este tipo de alteración y se puede observar en la Tabla 1, 2 y 3 que las frecuencias de las fases no presentan diferencias significativas.

Elsayed, et al. ⁴⁵ reportaron que la semillas de *Moringa oleifera* contenían aceites esenciales que eran citotóxicos para varios tipos de líneas celulares cancerígenas; pero es Adebayo, et al. ⁴⁶ quienes compararon la citotoxicidad del extracto acuoso de *M. oleifera* en una línea celular cancerígena MCF7 y en una línea celular normal de mama MCF 10A y llegaron a la conclusión que producía un mayor efecto antiproliferativo en células normales que en células cancerosas. La presencia de diferencias significativas en los IM encontrados a las 48 y 72 horas, nos asegura una acción citotóxica, pero la ligera variación encontrada podría corroborarse con lo indicado por Maiyo, et al.⁴⁷ que afirman que podría haber cierta selectividad de la sustancias de *M. oleifera* para inducir a apoptosis.

Los micronúcleos son fragmentos (Figura 1) anormales de cromosomas que se encuentran en el citoplasma, estos son productos de ruptura del ADN y se usa para evaluar el daño y la citotoxicidad del ADN⁴⁸. En la presente investigación se encontró baja frecuencia de células con micronúcleos (Tabla 4) y no observándose diferencias significativas entre los tratamientos; sin embargo es necesario contrastar estos resultados utilizando el test cometa⁴⁹.

El tiempo de exposición usado fue relativamente corto en comparación a estudios que se realizaron con ratones, mostraron citotoxicidad al exponerlos por un tiempo prolongado al extracto etanólico de semillas de “moringa”, donde concluyeron que esta sustancia podría causar daño necrosis en el hígado y reducción del pH del semen en los individuos machos, que podría llevar a una posible infertilidad ⁵⁰. Kim, et al. ⁵¹ también encontraron toxicidad al cebar por 14 días a ratas, con un extracto etanólico suplementado con un isotiocianato de *M.oleifera*, que ocasionó la muerte en su más alta dosis y en las dosis intermedias, necrosis en órganos reproductores y distensión gastrointestinal.

Aunque no se conoce cuál es el compuesto exacto que causa tales daños, se le podría atribuir a la presencia de dos tipos desconocidos de glucosinolatos o la presencia de isotiocianatos⁵², que pueden ocasionar diversas respuestas en los individuos y en ciertas ocasiones llegar a ocasionar daño genotóxico⁵³.

Se recomienda hacer un estudio fitoquímico de las sustancias presentes en el extracto acuoso de las semillas de *M. oleifera* y a la vez estudiar la genotoxicidad de ellas mediante cariotipos para buscar mayores evidencias de aneuploidía y test cometa para observación de rupturas de ADN. En conclusión, las concentraciones del extracto acuoso de semillas de *Moringa oleifera* disminuye el índice mitótico a las 48 y 72 horas de recuperación con diferencias significativas con respecto a un tratamiento control (0 g/L) y sin diferencias significativas en las fases. No se observan diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias de micronúcleos de los tratamientos utilizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salaverry O, Cabrera J. Florística de algunas plantas medicinales. Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública, 2014; 31(1):165-168.
2. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2013; 1830(6), 3670-3695. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.02.008
3. Oblitas G, Hernández-Córdova G, Chiclla M, Antich-Barrientos M, Ccorihuamán-Cusitito L, Romani F. Empleo de plantas medicinales en usuarios de dos hospitales referenciales del Cusco, Perú. Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública, 2013; 30(1):64-68.
4. Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional 2014-2023. China: Hong Kong SAR, 2013. Disponible en http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf

5. Fretel A. *Moringa*, el árbol de la vida. 2014. Disponible en <http://diariocorreo.pe/ciudad/moringa-el-arbol-de-la-vida-551177/>
6. Bonal RR, Rivera ORM, Bolívar CME. *Moringa oleifera*: una opción saludable para el bienestar. MEDISAN, 2012; 16(10):1596-1599.
7. Ramachandran C, Peter KV, Gopalakrishnan PK. Drumstick (*Moringa oleifera*): A Multipurpose Indian Vegetable. Economic Botany, 1980; 34: 276-283. doi:10.1007/BF02858648
8. Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. International journal of molecular sciences, 2015; 16(6):12791-12835. doi: 10.3390/ijms160612791
9. Nweze NO, Nwafor FI. Phytochemical, proximate and mineral composition of leaf extracts of *Moringa oleifera* Lam. from Nsukka, South-Eastern Nigeria. IOSR J Pharmacy and Biol Sci. 2014; 9(1):99-103.
10. Sujatha BK, Patel P. *Moringa oleifera*-Nature's Gold. Imperial J Interdisciplinary Res. 2017; 3(5):1175-1179.
11. Bhattachary A, Agrawal D, Sahu PK, Kumar S, Mishra SS, Patnaik S. Analgesic effect of ethanolic leaf extract of *Moringa oleifera* on albino mice. Indian J Pain, 2014; 28:89-94. doi: 10.4103/0970-5333.132846
12. Minaiyan M, Asghari G, Taheri D, Saeidi M, NasrEsfahani S. Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. AJP, 2014; 4(2):18-24.
13. Al-Malkil AL, El Rabey HA. The Antidiabetic Effect of Low Doses of *Moringa oleifera* Lam. Seeds on Streptozotocin Induced Diabetes and Diabetic Nephropathy in Male Rats. BioMed Res Internat. 2015:1-13. doi: 10.1155/2015/381040
14. Ofem OE, Ikip EE, Archibong AN, Chukwu JA. *Moringa oleifera* Lam extract attenuates gastric ulcerations in high salt loaded rats. European Journal of Biological Research, 2017; 7(1):59-67. doi: 10.5281/zenodo.290641
15. Osameyan TA. Comparative evaluation of the hypotensive effects of the seed and leaf extracts of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) in laboratory animals. [Tesis Doctoral] Ahmadu Bello University, Zaria, Nigueria, 2015.
16. Charoensin S. Antioxidant and anticancer activities of *Moringa oleifera* leaves. J Medicinal Plants Res. 2014; 8(7):318-325. doi: 10.5897/JMPR2013.5353
17. Jaramillo CJ, Espinoza AJ, D'Armas H, Troccoli L, de Astudillo LR. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. Rev Biol Trop. 2016; 64(3):1171-1184.
18. Soria N, Ramos P. Uso de plantas medicinales en la atención primaria de salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. Mem Inst Investig Ciencias de la Salud, 2015; 13(2):08-17. doi: 10.18004/Mem.iics/1812-9528/2015.013(02)08-017
19. Canett-Romero R, Arvayo-Mata KL, Ruvalcaba-Garfias NV. Aspectos tóxicos más relevantes de *Moringa oleifera* y sus posibles daños. Biotecnia, 2014; 16(2):36-43.
20. Oyagbemi AA, Omobowale TO, Azeez IO, Abiola JO, Adedokun RA, Nottidge HO. Toxicological evaluations of methanolic extract of *Moringa oleifera* leaves in liver and kidney of male Wistar rats. J Basic and Clin Physiol and Pharmacol, 2013; 24(4):307-312. doi: 10.1515/jbcpp-2012-0061
21. Ajibade TO, Arowolo R, Olayemi FO. Phytochemical screening and toxicity studies on the methanol extract of the seeds of *Moringa oleifera*. J Complementary and Integrative Medicine, 2013; 10(1): 11-16. doi: 10.1515/jcim-2012-0015
22. Asare GA, Gyan B, Bugyei K, Adjei S, Mahama R, Addo P. Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels. J Ethnopharmacol, 2012; 139(1):265-272. doi: 10.1016/j.jep. 2011.11.009
23. Juneja VR, McGuire KA, Manguso RT, LaFleur MW, Collins N, Haining WN, et al. PD-L1 on tumor cells is sufficient for immune evasion in immunogenic tumors and inhibits CD8 T cell cytotoxicity. J Exp Med. 2017; jem-20160801. doi: 10.1084/jem.20160801
24. Matsuyama R, Kitamoto S, Tomigahara Y. Lack of genotoxic potential of permethrin in mice evaluated by the comet assay and micronucleus test. Toxicological & Environmental Chemistry, 2018; 100(1), 92-102. doi: 10.1080/02772248.2017.1401627
25. Yan C, Yang F, Wang Z, Wang Q, Seitz F, Luo Z. Changes in arsenate bioaccumulation, subcellular distribution, depuration, and toxicity in *Artemia salina nauplii* in the presence of titanium dioxide nanoparticles. Environm Sci: Nano, 2017; 4(6), 1365-1376. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.03.009
26. Ng C T, Yong LQ, Hande MP, Ong CN, Yu LE, Bay BH, Baeg GH. Zinc oxide nanoparticles exhibit cytotoxicity and genotoxicity through oxidative stress responses in human lung fibroblasts and *Drosophila melanogaster*. Intern J Nanomedicine, 2017; 12:1621-1637. doi: 10.2147/IJN.S124403
27. Khan AH, Libby M, Winnick D, Palmer J, Sumarah M, Ray MB, Macfie S. M. Uptake and phytotoxic effect of benzalkonium chlorides in *Lepidium sativum* and *Lactuca sativa*. J Environm Management, 2018; 206:490-497. doi: 10.1016/j.jenvman.2017.10.077

28. Hu Y, Tan L, Zhang SH, Zuo YT, Han X, Liu N, et al. Detection of genotoxic effects of drinking water disinfection by-products using *Vicia faba* bioassay. *Environm Sci and Pollution Res*, 2017; 24(2):1509-1517. doi: 10.1007/s11356-016-7873-9
29. Datta S, Singh J, Singh J, Singh S, Singh S. Assessment of genotoxic effects of pesticide and vermicompost treated soil with *Allium cepa* test. *Sustainable Environ Res*, 2018. doi: 10.1016/j.serj.2018.01.005
30. Levan A. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas*, 1938 24(9):471-486. doi: 10.1111/j.1601-5223.1938.tb03221.x
31. Fatma F, Verma S, Kamal A, Srivastava A. Phytotoxicity of pesticides mancozeb and chlorpyrifos: correlation with the antioxidative defence system in *Allium cepa*. *Physiol and Mol Biol of Plants*, 2018; 24(1):115-123. doi: 10.1007/s12298-017-0490-3
32. Rahman MM, Rahman MF, Nasirujjaman K. A study on genotoxicity of textile dyeing industry effluents from Rajshahi, Bangladesh, by the *Allium cepa* test. *Chem and Ecol*, 2017; 33(5):434-446. doi: 10.1080/02757540.2017.1316491
33. Ciappina AL, Ferreira FA, Pereira IR, Sousa TR, Matos FS, Reis PRM, et al. Toxicity of *Jatropha curcas* L. latex in *Allium cepa* test. *Bioscience J*, 2017; 33(5):1295-1304. doi: 10.14393/BJ-v33n5a2017-33835
34. Grant WF. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations—a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1999; 426(2):107-112. doi: 10.1016/S0027-5107(99)00050-0
35. Ndabigengesere A, Narasiah KS, Talbot BG. Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. *Water Res*, 1995; 29(2):703-710. doi: 10.1016/0043-1354(94)00161-Y
36. Mustafa Y, Suna AE. Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Caryologia*, 2008; 61(1):45-52. doi: 10.1080/00087114.2008.10589608
37. Tjio JH, Levan A. The use of oxyquinoline in chromosome analysis. *Anal. Estac. Expl. Aula Dei.*, 1950; 2:21-64. Disponible en <https://digital.csic.es/handle/10261/33645>
38. Berrocal AM, Blas RH, Flores J, Siles MA. Evaluación del potencial mutagénico de biocidas (vertimec y pentacloro) sobre cebolla. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2013; 15(1):17-27
39. Ragazzo P, Feretti D, Monarca S, Dominici L, Ceretti E, Viola G, et al. Evaluation of cytotoxicity, genotoxicity, and apoptosis of wastewater before and after disinfection with performic acid. *Water research*, 2017; 116:44-52. doi: 10.1016/j.watres.2017.03.016
40. Kumar G, Pandey A. Ethyl methane sulphonate induced changes in cyto-morphological and biochemical aspects of *Coriandrum sativum* L. *J of the Saudi Society of Agricultural Sci*, 2018. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X17303673>
41. Malakahmad A, Manan TSBA, Sivapalan S, Khan T. Genotoxicity assessment of raw and treated water samples using *Allium cepa* assay: evidence from Perak River, Malaysia. *Environ Sci and Pollution Res*, 2017; 25(6):421-5436. doi: 10.1007/s11356-017-0721-8
42. Bortolotto LFB, Barbosa FR, Silva G, Bitencourt TA, Belebony RO, Baek SJ, et al. Cytotoxicity of trans-chalcone and licochalcone A against breast cancer cells is due to apoptosis induction and cell cycle arrest. *Biomed & Pharmacother*, 2016; 85:425-433. doi: 10.1016/j.biopha.2016.11.047
43. Barr AR, Cooper S, Heldt FS, Butera F, Stoy H, Mansfeld J, et al. DNA damage during S-phase mediates the proliferation-quiescence decision in the subsequent G1 via p21 expression. *Nature communications*, 2017; 8: 14728. doi: 10.1038/ncomms14728
44. Hannah C, Priya EJS, Mammen A. Duration dependent mutagenic study of Cola drinks on *Allium cepa* L. *Biosciences Biotech Res Asia*, 2010; 7(2):807-812.
45. Elsayed EA, Sharaf-Eldin MA, Wadaan M. In vitro evaluation of cytotoxic activities of essential oil from *Moringa oleifera* seeds on HeLa, HepG2, MCF-7, CACO-2 and L929 cell lines. *Asian Pacific J Cancer Prevention*, 2015; 16(11):4671-4675. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.11.4671
46. Adebayo IA, Arsad H, Samian MR. Antiproliferative effect on breast cancer (Mcf7) of *Moringa oleifera* seed extracts. *African J Traditional, Complementary, and Alternative Med*, 2017; 14(2):282 -287. doi: 10.21010/ajtcam.v14i2.30
47. Maiyo FC, Moodley R, Singh M. Cytotoxicity, antioxidant and apoptosis studies of quercetin-3-O glucoside and 4-(β -D-glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl isothiocyanate from *Moringa oleifera*. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2016; 16(5):648-656. doi: 10.2174/1871520615666151002110424
48. Alimba CG, Aladeyelu AM, Nwabisi IA, Bakare AA. Micronucleus cytome assay in the differential assessment of cytotoxicity and genotoxicity of cadmium and lead in *Amietophrynus regularis*. *EXCLI Journal*, 2018; 17: 89-101. doi: 10.17179/excli2017-887

49. Kasamoto S, Masumori S, Tanaka J, Ueda M, Fukumuro M, Nagai M, et al. Reference control data obtained from an in vivo comet-micronucleus combination assay using Sprague Dawley rats. *Exp and Toxicol Pathol*, 2017; 69(4):187-191. doi: 10.1016/j.etp.2017.01.002
50. Njan AA, Atolani O, Olorundare OE, Afolabi SO, Ejimkonye BC, Crucifix PG, et al. Chronic toxicological evaluation and reversibility studies of *Moringa oleifera* ethanolic seed extract in Wistar rats. *Trop J Health Sci*, 2018; 25(1). Disponible en <https://www.ajol.info/index.php/tjhc/article/view/166445>
51. Kim Y, Jaja-Chimedza A, Merrill D, Mendes O, Raskin I. A 14-day repeated-dose oral toxicological evaluation of an isothiocyanate-enriched hydro-alcoholic extract from *Moringa oleifera* Lam. seeds in rats. *Toxicol Reports*, 2018; 5:418-426. doi: 10.1016/j.toxrep.2018.02.012
52. Fahey JW, Olson ME, Stephenson KK, Wade KL, Chodur GM, Odee D, et al. The Diversity of Chemoprotective Glucosinolates in Moringaceae (*Moringa* spp.). *Scientific reports*, 2018; 8(1):7994. doi: 10.1038/s41598-018-26058-4
53. Suzuki I, Cho YM, Hirata T, Toyoda T, Akagi JI, Nakamura Y, et al. Toxic effects of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (Raphasatin) in the rat urinary bladder without genotoxicity. *J Appl Toxicol*, 2017; 37(4):485-494. doi: 10.1002/jat.3384

Correspondencia: cquijano@unitru.edu.pe



Artículo Original

Efecto biocida de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante sobre larvas III de *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio

Biocidal effect of *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutant on larvae III of *Aedes aegypti* under laboratory conditions

Willian Blas-Cerdán¹, Gina Zavaleta-Espejo¹, José Saldaña-Jiménez¹,
Willian Blas-Roeder² y Deyvi Meléndez-Rodríguez¹

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. ²Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Trujillo.

RESUMEN

Se evaluó el efecto biocida de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante sobre larvas III de *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio. Para ello se utilizó una formulación comercial como testigo (2000 ppm) y tres formulaciones de Bti mutante a tres concentraciones (3000, 4000 y 5000 ppm) y larvas de *A. aegypti* obtenidas a partir de huevo bajo un sistema de iluminación constante, temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ y pH de 7.0. La aplicación de las formulaciones se realizó en vasos descartables conteniendo 100 mL de agua destilada con 25 larvas para cada una de las concentraciones consideradas. Las evaluaciones de mortalidad larvaria se hicieron a partir de las 40 horas después de la aplicación, ocurriendo el mayor efecto larvicida con la formulación del Bti mutante 2 a 4000 ppm, la misma que presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a las otras formulaciones utilizadas. Se determinó que no existe relación directa entre la producción del bioinsecticida Bti mutante y la actividad biocida sobre las larvas III de *A. aegypti*.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, *Aedes aegypti*, mutante, bioinsecticida, formulación

ABSTRACT

Biocidal effect of *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutant strain on larvae III of *Aedes aegypti* under laboratory conditions was examined. For this, a commercial formulation was used as control (2000 ppm) and three formulations of mutant Bti (3000, 4000 and 5000 ppm) and *A. aegypti* larvae, which were obtained from eggs under a constant lighting system, at a temperature of $26 \pm 1^\circ\text{C}$ and a pH of 7.0. The application of the formulations was carried out in disposable cups containing 100 mL of distilled water with 25 larvae for each of the concentrations considered. The evaluations of larval mortality were made from 40 hours after the application, with the highest larvicidal effect with the mutant Bti 2 (4000 ppm formulation), which presents significant differences ($p < 0,05$) with respect to the other formulations used. It was determined that there is no direct relationship between the production of the Bti mutant bioinsecticide and the biocidal activity on larvae III of *A. aegypti*.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, *Aedes aegypti*, mutant, bioinsecticide, formulation

INTRODUCCIÓN

Aedes aegypti, es el vector del virus que ocasiona el Dengue, una enfermedad muy frecuente en el hombre, constituyéndose en un severo problema de salud pública, especialmente en países tropicales donde las condiciones ambientales favorecen su desarrollo y proliferación. Se estima que anualmente se presentan 50 millones de casos en el mundo¹. Así mismo en el Perú el primer caso de Dengue se registró en 1852, en 1990 en Iquitos y Tarapoto se reportó una epidemia de 150000 personas infectadas, y en Trujillo se diagnosticaron 7000 casos de Dengue clásico durante el año 2000².

El Dengue se transmite por la hembra *A. aegypti* cuyo hábito alimenticio, hematófaga, favorece la propagación de la virosis. Su ciclo biológico presenta dos etapas bien diferenciadas, la fase acuática de huevo, larva y pupa; y la fase aérea de adulto o imago. El periodo larval comprende cuatro estadios: I, II, III y IV, siendo los tres primeros los más voraces, obteniendo su alimento del agua que se encuentra en recipientes naturales o artificiales. El periodo larval transcurre entre 5 a 7 días en condiciones favorables de alimentación y a 27° C de temperatura; el ciclo completo puede durar entre 10 a 15 días, dependiendo de las condiciones ambientales³.

Hasta el momento el uso del larvicida temephos y cipermetrinas para adultos de *A. aegypti* han tenido buenos resultados, sin embargo se ha informado casos de resistencia. Ante ello, una posible alternativa para solucionar el problema de resistencia es el control biológico, definido como el uso de un organismo natural o modificado genéticamente cuyos productos reducen sus efectos. Así mismo se ha reportado la existencia de más de 1500 especies de microorganismos entomopatógenos, entre los cuales las bacterias son de mayor importancia, constituyendo los bioinsecticidas^{4,5}.

Bacillus thuringiensis (Bt), es una bacteria que se encuentra en la flora natural del suelo, de forma bacilar, Gram positiva, anaeróbica facultativa y formadora de esporas; esta bacteria produce toxinas altamente específicas contra insectos⁶, cuya producción comercial se realiza por fermentación en grandes biorreactores. Primero se propaga en una fase vegetativa y exponencial; cuando un compuesto nutritivo del medio se agota, la bacteria entra en fase de esporulación sintetizando las proteínas toxigénicas en forma de cristales. Después de terminada la esporulación, las células se lisan por completo liberándose la spora y los cristales paraesporales; luego de la citólisis, la masa de la spora es aproximadamente 15% de la célula vegetativa y el cristal es del orden del 12% al 17% de la misma^{7,8}. Durante muchos años se pensó que *Bt* era un patógeno exclusivo de lepidópteros, porque solo se aislaron cepas activas de este grupo de insectos. Sin embargo, en 1978 De Barjac describió la variedad israelensis, que actúa en forma muy específica contra mosquitos de los géneros *Cúlex*, *Anopheles* y *Aedes*⁹.

Los cristales son protoxinas formados por la glucoproteína δ - endotoxina, de elevado peso molecular (130 a 140 Kda), las que se presentan en forma bipiramidal, cuboide, esférica o compuesta^{10, 11,12}. La δ - endotoxina es efectiva solamente cuando es ingerida por insectos que tienen en las membranas de sus células epiteliales del intestino medio, receptores específicos para ligar dicha toxina^{13,14}.

Determinados agentes ambientales, físicos o químicos pueden alterar la estructura molecular del ADN, provocando una mayor frecuencia de mutaciones, a los mismos que se les denomina mutágenos o agentes mutagénicos. Dentro de los mutagénicos químicos se encuentran el 5-Bromouracilo, etil metano sulfonato (EMS), ácido nitroso, cloruro de hidroxilamina, naranja de acridina, entre otros, pudiéndose agruparse en varias categorías como: análogo de bases, hidroxilantes, desaminantes, alquilantes e intercalares¹⁵. El naranja de acridina, es un colorante catiónico selectivo de los ácidos nucleicos y se encuentra dentro de los agentes mutagénicos intercalares, integrándose entre las bases nitrogenadas del ADN¹⁶.

Se han reportado trabajos en *Escherichia coli*, *Rhizobium sp.* y *Drosophila melanogaster*, donde se confirma su actividad mutagénica en concentraciones que van de 10 a 100 $\mu\text{g/mL}$. Los mutantes

obtenidos de *E. coli* tratados con naranja de acridina resultaron con una mayor actividad de la enzima penicilina G-acylicasa, en tanto se sugiere que se podría utilizar para la producción de otros metabolitos secundarios en otros organismos ^{17, 18}.

En la actualidad *Bti* es el producto comercial de mayor difusión y uso a nivel internacional por su alta especificidad, inocuidad para el hombre, animales y plantas, al no dejar residuos tóxicos en el ambiente ¹⁹. Debido a la importancia de *Bti* en la producción de bioinsecticida, cuyos genes se encuentran muy emparentados entre sí, se ha creído conveniente desarrollar una nueva estrategia que permita incrementar el control de larvas de *A. aegypti* utilizando *Bti* mutante inducido con naranja de acridina.

Por lo antes expuesto se pretende conocer el efecto biocida de *Bti* mutante sobre larvas III de *A. aegypti* bajo condiciones de laboratorio; esperando que a mayor concentración de *Bti* mutante mayor será la mortalidad de larvas III de *A. aegypti*. Por otro lado la presente investigación tiene como finalidad determinar las diferentes concentraciones de *Bti* mutante con mayor actividad larvicida, así como establecer la relación entre la producción de *Bti* mutante y su acción biocida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Se usaron larvas de *A. aegypti* obtenidas de huevos de la cepa Rockefeller, proporcionado por el Laboratorio de Protozoología de la Facultad de Ciencias Biológicas; Bioinsecticidas: una formulación comercial de *Bti* "Lepibac" P.M. y formulaciones de *Bti* mutante inducidas con naranja de acridina ²⁰; conservadas a -4°C.

Obtención de larvas III de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio.

Los huevos de *A. aegypti* se colocaron en fuentes de plástico de 20 por 30 cm. con agua destilada hasta su eclosión. Las larvas emergieron en un lapso de 2 a 3 días, y se alimentaron con "coneja", previamente triturada y esterilizada a 80 °C por 30 minutos. El agua se recicló diariamente para evitar el desarrollo de patógenos hasta alcanzar el estadio de larvas III, cinco días después de la eclosión ²¹. Todo el proceso se desarrolló utilizando un sistema de iluminación constante, con focos de 50 watts, para mantener una temperatura a $\pm 26^{\circ}\text{C}$, utilizando un termo hidrómetro y a un pH de 7,0.

Tamaño y representatividad de la muestra

Se utilizó 2500 huevos de *A. aegypti*, de los cuales emergieron aproximadamente 1800 larvas y para el desarrollo de la investigación se tomaron al azar 1200 de ellas.

Producción de *Bti* mutante

En un medio de cultivo Nysma conteniendo 80, 160 y 200 ppm del mutageno naranja de acridina, se realizó la siembra de *Bti*, y luego de 48 horas se detectaron colonias mutantes: M1, M2 y M3, y se seleccionaron por sus características fenotípicas. Luego de un proceso de fermentación por 50 horas, en biorreactores tipo tanque cilíndrico aireado y agitado, para cada concentración se obtuvo la biomasa de *Bti* mutante. Posteriormente se centrifugó, deshidrató y trituró la biomasa, cuantificándose en gramos de peso seco por litro, con un contenido de esporas, cristales proteicos y residuos celulares; el mismo que se considera como una formulación ²⁰.

Determinación de la dosis letal media de la formulación comercial.

Se pesaron 50, 80, 125, 250 y 500 mg de la formulación; y se diluyeron en 100 mL de agua destilada, contenidos en placas petri de 19 cm de diámetro más un control, posteriormente se colocaron 25 larvas III de *A. aegypti* para cada concentración. La dosis letal media se determinó por el recuento de larvas muertas en tres repeticiones.

Diseño para la exposición de lavas III de *Aedes aegypti* al *Bti* mutante.

Se eligieron cuatro tratamientos de tres formulaciones de *Bti* mutante y una de la formulación comercial “testigo”: 0, 2000, 3000, 4000 y 5000 ppm; se utilizó 20 vasos descartables conteniendo 25 larvas y 100 mL de agua destilada en cada repetición, el ensayo se realizó por triplicado. Los datos se tomaron a partir de las 40 horas después de la aplicación, siguiendo un diseño experimental en bloques completos al azar, donde cada tratamiento son las formulaciones y cada bloque las concentraciones²².

Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos en la experiencia, se realizaron los cálculos para estimar la línea de regresión, y determinar la dosis letal media y dosis letal máxima, así como el Análisis de varianza y la comparación de medias por el método de Duncan, para establecer la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, con una PEI=0,05²².

RESULTADOS

En la Fig. 1, se muestra el efecto biocida de *Bti* sobre larvas III de *A. aegypti* a través de la línea de regresión, donde la dosis letal media se encuentra entre 1250 y 2500 partes por millón; y la dosis letal máxima ocurre a partir de 5000 ppm de la formulación comercial, a partir de las 40 horas de aplicación.

El número promedio de larvas III muertas de *A. aegypti* producidas por las diferentes formulaciones a distintas concentraciones de *Bti*, obtuvieron sus valores máximos a 4000 ppm en cada uno de los tratamientos (M1: 11,76; M2: 13,10; M3: 11,38) excepto en el testigo, después de las 40 horas de aplicación, como se observa en la Tabla 1.

En la Tabla 2, se presenta el análisis de varianza para el promedio de larvas III muertas de *A. aegypti* por cada formulación de *Bti* mutante, incluido el testigo, a diferentes concentraciones (ppm) a partir de las 40 horas de aplicación.

La prueba de comparación de media de Duncan, confirma la existencia de diferencias significativas entre la formulación comercial, M1 y M3 con respecto al M2 de *Bti*, en relación al número promedio de larvas III muertas de *A. aegypti*, como se indica en la Tabla 3.

Tabla 1. Número promedio de larvas III muertas de *Aedes aegypti* producidas por cada formulación de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante incluso la formulación comercial diferentes concentraciones (ppm) a partir de las 40 horas después de la aplicación.

BLOQUES	TRATAMIENTOS			
	T ₁ (F.C)	T ₂ (M1)	T ₃ (M2)	T ₄ (M3)
2000 ppm	13,42	9,77	9,86	9,83
3000 ppm	10,25	9,78	13,20	10,70
4000 ppm	10,23	14,80	15,70	14,60
5000 ppm	10,10	12,70	13,62	10,40
Promedio	11,00	11,76	13,10	11,38

F.C = Formulación comercial, M1 = *Bti* mutante (80 ppm), M2 = *Bti* mutante (160 ppm), M3 = *Bti* mutante (200 ppm)

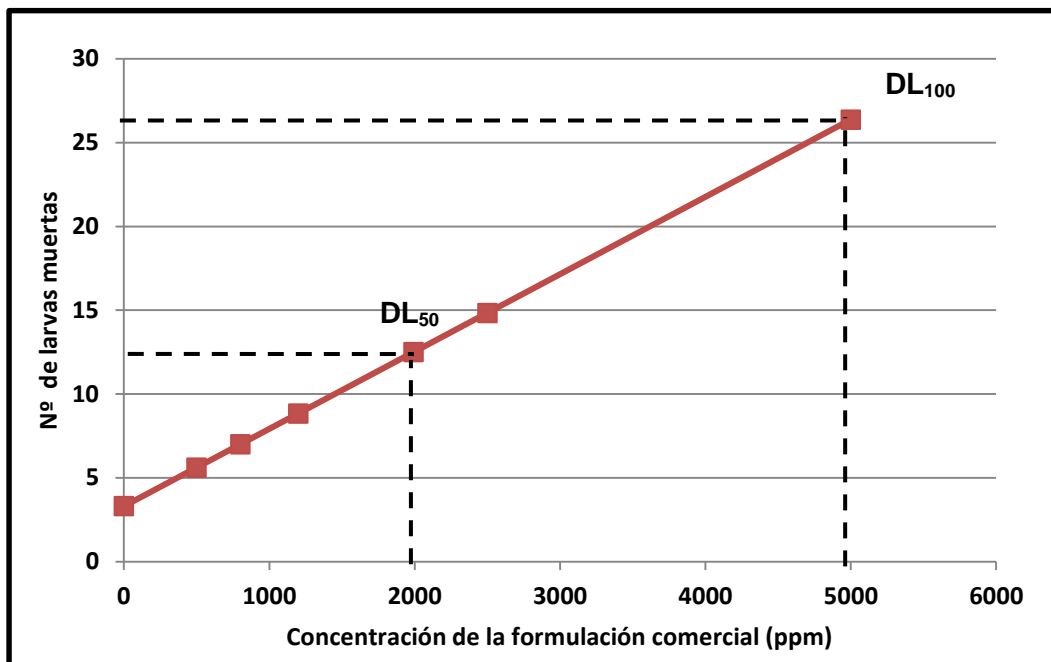


Fig 1. Línea de regresión para determinar la Dosis Letal Media (DL₅₀) y Dosis Letal Máxima (DL₁₀₀) de las diferentes concentraciones (ppm) de una formulación comercial de *Bti* "Lepibac" sobre larvas III de *Aedes aegypti* a partir de las 40 horas después de la aplicación.

Tabla 2. Análisis de varianza para el promedio de larvas III muertas de *Aedes aegypti* para cada formulación de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante, incluido la formulación comercial a diferentes concentraciones (ppm) a partir de las 40 horas después de la aplicación.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F-calculado	F-tabulado
Entre tratamientos	3	9,97	3,32	7,72	3,86 *
Entre bloques	3	24,00	8,00	18,60	3,86 *
Error	9	3,90	0,43		
Total	15	37,87			

P.E.I.: 0,05, * Presentan diferencias significativas

Tabla 3. Prueba de comparación de medias de Duncan de larvas III muertas de *Aedes aegypti* para cada formulación de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante, incluido la formulación comercial a diferentes concentraciones (ppm) a partir de las 40 horas después de la aplicación.

Tratamientos	Promedio de larvas muertas	Grupos Homogéneos
T1 (F.C)	11,00	X
T2 (M1)	11,76	X
T3 (M2)	13,10	XX
T4 (M3)	11,38	X

P.E.I.: 0,05

DISCUSIÓN

En todo trabajo de investigación, que implica comprobar la actividad de una sustancia determinada sobre algún sistema biológico, se hace necesario conocer la dosis letal media y la dosis letal máxima; porque a partir de ellas podemos elegir las concentraciones adecuadas para la consecución de un objetivo establecido²³. En tal sentido, se utilizó la línea de regresión para determinar la dosis letal media de las larvas III de *A. aegypti*, la que se encuentra entre 1250 y 2500 ppm; la dosis letal máxima ocurre a partir de las 5000 ppm de la formulación comercial utilizada como testigo respecto a las formulaciones de *Bti* mutante (Figura 1).

El número promedio de larvas III muertas de *A. aegypti* alcanzó su valor más alto a una concentración de 4000 ppm en todos los tratamientos con *Bti* mutante, a excepción del testigo, que lo hizo a 2000 ppm. Esta actividad lenta se debería a las diferentes concentraciones del naranja de acridina del cual se originaron, ocasionando cambios en su actividad; la mortalidad larvaria máxima ocurrió cuando se utilizó la formulación M2 de *Bti* a 4000 ppm, después de las 40 horas de aplicación (Tabla 1); coincidiendo con los resultados obtenidos por Couch y Ross²⁴ quienes señalan que el mayor efecto biocida en larvas de *A. aegypti* se produce entre las 24 y 48 horas después de la aplicación con *Bti*. Sin embargo, Zavaleta²¹ reporta una mortalidad del 100% a las 24 horas, lo que concuerda con Montero²⁵, quienes trabajaron en la susceptibilidad de *A. aegypti* frente a *Bti*.

La máxima producción de *Bti* se logró a 200 ppm del agente mutagénico, con un peso seco promedio de 2,78 gr/L; pero el mayor efecto biocida sobre las lavas III de *A. aegypti* ocurre con *Bti* mutante, utilizando 160 ppm del mutágeno; evidenciando que no existe una relación directa entre la producción del bioinsecticida mutante y su capacidad larvicida, más aún cuando ocurre asincronía en el proceso²⁰.

Los resultados distintos de la capacidad biocida de *Bti* mutante y la formulación comercial, sobre larvas III de *A. aegypti*, indicados con sus promedios fueron confirmados por el análisis de varianza (Tabla 2); para identificar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, no obstante a pesar de ser un método riguroso es muy genérico y sensible a las diferencias que puedan presentar por lo menos un par de tratamientos; ante ello se hizo necesario un método más específico como es la prueba de comparación de medias de Duncan (Tabla 3), para determinar entre que tratamientos existen tales diferencias²².

La producción de *Bti* mutante en la presente investigación se encuentra sobre las halladas en otras investigaciones, pero esto no demuestra una mayor capacidad biocida, dado a su origen. Sin embargo es necesario señalar que se trabajó solo con el 16% del principio activo, a diferencia de la formulación comercial que presenta el 32% del mismo. Por otro lado las formulaciones de *Bti* mutante son poco estables y los resultados hallados no aseguran su reproducibilidad, por lo tanto lograr la estabilidad del mutante es una finalidad a cumplir²⁰.

Se hace necesario ampliar las investigaciones relacionadas a los resultados del presente ensayo, con la finalidad de aprovechar mejor los genes de *B. thuringiensis* H-14 var. israelensis en la consecución de bioinsecticidas, tratando de hacer combinaciones de los mismos para mejorar el rango de acción de

las proteínas biocidas contra distintos organismos plaga, que constituyen una amenaza para la salud y calidad de vida del hombre; utilizando técnicas inducidas de mutación al azar.

Es factible iniciar en el Perú y sobre todo en nuestra región, otros trabajos con diferentes agentes mutagénicos químicos, para obtener mutantes más eficientes e incrementar la producción del bioinsecticida *Bti* y lograr curvas de rendimiento más elevadas, así como disminuir las poblaciones de insectos vectores de enfermedades como el dengue, malaria, entre otras.

Se debe potenciar y masificar la utilización del bioinsecticida *Bti*, dentro del marco del desarrollo sustentable por ser biodegradable, efectivo, seguro y sin llegar a producir impactos ambientales; para lo cual se debe iniciar algunas estrategias que permitan implementar normas y políticas para su uso. En conclusión: (i) las formulaciones de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis (*Bti*) mutante tuvieron efecto biocida sobre las larvas III de *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio, (ii) el mayor efecto larvicida se logró con la formulación de *Bti* M2 a una concentración de 4000 ppm. Y (iii) no existe relación directa entre la producción del bioinsecticida *Bti* mutante y la actividad biocida sobre las larvas de *A. aegypti*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chico P, Hidalgo F, Ochoa R. Ciclo de Vida del *Aedes aegypti* y manifestaciones clínicas del dengue. Acta Pediátrica. Méx. 2001 ; 22(2) :114-117.
2. DIGESA. Manual de Procedimientos para la Vigilancia Entomológica y el Control Vectorial: Malaria y Dengue. Documento Técnico en Revisión Final. 2004.
3. Ministerio de Salud (MINSA). Módulo de Capacitación para la intervención integral en dengue. Lima, Perú. 2004.
4. Bisset J, Rodríguez M, Fernández P. Estado de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en larvas del Municipio Playa, colectados durante la etapa intensiva contra el *Aedes aegypti*. Med Trop. La Habana. Cuba. 2004; 56 (1):61-66.
5. Rodríguez M, Bisset J, Fernández P. Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. Rev. Cubana. Med Trop. La Habana. Cuba. 2004; 56(1):54-60.
6. Jian, L, Thirumaran Y, Porter A. Efficient síntesis of mosquitocidal toxins in *asticcacaulis excentricus* demonstrates potential of gram negative bacteria in mosquito control. Nature Biotechnology, 1996; 14:343-347.
7. Yang X, Wang S. Phase-specific optimization of multiple endotoxin-proteins with genetically engineered *Bacillus thuringiensis*. Biotechnol Appl Biochem. 2000; 3:71-76.
8. Cranshaw W. Questions and answers about *Bacillus thuringiensis*. Colorado State University Cooperative Extension. 2007. Disponible en: <http://searchpdf.adobe.com/proxies/1/26/81/4.html>
9. Schnepf H, Crickmore N, Van Rie J, Baum J, Feitelson J. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1998; 62:775-806.
10. Tyrell D, Bulla B, Andrews R, Kramer L, Davindson L, Norden R. Comparative biochemistry of entomocidal parasporal crystals of selected *Bacillus thuringiensis* strains. J Bacteriol. 1981; 145(2):1052-1062.
11. Vandekar M, Dulmage H. Guidelines for production of *Bacillus thuringiensis* H-14. Edit. UNDP/WORLD BANK/WHO. Geneva Switzerland. 1982; pp.782-789.
12. Couche A, Pfannestel A, Nickerson K. Structural disulfide bonds in the *Bacillus thuringiensis* subsp israelensis protein crystal. J Bacteriol. 1987; 169(7):3281-3288.
13. Federici A. Site of action of the delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in mosquito and blackfly larvae in Michal F, edit. Basic biology of microbial larvicides of vector of human diseases. Geneva, Switzerland. 1982; pp.37-47
14. Bravo A, Quintero R. Importancia y potencial de *Bacillus thuringiensis* en el control de plagas. En IV curso avanzado de procesos biotecnológicos. Instituto de Biotecnología. México, 1993; 2:1-32.
15. Polo E. Efecto del cloruro de hidroxilamina en la producción de queratinasas por *Bacillus polymyxa* MIT-LVI, utilizando como sustrato plumas de aves. [Tesis de Maestro en Ciencias]. Escuela de Posgrado. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 1999.
16. Basik D, Popovic S, Ristic P, Arsenijevic N. Analysis of cycloheximide-induced apoptosis in human leukocytes: fluorescence microscopy using annexin V/propidium iodide versus acridin orange/ethidium bromide. Cell Biology Internat. 2006; 30:924-932.

17. Nassef, M., K. Zaied, E. Wahab y E. Ibrahim. 2002. Mutagenicidad de acridina y el ácido ascórbico en árboles de leguminosas. *Diario de Ciencias Biológicas. Pakistan.* 5(5): 569-580. <http://www.ucm.es/info/genetica/grupod/mutacion/mutacion.htm>.
18. Arshad R, Farooq S, Iqbal N, Ali S. Mutagenic effect of acridine orange on the expression of penicillin G-acylase and β -lactamase in *Escherichia coli*. 2006; pp.94-101(8). <http://www.ingentaconnect.com/content/bsc/lappm/2006/00000042/00000002/art00003>.
19. Ventocilla P, Chauca J. Instructivo para el control de calidad de bioinsecticidas bacterianos. Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt. Universidad Cayetano Heredia. Perú. 2000; pp.65-68
20. Blas W. Efecto del naranja de acridina en la obtención de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. Israelensis Mutante y la producción de bioinsecticida en un medio fermentativo a base de sanguaza. [Tesis de Doctor en Microbiología]. Escuela de Posgrado. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2012.
21. Zavaleta G. Evaluación de la capacidad biocida de *Bacillus thuringiensis* H-14. var. israelensis cultivado en sanguaza sobre larvas de *Aedes aegypti* en el distrito de Laredo, La Libertad-Perú. 2008-2009. [Tesis de Doctor en Ciencias Biológicas]. Escuela de Posgrado. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2012.
22. Sokal R. Introducción a la Bioestadística. Edit. Reverté S.A. Barcelona-España. 1980; pp.510-612.
23. Soto N. Influencia de las aguas residuales de procesos de productos hidrobiológicos en la síntesis del bioinsecticida producido por *Bacillus thuringiensis* y su dosis letal sobre larvas de *Culex* sp. "zancudo". [Tesis de Maestro en Biotecnología y Bioingeniería]. Escuela de Posgrado. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2003.
24. Couch, T, Ross R. Production and utilization of *Bacillus thuringiensis*. *Biotech and Bioeng.* 1980 ; 22: 1297.
25. Montero G, Espino R, García I, Díaz M. Susceptibilidad comparativa de las especies de mosquitos *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* al *Bacillus thuringiensis* variedad israelensis (H-14). *Rev. Cubana Hig. Epid.* 1985; 23:253-259.

Correspondencia : wblas@unitru.edu.pe



Artículo Original

Efecto sinérgico del 2,4-Diclorofenoxiacético y el Bencilaminopurina en la inducción de callos de *Jatropha macrantha* (Euphorbiaceae)

Synergistic effect of 2,4-Diclorofenoxiacético and Bencilaminopurina in the callus induction of *Jatropha macracantha* (Euphorbiaceae)

Angélica López Zavaleta¹ y Eloy López Medina²

¹E.A.P. de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo (Perú). ²Instituto de la Papa y Cultivos Andinos de la Universidad Nacional Trujillo

RESUMEN

Jatropha macrantha, Mull. Arg, conocido comúnmente como “Huanarpo macho” (Euphorbiaceae), es un arbusto propio de las vertientes occidentales y valles interandinos del Perú. Esta especie presenta en su raíz al alcaloide jatrofano, similar a la yohimbina, además de saponinas, esteroides, flavonoides y proantocianidinas, que son compuestos químicos con actividad antiinflamatoria y anti artritis. El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto sinérgico del 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) y del 6-bencil aminopurina (BAP) en la inducción de callos in vitro, libre de patógenos, como base para la producción masiva de este vegetal. Se utilizaron segmentos de hoja y se cultivaron en M & S (1962) completo, suplementado con 2,4-D y BAP a diferentes concentraciones. Se logró el desarrollo de callos de *J. macrantha* de consistencia compacta y de color blanquecino, con mayor porcentaje en el Tratamiento N° 2, en donde se observó callos de Grado 2 y Grado 3 de la Escala propuesta por Santana (1982), en un 50%. Se concluye que existe un efecto sinérgico de estos reguladores de crecimiento en la inducción de callos de *J. macrantha* en condiciones de laboratorio.

Palabras clave: *Jatropha macrantha*, inducción de callo, 2,4-Diclorofenoxiacético, Bencilaminopurina.

ABSTRACT

Jatropha macrantha, Mull. Arg, (Euphorbiaceae), is a shrub typical of the western slopes and inter-Andean valleys of Peru. This species has in its root alkaloid jatrophane, similar to yohimbine, as well as saponins, steroids, flavonoids and proanthocyanidins, which are chemical compounds with anti-inflammatory and anti-arthritis activity. The aim of the present investigation was to determine the synergistic effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic (2,4-D) and 6-benzyl aminopurine (BAP) in the induction of calluses in vitro, free of pathogens, as a basis for the production massive of this vegetable. Leaf segments were used and cultivated in complete M & S (1962), supplemented with 2,4-D and BAP at different concentrations. The development of callus of *J. macrantha* of compact consistency and of whitish color was achieved, with a higher percentage in Treatment No. 2, where callus of Grade 2 and Grade 3 of the Scale proposed by Santana (1982) was observed, in 50%. It is concluded that there is a synergistic effect of these growth regulators in the induction of callus of *J. macrantha* under laboratory conditions.

Keywords: *Jatropha macrantha*, callus induction, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, Benzylaminopurine.

INTRODUCCIÓN

Pertenece a la Familia Euphorbiaceae, *Jatropha macrantha* Mull. Arg., conocida comúnmente como huanarpo macho, barbasco, huanarpo de canta, palo de grado o urco huanarpo, es un arbusto de tamaño mediano (1.5 a 2 m. de altura), ramificado con ramas extendidas, carnosas y visiblemente marcadas por los callos de las cicatrices del peciolo caído; posee raíz conoidea y pivotante con pocas raíces secundarias y una corteza de regular espesor; las estípulas son glanduliformes, con yemas ligeramente pedunculadas en el período seco las hojas son tempranamente parduzcas y pegajosas como la savia de la rama carnosas; las flores, de color rojo anaranjado, poseen brácteas pequeñas, foliáceas, ovaladas, lanceoladas y de aproximadamente 10 mm de largo. Los sépalos de las flores masculinas son oblongo-ovaladas, agudos, dentadas glandulares, libres, de 4 a 5 mm. de largo, los pétalos son de 2 cm de largo oblongo obtusos, parecidos a las uñas y libres, el androceo presenta 10 estambres, con el exterior más corto y el interior monadelfo alargado. Las inflorescencias son capituladas, de color escarlata, que aparecen tardíamente durante el periodo seco¹.

J. macrantha crece entre los 1500 y 2600 m.s.n.m, es autóctona del Perú y se distribuye mayormente en el valle fluvial del Marañón, en la Amazonia, y en Puno; ha sido utilizada por nuestros antepasados para mejorar la disfunción eréctil, motivo por el cual se le conoce también como viagra peruano, siendo los tallos jóvenes, los que se utilizan de la planta. Actualmente se sabe que contiene saponinas, esteroides, flavonoides, aceites esenciales y alcaloides², así como, gran cantidad de proantocianidinas que son compuestos químicos con actividad antiinflamatoria y útiles para el tratamiento de la artritis y la disfunción eréctil¹.

La formación de callos, masa amorfa surgida de la proliferación de células del parénquima como consecuencia de una herida, puede ser inducida en numerosos órganos y tejidos de plantas que usualmente no desarrollan callos en respuesta a un daño. El material vegetal comúnmente cultivado incluye, cambium vascular, parénquima de reserva, periciclo de raíz, cotiledones, mesófilo de la hoja y tejido provascular³. Los callos no tienen patrones predecibles de organización, están presentes en centros localizados de actividad meristemática y a menudo aparecen en regiones cambiales rudimentarios con zonas de diferenciación vascular. Una de las características importantes de callo, desde un punto de vista funcional, es su irregular crecimiento, teniendo el potencial para desarrollar raíces normales, brotes y embriones que forman plántulas⁴. El cultivo de callos puede ser una alternativa para la obtención de algunos de estos metabolitos secundarios lo que podría permitir la producción a gran escala de dichos compuestos. El cultivo de callos puede ser utilizado para diferentes propósitos, tales como la micropropagación y el mejoramiento vegetal, que requiere de un explante inicial, el que puede tener una alta diferenciación de sus tejidos, como un trozo de raíz, tallo u hoja, o bien la utilización de tejidos menos diferenciados como hipocótilos y cotiledones de plántulas recién germinadas e incluso embriones zigóticos maduros e inmaduros. También, aunque con menor frecuencia, se han utilizado tejidos florales como estambres, pétalos y ovarios. En cualquier caso, la inducción de callo representa un proceso de desdiferenciación y división celular intensiva, el cual depende principalmente del explante, genotipo, medio de cultivo, tipo de regulador de crecimiento como también su concentración y combinación^{3,5}. Existe escasa información sobre la callogénesis en Huanarpo.

La presencia y acción conjunta de dos fitohormonas (por ejemplo auxinas y citocininas) puede inducir y fijar un tipo determinado de expresión morfogénica de acuerdo a los niveles relativos entre sí, o de cada una de ellas, en un tejido. Así por ejemplo, auxinas y citocininas, de acuerdo a su nivel relativo pueden conducir a la formación de brotes, alternativamente de raíces y/o a la proliferación de masas celulares sin mayor organización. Las auxinas son un grupo de hormonas vegetales naturales que regulan muchos aspectos del desarrollo y crecimiento de plantas, promueven el crecimiento principalmente por un aumento de la expansión celular⁶. Las citocininas son hormonas esenciales en el accionar de varios procesos vinculados al crecimiento y desarrollo de las plantas y relacionados a la acción de varios genes. Su efecto hormonal fue visualizado rápidamente al inducirse, en compañía de auxinas, diferentes tipos de morfogénesis en tejidos de tabaco y de otras especies bajo condiciones *in vitro*. Un alto nivel de citocininas vs. auxinas provocaba la formación de brotes en tejidos derivados de explantes de médula, mientras que con niveles bajos de citocininas y/o conjuntamente niveles altos de auxina, se observaba la formación de masas celulares no organizadas (callos) y la formación de raíces con gradientes mayores de auxina. Junto a auxinas, promueven la producción de tejidos no

organizados denominados callos, de los cuales es también posible inducir la formación de brotes y/o raíces⁷.

El objetivo de la investigación es determinar el efecto sinérgico del 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) y la Bencilaminopurina (BAP) en la inducción de callos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg, “huanarpo”, a partir de explantes de mesófilo foliar.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Papa y Cultivos Andinos, Facultad de Ciencias Biológicas, campus de la Universidad Nacional de Trujillo, (Trujillo, Perú), utilizando explantes de limbos foliares de un centímetro cuadrado procedentes de plantas crecidas en el invernadero de Fisiología y Biotecnología de la misma Facultad.

Los explantes fueron cultivados en medio MS (1962), suplementado con vitaminas, conteniendo sacarosa (30 g/l) y agar (0.8%), al cual se adicionó Ácido 6-Bencil Aminopurina y 2,4-Diclorofenoxiacético a diferentes concentraciones (Tabla 1). El pH se ajustó a 5.8 con NaOH 1N o HCl, llevado a baño maría, servido en frascos de penicilina 2 ml por frasco, y tapados con papel aluminio previamente esterilizados en autoclave a 121°C y 1 atm de presión durante 20 minutos.

Tabla 1. Concentraciones de 6-Bencil Aminopurina (BAP) y 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D), para la inducción de callos de *Jathropha macrantha* Mull. Arg, “huanarpo macho”.

Tratamiento	BAP (ppm)	2,4-D (ppm)
1	0,0	0,0
2	1,0	1,0
3	1,0	0,0
4	0,0	1,0

Los explantes fueron lavados cuidadosamente con agua de caño, luego se colocaron en una solución de benlate al 1% y se mantuvieron durante cinco minutos en agitación continua. A continuación, se trasladaron a la cabina de flujo laminar, donde se desinfectaron con alcohol al 70% por 30 segundos y en hipoclorito de sodio al 3%, durante 3 minutos, y se enjuagaron cuatro veces con agua destilada estéril. Los limbos foliares se seccionaron en porciones de 01 cm² aproximadamente, luego de ser introducidos a condiciones *in vitro*, fueron llevados al cuarto de incubación donde se distribuyeron en un diseño en Bloques Completos al azahar, con Tres repeticiones y 8 unidades muestrales, donde permanecieron durante 45 días a temperatura de 26± 1°C y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad.

A los 45 días se evaluó el porcentaje de formación de callos de grado 3 según la escala propuesta por Santana (1982)⁸. Además, se realizó una evaluación cualitativa del callo en cuanto a color (amarillo, crema y blanco) y consistencia (compacto, friable y esponjoso).

Descripción de la escala empleada por Santana, 1982:

- 1-No formación del callo.
- 2- Ligera formación del callo (se observa una débil proliferación en zonas del borde del explante).
- 3- Formación del callo (hay proliferación de células por todos los bordes del explante, sin llegar a formar una masa).
- 4- Abundante formación del callo (formación de una masa voluminosa de callos).

Finalmente, se aplicó el test de comparación de proporciones para evaluar el efecto en la inducción de callos, tomando como resultados los callos morfogénicos pertenecientes al grado 3 de la escala de Santana (1982) obtenidos en el experimento.

RESULTADOS

Se logró el desarrollo de callos de *J. macrantha* de consistencia compacta y de color blanquecino, con mayor porcentaje en el Tratamiento N° 2, en donde se observó callos de Grado 2 y Grado 3 de la Escala propuesta por Santana (1982), en un 50% (Fig. 1 y Tabla 2)



Fig. 1. Callo de *Jatropha macrantha*, “huanarpo macho”, obtenido mediante el efecto sinérgico del 2,4-diclorofenoxiacético y del 6-bencilaminopurina a concentración de 1.00 ppm.

Tabla 2. Presencia de callos, grado de desarrollo según la escala de Santana, 1982, Color y consistencia, expresados en porcentaje obtenidos a partir de explantes de hoja de *Jatropha macrantha* Mull. Arg, “huanarpo macho”, mediante la aplicación combinada de 2.4-Diclorofenoxiacético y 6-Bencilaminopurina, en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Callo (%)	Desarrollo de callos, (%) según Santana, 1982.				Color (%)		Consistencia (%)	
		1	2	3	4	Blanco	Cre moso	Compacto	Friable
1	25.0	75.0	25.0	0	0	100.0	0.0	100.0	0.0
2	100.0	0	50.0	50	0	87.5	12.5	62.5	37.5
3	37.5	62.5	37.5	0	0	100.0	0.0	100.0	0.0
4	12.5	87.5	12.5	0	0	100.0	0.0	100.0	0.0

DISCUSIÓN

El 100% de callos obtenidos en el tratamiento 2,(Fig.1 y tabla 2), respecto al tratamiento 3 solo con BAP y al tratamiento 4 solo con 2,4-D, demuestra el efecto sinérgico de estos fitorreguladores que al trabajar juntos permiten la formación completa de callos, debido probablemente a que, el BAP, bioquímicamente refuerza la acción del 2,4-D, mediante la estimulación en la formación de enzimas responsables de la síntesis del 2,4 D, lo cual incrementa la actividad de las auxinas que se encargan de estimular el crecimiento y la división celular, ocurriendo el incremento de la velocidad de formación de células de manera organizada a partir de las células del explante^{9,10}. El 50% de grado 2 y 50% de grado 3 según la escala de Santana encontrados, indica que ambos reguladores tienen efecto complementario debido a que la formación de callos obtenido va desde pequeños a completamente formados, la coloración blanquecina en un 87.5% nos confirma que son verdaderos callos así como su consistencia compacta. demostrando una fuerte actividad sinérgica de estos reguladores del

crecimiento, así como su capacidad de producir un crecimiento desordenado en las células del explante, lo cual concuerda con una investigación efectuada en camote⁸, donde el medio con 2,4-D (0,50 mg/L) y 6-BAP (0,25 mg/L) resultó superior en la formación de callos desde el punto de vista cuantitativo (total de callos formados) con valores de 100% y cualitativo (callos potencialmente embriogénicos), con valores entre 90,0 y 96,0%, formándose callos pertenecientes al grado 3, de color crema y amarillo, nodulares y friables, el resultado alcanzado indicó el efecto positivo del 2,4-D y el 6-BAP en el indicador evaluado⁸.

Según Rodríguez et al³, al trabajar en hojas de *Ugni molinae* Turcz, el tratamiento que obtuvo el porcentaje más alto de callo-génesis fue 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D + 1,0 mg L⁻¹ de BAP con un 60 %, a diferencia de los demás, presentó mejores respuestas en los tratamientos combinados y menores porcentajes en los tratamientos con 2,4-D y testigo. Siendo estos resultados semejantes a los encontrados en el presente trabajo con un 100 % en la igualdad de concentraciones entre hormonas⁹⁻¹². En conclusión: el empleo de 2,4-D y BAP a un 1.00 ppm en el medio de cultivo, propició la formación de callos en explantes de hojas *Jatropha macracantha* Müll. Arg, "Huanarpo macho", en un 100%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar C. Efecto Broncodilatador del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. "huanarpo macho" en cobayos. [Tesis de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2012.
2. Heredia I, Burga J, Flores E. Extracción de alcaloides del huanarpo macho (*Jatropha macrantha* Muell. Arg) en un equipo soxhlet con mezcla de solventes clclohexanoetanol. [Tesis de Ingeniero Químico]. Universidad Nacional del Callao. Perú. 2016.
3. Rodríguez M, Latsague M, Chacón M, Astorga P. Inducción in vitro de callogénesis y organogénesis indirecta a partir de explantes de cotiledón, hipocótilo y hoja en *Ugni molinae*. Bosque (Valdivia), 2014; 35(1):24-29. Doi.org/10.4067/S0717-92002014000100011.
4. Hurtado MDV, Merino ME. Cultivo de Tejidos Vegetales. México, DF: Edit. Trillas. 1994.
5. Matos A, Sánchez A. Evaluación de reguladores de crecimiento para la inducción de callo en *Aloe vera* L. Multiciencias, 2011; 11(1):7-14.
6. Jordán M, Casaretto J. Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. En, FA Squeo & L. Cardemil, eds., Fisiología Animal. Chile: Ediciones Universidad de La Serena, 2006; pp.1-28.
7. González O, Hernández M, Silva J, Espinosa A. Evaluación de la dinámica del crecimiento in vitro en callos de *Ipomoea batatas*. Rev. Colomb. Biotecnol. 2011; 13:148-155.
8. Bidwell RGS. Fisiología Vegetal. México D.F., México: Edit. AGT. 1999.
9. Barceló J, Nicolás G, Sabater B, Sánchez R. Fisiología Vegetal, Madrid, España: Editorial Pirámide. 2009
10. Tinco A, Arroyo J, Bonilla P. Efecto del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg., en la disfunción eréctil inducida en ratas. An Fac med. 2011; 72(3):161-8.
11. Castañeda B, Castro de la Mata R, Gamarra F. Evaluación del efecto farmacológico del extracto de *Jatropha macranta* Muell. Arg "huanarpo macho" en pene aislado de conejo. Universidad de San Martín de Porres. CULTURA: Lima (Perú) 23:1-100.
12. Lallana V, Lallana M del C. Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal - Edición digital. 2003; pp.81-84.

Correspondencia: angylz@outlook.es



Selección de levaduras nativas productoras de etanol a partir de “chicha de jora” elaborada artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú.

Selection of native yeasts ethanol producing from "chicha de jora" Handcrafted in the district of Santiago de Chuco, La Libertad-Peru.
Aníbal Quintana Díaz, Eva E. Villanueva Tarazona, Pedro A. Alvarado Salinas y Luis A. Llenque Díaz

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivos aislar, seleccionar y conservar levaduras nativas productoras de etanol a partir de “chicha de jora” elaborada artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú. Las muestras de “chicha de jora” fueron recolectadas en frascos estériles de 200 mL de capacidad, acondicionadas adecuadamente y trasladadas a Laboratorio de Microbiología Industrial de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, para su posterior procesamiento. Para el aislamiento y selección de los cultivos se utilizó la técnica de dilución y agotamiento por estría en placas Petri conteniendo Agar Sabouraud enriquecido con extracto de levadura, fueron incubadas a 30°C durante 24 horas, las colonias desarrolladas fueron analizadas macroscópicamente y microscópicamente. Las células observadas con características morfológicas de levadura, fueron purificadas y conservadas. En la Selección secundaria los cultivos conservados fueron reactivados en agar sabouraud e incubados para obtener biomasa de levaduras luego, se “cosecharon” con solución fisiológica estéril y se centrifugaron en tubos de ensayo estériles, a 4000 g durante 10 minutos, La capacidad fermentativa fue medida mediante el método de Davies-Griffith modificado, utilizando caldo sabouraud sacarosado. Seleccionándose ocho cultivos puros de levaduras nativas que mostraron diferentes productividades (en g etanol/g lev. h), y con diferencias estadísticamente significativas entre algunas de ellas. Estas levaduras nativas no superaron la productividad alcanzada por el cultivo control referente *Saccharomyces cerevisiae* MIT-L51, pero si igualaron su productividad según la evaluación estadística de comparaciones múltiples realizada lo cual nos mostró una información relevante ya que los aislados realizados son levaduras de altas productividades con un potencial uso industrial.

Palabras clave: *Saccharomyces*, Levaduras nativas, Chicha de jora.

ABSTRACT

The aims of this research were to isolate, select and preserve native yeasts produce ethanol from "chicha" handcrafted in the district of Santiago de Chuco, La Libertad, Peru. Samples of "chicha" were collected in sterile flasks of 200 ml capacity, suitably packaged and transported to Laboratory of Industrial Microbiology, Faculty of Biological Sciences of the National University of Trujillo, for further processing. For isolation and crop selection dilution technique and exhaustion was used streaked on Petri plates containing Sabouraud agar enriched with yeast extract, were incubated at 30°C for 24 hours, the colonies grown were analyzed macroscopically and microscopically. The cells observed with morphological characteristics of yeast were purified and preserved. In secondary selection cultures preserved were reactivated in Sabouraud agar and incubated for yeast biomass then were "harvested" with sterile saline and centrifuged in sterile test tubes at 4000 g for 10 minutes, The fermentative capacity was measured by the method of Davies-Griffith modified using Sabouraud broth sacarosado. Eight pure cultures of selected yeast native showed different productivities (in g ethanol/g lev. H), and statistically significant differences between some of them. These native yeasts did not exceed productivity achieved by the control culture reference *Saccharomyces cerevisiae* MIT-L51, but if they matched their productivity according to the statistical evaluation of multiple comparisons made which showed us relevant information as isolated made are yeasts high productivities with a potential industrial use.

Keywords: *Saccharomyces*, native yeasts, Chicha de jora.

INTRODUCCIÓN

Las levaduras productoras de etanol pueden aislarse a partir de diversas fuentes naturales realizando técnicas de *screening*. Una alternativa es recurrir a materias primas sometidas a fermentación natural, lo cual permite que las levaduras nativas, salvajes, silvestres o autóctonas^{1,2} presentes en estas fuentes naturales, desarrollen en medios debidamente formulados, facilitando así su aislamiento y selección.

Las levaduras más importantes desde el punto de vista biotecnológico son las pertenecientes al género *Saccharomyces*, destacando *S. cerevisiae*. Estas levaduras son cultivadas a nivel industrial para obtener biomasa que puede ser utilizada en panificación o como suplemento dietético^{1,3}. También son utilizadas en la producción de etanol y bebidas alcohólicas; así mismo en la obtención de mosto alcohólico para la producción de ácido acético y vinagre⁴. Es eucariota, fácilmente cultivable en el laboratorio, su genoma es pequeño y su tiempo de duplicación es relativamente corto⁵.

La importancia de *Saccharomyces* está en el éxito del bioproceso y la rentabilidad, ello exige utilizar cultivos seleccionados con capacidades metabólicas especiales⁶ que se hallan disponibles en colecciones; sin embargo, esta forma crea dependencia y no garantiza la disponibilidad del “mejor” cultivo. La alternativa es aislarlos de su hábitat natural. Considerando que en estos hábitats están acompañados de otros microorganismos, se requiere aplicar programas de aislamiento y selección⁶⁻⁹.

En el Laboratorio de Microbiología Industrial de la Universidad Nacional de Trujillo se han aislado levaduras productoras de etanol a partir de diversos frutos sometidos a fermentación natural *in vitro*, Tal es el caso de tuna¹⁰ “fresa”, “piña”, “ciruela” y “uva”¹¹; “mango”, “plátano” y “mandarina”¹²; y de tres variedades de “uva”¹³. También es factible aislar estas levaduras a partir de bebidas alcohólicas producidas en forma artesanal, en las que no se han inoculado levaduras específicas. Como estas bebidas son fermentadas en forma natural, es factible aislar las levaduras y seleccionar las más promisorias.

En el distrito de Santiago de Chuco, región La Libertad-Perú, se produce “chicha” en forma artesanal sin utilizar la adición de levaduras seleccionadas; por lo cual, la fermentación alcohólica lo realizan levaduras **nativas** y la flora microbiana acompañante propias de las materias primas que utilizan y se han ido instalando a través del tiempo en los recipientes de fermentación. Los productores artesanales inician un *batch* de producción con levaduras procedentes de un *batch* anterior. Sin embargo, este procedimiento no es adecuado debido a que el proceso de fermentación es llevado a cabo por una población mixta, además se debe tener en cuenta que las levaduras van degenerando y cambiando sus características con el tiempo, hecho que afecta su metabolismo.

De estas fermentaciones naturales, sin adición de inóculos específicos, es factible seleccionar levaduras nativas que son responsables de las fermentaciones espontáneas, las mismas que después de una adecuada evaluación pueden ser utilizadas en fermentaciones controladas y garantizar así la calidad del producto final; las levaduras que se logran seleccionar de muestras de “chicha” estarán mejor adaptadas a las condiciones de fermentación y permitirán dar identidad a la bebida que se produzca. Así, la “chicha” producida en Santiago de Chuco tendrá características particulares que la diferenciarán de las bebidas producidas en otras regiones del país, aun cuando se utilice la misma materia prima y se estandarice las condiciones de producción.

A partir de productos en proceso de fermentación, como la “chicha” es factible aislar levaduras productoras de etanol. Se han analizado poblaciones de levaduras durante procesos de fermentaciones alcohólicas espontáneas¹⁴⁻¹⁸. También se seleccionaron cepas nativas de *S. cerevisiae* para la producción de sidra en Uruguay y en la fabricación artesanal de licor “cocuy”^{19,20}.

Uno de los problemas en el proceso de elaboración de la chicha de jora es el no contar con inoculantes microbianos que sean utilizados para los procesos de fermentación y de esta manera elaborar una chicha de calidad, estandarizada en sus características organolépticas y bioquímicas. Por ello se considera de gran importancia para la producción de “chicha” aislar, a partir de ellas, levaduras productoras de etanol con la finalidad de seleccionar las más útiles para ser utilizadas en procesos controlados con la finalidad de mejorar la calidad del producto final. En la presente investigación se aisló, seleccionó, conservó e identificó levaduras nativas productoras de etanol a partir de “chicha” producidos en forma artesanal en el distrito de Santiago de Chuco.

Aun cuando la producción de “chicha” es una actividad tradicional, en la actualidad es un proceso fermentativo que merece la atención de los investigadores con la finalidad de mejorar la calidad del

producto, lo cual va permitir incrementar la rentabilidad del proceso con lo cual se beneficiarán los productores artesanales y los consumidores.

MATERIAL Y MÉTODOS

Colección de las muestras de “chicha de jora”

Las muestras de “chicha de jora” se recolectaron en frascos estériles de 200 mL de capacidad y fueron rotuladas según el código asignado al lugar de procedencia. Se acondicionaron adecuadamente y se trasladaron al Laboratorio de Microbiología Industrial de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, para su procesamiento.

Procesamiento de las muestras

Las muestras se incubaron a temperatura ambiental para su enriquecimiento, hasta observar signos de fermentación. En la tapa de cada frasco se colocó una aguja hipodérmica para permitir la salida del CO₂.

Aislamiento y selección primaria de levaduras productoras de etanol

Del sedimento de los recipientes se tomaron alícuotas de 0,1 mL y se hicieron diluciones decimales con agua destilada estéril (ADE); posteriormente se sembraron por estría y en superficie en placas conteniendo Agar Sabouraud enriquecido con extracto de levadura (ASE) y se incubaron a 30°C durante 24 horas. Cumplido el tiempo de incubación, las colonias desarrolladas fueron analizadas macroscópica y microscópicamente. Este último incluyó coloración de Gram y observaciones en fresco, en el microscopio. Las colonias con características morfológicas de levadura, se aislaron en frascos conteniendo AS y se incubaron a 30°C durante 24 horas. Cumplido el tiempo de incubación se verificó su pureza mediante coloración de Gram. Los cultivos puros fueron sellados, rotulados y conservados en condiciones asépticas en refrigeración a 8°C aproximadamente.

Selección secundaria de levaduras productoras de etanol¹¹

Los cultivos conservados fueron sembrados en AS e incubados a 30°C durante 24 horas. Luego, se “cosecharon” con solución salina fisiológica estéril SSFE y se centrifugaron en tubos de ensayo estériles, previamente pesados, a 4000 g durante 10 minutos. Se eliminó el sobrenadante y el tubo de ensayo con la biomasa fue nuevamente pesado. El peso de la biomasa se obtuvo por diferencia entre los dos pesos registrados. La capacidad fermentativa fue medida mediante el método de Davies-Griffith (1982)¹⁴ modificado utilizando caldo sabouraud Sacaroso al 10%. Además, se evaluó la capacidad fermentativa de *S. cerevisiae* MIT L51. Se realizaron los cálculos y se seleccionarán los cultivos que presentaron igual o mayor productividad de etanol que *S. cerevisiae* MIT L51.

Identificación de levaduras productoras de etanol

Los cultivos puros de las levaduras seleccionadas fueron analizados tanto en sus características macroscópicas como microscópicas. Las levaduras seleccionadas fueron sembradas en medios específicos y se realizaron estudios comparativos a *S. cerevisiae* MIT L51 que fue utilizado como cultivo control referente.

Conservación de levaduras productoras de etanol

Los cultivos de levadura fueron sembrados en AS y después de la incubación se acondicionaron en recipientes estériles y conservados a 8°C.

Análisis de Datos

El número de levaduras aisladas y seleccionadas a partir de las muestras de cada productor de “chicha” fueron procesadas y organizadas en tablas. La productividad de etanol de las levaduras aisladas fue comparada con los valores de productividad de etanol de *S. cerevisiae* MIT L51 que fue utilizado como cultivo control referente. Los valores de productividad de etanol de los cultivos nativos seleccionados y del cultivo control referente fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de ANOVA utilizando el Programa SPSS. 21 para Windows, con un nivel de significancia de 0,05%.

RESULTADOS

En chicha de jora elaborada artesanalmente en Santiago de Chuco se encontró colonias redondeadas compatibles con las de levaduras, las cuales fueron convenientemente codificadas (Tabla 1). Estas, produjeron una biomasa, en g levadura, de 0,5866 a 1,0279 y CO₂ a las concentraciones de 0,0215 a

0,0600 por L (Tabla 2). 12 cultivos produjeron etanol en cantidades estadísticamente significativas mayores que las demás (Tabla 3).

Tabla 1. Características microscópicas y macroscópicas de las células y colonias de levadura nativas, aisladas de Chicha de Jora elaborada artesanalmente de ocho lugares de producción del distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú. Cultivadas en Agar-Sabouraud-Sacarosado (pH 5.6, a Temperatura Ambiente $25 \pm 1^\circ\text{C}$)

Características microscópicas	Características macroscópicas	Denominación del Cultivo (Código)
Células redonda u ovaladas estado con yemas	Colonias redondas, de aspecto cremoso y convexo.	SCH-L1
Células redonda u ovaladas estado con yemas	Colonias redondas, de aspecto cremoso y convexo	SCH-L2
Células alargada con proyecciones distales	Colonias redondas, de aspecto cremoso y plano	SCH-L3
Células alargada con proyecciones distales	Colonias redondas, de aspecto cremoso y plano	SCH-L4
Células alargada con proyecciones distales	Colonias redondas, de aspecto cremoso y plano	SCH-L5
Células alargada con proyecciones distales	Colonias redondas, de aspecto cremoso y plano	SCH-L6
Células redonda u ovaladas estado con yemas	Colonias redondas, de aspecto cremoso y convexo.	SCH-L7
Células redonda u ovaladas estado con yemas	Colonias redondas, de aspecto cremoso y convexo.	SCH-L8

SCH = Santiago de Chuco

L = Levadura

Tabla 2. Producción de biomasa (g), anhídrido carbónico (CO_2/L) y productividad en base a la capacidad fermentativa de los cultivos aislados de “Chicha de Jora” elaborada artesanalmente, del distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú. Cultivadas en Caldo-Sabouraud-Sacarosado (10%, pH 5.6, a Temperatura Ambiente $25 \pm 1^\circ\text{C}$).

Cultivos	Biomasa (g levadura)	CO_2 (L)	Productividad (g et/g lev. h)
SCH-L1	0,7846	0,0411	0,1084
SCH-L2	0,9288	0,0273	0,0626
SCH-L3	1,0279	0,0355	0,0324
SCH-L4	0,7517	0,0215	0,0258
SCH-L5	0,7438	0,0600	0,0555
SCH-L6	0,7785	0,0500	0,0440

SCH-L7	0,6636	0,0200	0,0705
SCH-L8	0,5866	0,0315	0,1003
MIT- L51	-	-	0,0365

SCH = Santiago de Chuco

L = Levadura

Tabla 3. Evaluación estadística de comparaciones múltiples, de la productividad de etanol de los cultivos nativos aislados de “Chicha de Jora” elaborada artesanalmente, del distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú y *Saccharomyces cerevisiae* MIT-L51, empleado como control.

	Cultivo	Diferencias de Medias	Error típico	Sig. (p - valor)
Cultivo SCH-L1	SCH-L2	,0458	,0120	,0604
	SCH-L3	,0760*	,0120	,0025
	SCH-L4	,0826*	,0120	,0014
	SCH-L5	,0529*	,0120	,0271
	SCH-L6	,0644*	,0120	,0079
	SCH-L7	,0380	,0120	,1462
	SCH-L8	,0081	,0120	,9979
	MIT - L51	,0450	,0120	,0665
Cultivo SCH-L2	SCH-L1	-,0458	,0120	,0604
	SCH-L3	,0302	,0120	,3322
	SCH-L4	,0368	,0120	,1660
	SCH-L5	,0072	,0120	,9991
	SCH-L6	,0186	,0120	,8091
	SCH-L7	-,0079	,0120	,9984
	SCH-L8	-,0377	,0120	,1512
	MIT - L51	-,0009	,0120	1,000
Cultivo SCH-L3	SCH-L1	-,0760*	,0120	,0025
	SCH-L2	-,0302	,0120	,3322
	SCH-L4	,0066	,0120	,9995
	SCH-L5	-,0231	,0120	,6183
	SCH-L6	-,0116	,0120	,9804
	SCH-L7	-,0381	,0120	,1446
	SCH-L8	-,0678*	,0120	,0056
	MIT - L51	-,0311	,0120	,3052
Cultivo SCH-L4	SCH-L1	-,0826*	,0120	,0014
	SCH-L2	-,0368	,0120	,1660
	SCH-L3	-,0066	,0120	,9995
	SCH-L5	-,0297	,0120	,3505
	SCH-L6	-,0182	,0120	,8242
	SCH-L7	-,0447	,0120	,0688
	SCH-L8	-,0744*	,0120	,0029
	MIT - L51	-,0377	,0120	,1512
Cultivo SCH-L5	SCH-L1	-,0529*	,0120	,0271
	SCH-L2	-,0072	,0120	,9991
	SCH-L3	,0231	,0120	,6183
	SCH-L4	,0297	,0120	,3505
	SCH-L6	,0115	,0120	,9818
	SCH-L7	-,0150	,0120	,9238
	SCH-L8	-,0448	,0120	,0676
	MIT - L51	-,0080	,0120	,9981

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Tabla 3. (Continuación) Evaluación estadística de comparaciones múltiples, de la productividad de etanol de los cultivos aislados de “Chicha de Jora” elaborada artesanalmente, del distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú y *Saccharomyces cerevisiae* MIT-L51, empleado como control.

	Cultivo	Diferencias de Medias	Error típico	Sig. (p - valor)
Cultivo SCH-L6	SCH-L1	-,0644*	,0120	,0079
	SCH-L2	-,0186	,0120	,8091
	SCH-L3	,0116	,0120	,9804
	SCH-L4	,0182	,0120	,8242
	SCH-L5	-,0114	,0120	,9818
	SCH-L7	-,0264	,0120	,4711
	SCH-L8	-,0562*	,0120	,0188
	MIT - L51	-,0194	,0120	,7752
Cultivo SCH-L7	SCH-L1	-,0380	,0120	,1462
	SCH-L2	,0079	,0120	,9984
	SCH-L3	,0381	,0120	,1446
	SCH-L4	,0447	,0120	,0688
	SCH-L5	,0150	,0120	,9238
	SCH-L6	,0265	,0120	,4711
	SCH-L8	-,0298	,0120	,3455
	MIT - L51	,0070	,0120	,9993
Cultivo SCH-L8	SCH-L1	-,0081	,0120	,9979
	SCH-L2	,0377	,0120	,1512
	SCH-L3	,0678*	,0120	,0056
	SCH-L4	,0744*	,0120	,0029
	SCH-L5	,0448	,0120	,0676
	SCH-L6	,0562*	,0120	,0188
	SCH-L7	,0298	,0120	,3455
	MIT - L51	,0368	,0120	,1660
MIT - L51	SCH-L1	-,0450	,0120	,0665
	SCH-L2	,0009	,0120	1,0000
	SCH-L3	,0311	,0120	,3052
	SCH-L4	,0377	,0120	,1512
	SCH-L5	,0080	,0120	,9981
	SCH-L6	,0195	,0120	,7752
	SCH-L7	-,0070	,0120	,9993
	SCH-L8	-,0368	,0120	,1660

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

DISCUSIÓN

La industria de la fermentación microbiana ha experimentado un crecimiento revolucionario en los últimos años que ha permitido la producción en gran escala de varias sustancias orgánicas entre ellas el etanol, de importancia económica para la pequeña y mediana industria de la producción de alcohol. El aislamiento y selección de levaduras productoras de etanol es una práctica que viene realizando el hombre desde hace miles de años, con el objeto de producir alcohol, bebidas alcohólicas, pan, y alimentos fermentados. Las propiedades de las bebidas fermentadas tradicionales como la “chicha de jora” son el resultado combinado de la actividad metabólica sinérgica de distintos tipos de levaduras y grupos microbianos, junto con las características del proceso de producción.

La Chicha de Jora, es una bebida fermentada elaborada artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco que por sus características de elaboración utilizan materias primas e insumos propios de la zona. En los procesos de fermentación, las levaduras brindan una contribución útil para el mejoramiento del sabor y aceptabilidad del producto^{21,22}). Quizá la especie más reconocida, tanto en

bebidas fermentadas espontáneas como inoculadas, es *S. cerevisiae*²³, siendo una de las de mayor interés a nivel comercial, ya que produce y tolera altas concentraciones de etanol y sintetiza compuestos volátiles que le brindan el sabor y aroma al producto final.

Estos conocimientos permitieron la investigación del aislamiento y selección de levaduras nativas productoras de etanol, así en esta experiencia, se aislaron cultivos nativos puros de levaduras que fueron evaluadas por el método de Davies-Griffith Modificado⁷, para determinar sus productividades de etanol. Seleccionándose ocho cultivos de levaduras nativas que mostraron diferentes productividades (en g etanol/g lev. h), y con diferencias estadísticamente significativas entre algunas de ellas (Tabla 3). Estas levaduras nativas no superaron estadísticamente la productividad alcanzada por el cultivo control de alta productividad *S. cerevisiae* MIT-L51 utilizada como referente, quien fermentó en las mismas condiciones que las levaduras seleccionadas, pero sí tuvieron una productividad similar ya que según la evaluación estadística de comparaciones múltiples realizada no muestran diferencia significativa con el cultivo control, este hallazgo muestra una información relevante ya que los aislados realizados son levaduras de altas productividades con potencial uso industrial.

Por otro lado comparando investigaciones se encontró que Centurión²⁴ realizó un trabajo sobre las selecciones secundarias de levaduras “nativas” productoras de etanol aisladas de frutos de la Región La Libertad-Perú, en *Fragaria sp.* “fresa”, *Spondias purpurea* “ciruela” y *Vitis vinifera* “uva” y determinó que sus productividades superaban, en todos los casos, al cultivo control *S. cerevisiae* MIT L51, y por ende a los cultivos seleccionados en este trabajo, pero a diferencia de esta investigación que se utilizó Caldo sabouraud Sacaroso al 10% (CSS), él utilizó una Solución Azucarada Bufferada Enriquecida (SABe), que incluye sales de K₂HPO₄ (0.2 g %) y NaH₂PO₄ (0.2 g%).

Es importante saber que las condiciones medio ambientales y las fuentes nutritivas en los medios de aislamiento, selección y evaluación de microorganismos (y para este caso la determinación de la capacidad fermentativa), juegan un rol importante en la comparación de datos y la reproducibilidad de los mismos. Por ello en la presente investigación, se ha tenido en cuenta mantener las condiciones constantes para todas las evaluaciones, toda vez que durante este proceso, pueden haber factores que pueden influir sustancialmente, como es el caso de los diluyentes, esto en razón de que se ha encontrado que los diluyentes, como agua peptonada y destilada tienen influencia en los recuentos de levaduras²⁵. En conclusión: (i) se aislaron, seleccionaron y conservaron ocho cultivos nativos de levadura de alta productividad de etanol, a partir de "chicha de jora" elaborados artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco, La Libertad-Perú, (ii) se identificaron macroscópicamente y microscópicamente ocho cultivos nativos de levaduras nativas productoras de etanol, aisladas de “chicha de jora” elaborados artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco, (iii) se determinó de acuerdo al análisis estadístico de comparaciones múltiples, diferencia significativa entre las productividades de algunos de los ocho cultivos nativos de levaduras productoras de etanol (Tabla 3), aislados a partir de "chicha de jora" elaborada artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco y (iv) no se encontró diferencia significativa entre el cultivo control referente de *S. cerevisiae* MIT-L51 y los ocho cultivos nativos de levaduras productoras de etanol aislados a partir de "chicha de jora" elaborada artesanalmente en el distrito de Santiago de Chuco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Madigan M, Martinko J, Parker J. Brock Biología de los Microorganismos. 10ª ed. Madrid, España: Pearson Prentice Hall. 2004.
2. Suárez, B., R. Pando, R. Fernández, A. Querol y R. Madrera. Yeast species associated with the spontaneous fermentation of cider. Food Microbiol. 2007; 24:24-31
3. Doran P. Principios de Ingeniería de Bioprocesos. Zaragoza. España: Edit. Acribia, S.A. 1998.

4. Prescott L, Harley J, Klein D. Microbiología. 5ª ed. Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U. 2004.
5. Becker J, Caldwell G, Zachgo E. Biotecnología Curso de Prácticas de Laboratorio. Zaragoza, España: Edit Acibia S.A. 1999.
6. Torija M. Ecología de levaduras: Selección y adaptación a fermentaciones vínicas. [Tesis de Doctor en Bioquímica]. Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Facultad de Enología. Tarragona. España. 2002.
7. Villanueva E. Selección secundaria de bacterias productoras de amilasas. En: Villanueva E, H. Robles y M. Otiniano (eds.). Guía de Prácticas de Microbiología Industrial. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2008.
8. Villanueva E, Requejo H. Aislamiento y selección primaria de levaduras productoras de etanol a partir de frutos de la Región La Libertad, Trujillo-Perú. En: I Jorn Investig Farmacéutica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2006; pp.221-230.
9. Torija M, Rozes N, Poblet M, Guillamon J, Mas A. Yeast population dynamics in spontaneous fermentations: Comparison between two different wine-producing areas over a period of three years. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2001; 79:345-352.
10. Zarpán L, Villanueva E. Optimización de factores en la elaboración de vino de dos variedades de *Opuntia ficus-indica* "tuna" empleando *Saccharomyces cerevisiae*. En: I Cong Peruano de Biotecnología y Bioingeniería. Trujillo. Perú. 1998; p.19.
11. Villanueva E. Efecto de variables físico-químicas sobre el crecimiento y proteinogramas de dos cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* productores de etanol aislados de frutos de la región La Libertad-Perú. [Tesis de Doctora en Ciencias Biológicas]. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2007.
12. Vásquez V. Avances de investigaciones en Biotecnología Agroindustrial en la Universidad Nacional de Trujillo. En: I Seminario: Procesos Agroindustriales y Aseguramiento de la Calidad. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2002; p.48
13. Salinas C. Fenotipo "killer" en levaduras productoras de etanol aisladas de frutos de *Vitis vinifera* de la Región La Libertad, Perú. [Tesis de Biólogo-Microbiólogo]. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2009.
14. Le Jeune C, Ernya C, Demuytera C, Lolliera M. Evolution of the population of *Saccharomyces cerevisiae* from grape to wine in a spontaneous fermentation. *Food Microbiol*. 2006; 23(8):709-716
15. Beltrán G, Torija M, Novo M, Ferrer N, Poblet M, Guillamón J, Rozés N, Mas A. Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six year follow-up study. *System Appl Microbiol*, 2002; 25 (1):287-293.
16. Coton E, Coton M, Levert D, Casagerola G, Dohier D. Yeast ecology in French cider and blank olive natural fermentation. *Int J Food Microbiol*. 2006; 108(1):130-135.
17. Ganga A. Recolección y caracterización de cepas autóctonas de levaduras para la diferenciación e identidad organoléptica de los vinos chilenos. Centro de estudios en Ciencia Tecnología de los Alimentos (CECTA). Universidad de Santiago de Chile. Santiago de Chile. Chile. 2000.
18. Epifanio S, Gutiérrez A, Santamaría M, López R. The influence of enological practices on the selection of wild yeast strains in spontaneous fermentation. *Am. J. Enol. Vitic*. 1999; 50(1):219-224.
19. Paolino G, Esterovich J, Vescarra S, Garmendia G, Vero S. Selección de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae* para la producción nacional de sidra. Universidad de la República. Uruguay. En: XIV Cong de la Asociación de Universidades. AUGM. Brasil. 2006; p.35
20. Yegres F, Fernández-Zeppenfeldt G, Padin C, Rovero L, Richard-Yegres N. *Saccharomyces cerevisiae* en la fabricación de licor "cocuy". *Rev. Ven. Microbiol*. 2003; 23 (1):51-54
21. Banigo EO, De Man JM, Duitschaever CL. Utilization of high-lysine corn for the manufacture of ogi using a new improved processing system. *Cereal Chemistry* 1974; 51:559-572.
22. Odunfa SA, Adeyele S. Microbiological changes during the traditional production of Ogi-baba, West African fermented sorghum gruel. *J Cereal Science* 1985; 3:173-180
23. Jespersen L. Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages. *FEMS Yeast Research* 2003; 3:191-200

24. Centurion AN. Selección secundaria de levaduras “nativas” productoras de etanol aislada de frutos de la Región La Libertad-Perú. [Invest. Título de Biólogo-Microbiólogo]. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2008.
25. Valverde DR. Efecto del diluyente en el recuento de células viables de *Saccharomyces cerevisiae* MIT-L51. [Invest. Título de Biólogo-Microbiólogo]. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2009.

Correspondencia: aqdperu@gmail.com



Cinética de inactivación térmica de *Salmonella* sp. en jugo de fresa, *Fragaria* sp.

Kinetics of thermal inactivation of *Salmonella* sp. in juice of *Fragaria* sp.

Luis A. Llenque-Díaz, Aníbal Quintana-Díaz, Eva E. Villanueva de Cueva,
Nelver A. Moreno-Ruiz y Rosa M. Segura-Vega
Departamento Académico de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas.
Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo - Perú.

RESUMEN

Se determinó la cinética de termodestrucción de *Salmonella* sp. a temperaturas de 50, 55 y 60°C en jugo de fresa, *Fragaria* sp. Se reactivó el cultivo bacteriano y ajustó a una turbidez equivalente al 9×10^8 células/mL. Luego, se licuó 300 g de frutos maduros de fresa con 800 mL de agua destilada; previa filtración, se depositó el jugo en recipiente estéril y fue pasteurizado a 80°C por 5 minutos. Cada sistema de ensayo fue acondicionado en un matraz de vidrio de 250 mL con 90 mL de jugo pasteurizado y 10 mL de inóculo bacteriano estandarizado y sometido luego a temperatura de 50°C en baño maría. Desde el tiempo 0 y cada 2 minutos, hasta los 6 minutos, se extrajo una alícuota de 1 mL de muestra, se hizo diluciones con solución salina estéril y sembró 1 mL de la dilución por incorporación en Agar Nutritivo, e incubó a 35°C por 18 horas, y los recuentos bacterianos se expresaron en UFC/mL. Este procedimiento se repitió tres veces consecutivas; asimismo, para las temperaturas de 55 y 60°C. Con los datos obtenidos se representó las curvas de supervivencia de la bacteria (UFC/mL) en relación al tiempo de exposición, se determinó la velocidad de muerte térmica de la bacteria y los valores D para cada temperatura de evaluación. La población de *Salmonella* sp. en jugo de *Fragaria* sp. fue reducida y destruida en mayor proporción a medida que se incrementó la temperatura con un valor D promedio de 2 minutos.

Palabras clave: Cinética, Termodestrucción, Valor D, *Salmonella* sp., *Fragaria* spp.

ABSTRACT

Kinetics of termodestruction of *Salmonella* sp. at temperatures of 50, 55 and 60°C in strawberry juice, *Fragaria* sp., was determined. Bacterial culture was reactivated and adjusted to a turbidity equivalent to 9×10^8 cells/mL. Then, 300 g of ripe fruits of strawberry was blended with 800 ml of distilled water. After filtration, was deposited juice in sterile container and it was pasteurized at 80°C for 5 minutes. Every test system developed in a flask of 250 mL glass with 90 mL of pasteurized juice and 10 mL of bacterial inoculum standardized, and subjected to a temperature of 50°C in a water bath. From the time 0 and every 2 minutes, up to 6 minutes, extracted an aliquot one-mL of sample, became dilutions with saline solution sterile and planted one mL of dilution by incorporation into Nutrient Agar and incubated at 35°C for 18 hours, and bacterial counts were expressed in CFU/mL. This procedure was repeated three times in a row; Likewise, for temperatures of 55 to 60°C. With the data obtained represented the survival curves of bacteria (CFU/mL) regarding exposure time, determined the speed of thermal death of the bacterium and D values for each temperature evaluation. The population of *Salmonella* sp. juice of *Fragaria* sp. it was reduced and destroyed in greater proportion to increased temperature with an average value of 2 minutes.

Keywords: Kinetics, Termodestruction, value D, *Salmonella* sp., *Fragaria* spp.

INTRODUCCIÓN

Las fresas, *Fragaria* spp. (Rosaceae), de fragante perfume y color llamativo, son una de las mejores fuentes naturales de antioxidantes y vitaminas C y E; sin embargo, se ha encontrado que los compuestos fenólicos presentes tienen una acción antioxidante más potente y que trabajan sinérgicamente con las vitaminas en la eliminación de los radicales libres. Su composición química en porcentaje, es: Sólidos totales, 7.0-12.7; Sólidos solubles totales, 4.6- 11.9; Azúcares totales, 4.1-6.6; Azúcares reductores, 3.7-5.2; Sacarosa, 0.2-2.5; Fructosa, 1.7- 3.5; Glucosa, 1.4-3.1; Pectinas solubles, 0.2-0.9; pH, 3.18-4.10; Acidez titulable, 0.50-1.87; Ácido cítrico, 0.42-1.24; Ácido málico, 0.09-0.68. Ácido ascórbico total, 26-120 mg/100 g; Fenoles totales, 58-210 mg/100 g y Antocianinas totales, 55-145mg/100 g¹⁻³.

Los alimentos, dentro de ellos los jugos frescos, son perecederos, por lo que necesitan ciertas condiciones de tratamiento, manipulación y conservación: si no son tratados adecuadamente se producen cambios en la textura, color, olor y sabor, debido, entre otros factores, a la proliferación de microorganismos. Entonces, los distintos métodos de conservación de alimentos pretenden incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, idealmente, aplicando técnicas que logren la inhibición o inactivación del crecimiento microbiano, pero manteniendo la calidad⁴.

Los tratamientos térmicos han sido las técnicas de inactivación de microorganismos más usados en la industria para producir alimentos seguros y durables y, dentro de ellos, la pasteurización⁵. Además, existen regulaciones que especifican que se requieren procedimientos para inhibir microorganismos patógenos en los jugos, los cuales exigen una reducción de cinco ciclos logarítmicos del número de microorganismos⁶. Sin embargo, los microorganismos tienen diferentes resistencias al calor y algunas de estas diferencias son debidas a factores que se pueden controlar, aunque otras son propias de los microorganismos y no siempre se pueden controlar⁷. En efecto, las poco patógenas son destruidas con facilidad, pero las termófilas requieren el empleo de temperaturas de 80 a 90°C durante varios minutos. También es máxima en la etapa final de la fase lag y casi tan elevada en la fase estacionaria máxima. *Salmonella typhi* muere a 60°C en 4.3 minutos, pero la composición del sustrato en el cual se encuentran las células vegetativas o esporas influye en la velocidad de inactivación de los microorganismos al someterse al tratamiento térmico. Así, por ejemplo, rangos de humedad entre 60 y 90% fue suficiente para obtener una reducción mayor o igual a 6.5 log de *Salmonella*⁸.

El criterio de muerte de un microorganismo se determina mediante métodos cuantitativos de siembra en placa donde los sobrevivientes se detectan porque forman colonias. Entonces, cuando una población microbiana se expone a un agente letal, la cinética de la muerte es casi siempre exponencial ya que el número de supervivientes disminuye de forma geométrica con el tiempo. Si se representa gráficamente el logaritmo del número de supervivientes frente al tiempo se obtiene una línea recta cuya pendiente negativa define la tasa de mortalidad. Esta tasa de mortalidad nos dice solamente que fracción de la población inicial sobrevive a un determinado período de tratamiento. Para cuantificar el número real de sobrevivientes es necesario conocer además el tamaño inicial de la población^{9,10}.

Varios procesos térmicos aplicados en la industria durante la fabricación de alimentos suelen ser efectivos para la destrucción de *Salmonella*; sin embargo, el tratamiento con calor ha dejado de ser altamente efectivo y debe combinarse con otro factor: la variación en los valores de pH^{11,12}. La resistencia térmica de *Salmonella* ha sido ampliamente estudiada sobre diversos sustratos y ambientes, tanto a nivel ambiental como de alimentos, a fin de establecer la temperatura necesaria para la destrucción de este patógeno¹³. Se ha registrado la sobrevivencia de *Salmonella* sp. en compost industrial durante 59 días a 60°C, lo cual podría a la generación de factores de termorresistencia como proteínas de membrana alternas que le confieren una mayor protección al calor^{14,15}.

Uno de los parámetros cinéticos para la inactivación de microorganismos es el tiempo de reducción decimal o valor D, donde la muerte de microbios a una temperatura elevada es aceptada como una cinética de primer orden, la cual basa en que a una temperatura constante el rango de muerte de los microorganismos es directamente proporcional con la concentración presente en un tiempo en particular. El resultado de la cinética de primer orden es definido por el tiempo durante el cual el número de microorganismos mueren de uno a diez del número inicial en un intervalo de tiempo, independiente del número actual¹¹. Entonces, el valor D corresponde al tiempo de calentamiento necesario para reducir la población del medio a la décima parte de su valor inicial.

Sánchez⁹ afirma que a pesar de que un tratamiento térmico sea severo, siempre habrá la oportunidad de sobrevivencia o que la probabilidad de sobrevivencia puede ser extremadamente pequeña, o que la

probabilidad de sobrevivencia en cualquier proceso es directamente proporcional a la población original. También afirma que es ideal realizar calentamientos cortos a altas temperaturas logrando respetar las condiciones iniciales del medio. En ese sentido, se observó que el procedimiento UHT en la leche y otros alimentos se ha convertido en un éxito en cuanto a conservación de los alimentos si llegar a cambiar ostensiblemente las condiciones sensoriales y nutritivas del medio.

La inactivación microbiana y la seguridad del alimento se incrementa entre más severo sea el tratamiento térmico, pero la calidad sensorial u organoléptica del producto generalmente disminuye; sin embargo, se deben tomar en cuenta ambos aspectos y considerar el factor que está afectando más la calidad final del producto, y basándose en ese factor se deben de plantear los procesos. Se debe de considerar para el cálculo de los procesos las variables cinéticas (D y Z) para llevar a cabo un tratamiento térmico adecuado y no sobreestimar o subestimar el proceso al cual el alimento debe ser sometido. De igual importancia, es tener conocimiento de la flora bacteriana que está asociada con los materiales para aplicársele el tratamiento térmico apropiado¹⁷.

La presencia del patógeno *Salmonella* sp. en frutas y también en aguas de riego por contaminación es evidente. Además, existe un riesgo latente al preparar y comercializar jugos de fruta contaminado con este patógeno que son utilizados como materia prima en la elaboración de otros productos derivados de interés alimentario y comercial. En este sentido, el conocimiento de la cinética de inactivación térmica de *Salmonella* a temperaturas de pasteurización en jugos de frutas, permitirá proponer metodologías para optimizar el proceso de pasteurización de los jugos de fruta y deducir nuevos mecanismos de adaptación y resistencia de esta bacteria. Entonces, el objetivo de la presente investigación es determinar la cinética de inactivación térmica de *Salmonella* sp. en jugo de fresa a las temperaturas de 50, 55 y 60°C y determinar la velocidad de muerte y los valores D promedio a las condiciones de ensayo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico:

Se utilizaron frutos maduros de fresa adquiridos en el Mercado La Hermelinda (Trujillo-Perú) y un cultivo puro de *Salmonella* sp. proporcionado por el Laboratorio de Fisiología y Genética Microbiana de la Universidad Nacional de Trujillo (Trujillo, Perú).

Preparación de jugo de fresa y medición del pH

Se pesó 300 g de fresa, lavados con agua destilada estéril y desinfectados con solución de hipoclorito de sodio 2.5 % y enjuagados con agua destilada estéril tres veces consecutivas. Se colocó en una licuadora eléctrica; se adicionó 800 ml de agua destilada estéril, y licuó por 10 minutos. Posteriormente se filtró con un tamiz de plástico de 0.01 mm y el filtrado se colocó en frascos estériles. Se midió el pH haciendo uso de cintas comerciales y se pasteurizó a 80 °C por 5 minutos.

Reactivación del cultivo y preparación del inóculo

El cultivo de *Salmonella* sp fue sembrado por estría en Agar Mac Conkey e incubado a 35 °C por 18 h. A partir de las colonias amarillas, se sembró en Agar Nutritivo, por estría y agotamiento, e incubó en las mismas condiciones. Se hizo una coloración Gram para verificar la pureza del cultivo. Se sacaron varias colonias del cultivo reactivado y se preparó una suspensión bacteriana en agua peptonada 0.1% estéril, ajustándose a una turbidez del tubo 3 del nefelómetro de Mac Farland equivalente a 9.0×10^8 UFC/mL.

Preparación del sistema de ensayo e inoculación

Se preparó el sistema de ensayo constituido por un matraz de 250 ml, conteniendo 90 ml de jugo de fresa, al mismo tiempo que se agregó 10 ml de inóculo bacteriano y se homogeneizó manualmente por 3 minutos.

Monitoreo, siembra y recuento

El sistema de ensayo fue calentado a 50°C en baño maría y a los 0, 2, 4, y 6 minutos, se extrajo una alícuota de 1.0 mL de muestra y agregado en 9 ml de agua peptonada 0.1%. Se realizó las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , y 10^{-5} . Finalmente, se sembró en Agar Nutritivo, por incorporación 1 ml de muestra diluida, e incubado a 35°C por 18 h. Se hizo el recuento de las unidades formadoras de colonias/ml de las bacterias sobrevivientes en cada una de las placas sometidas a la temperatura de ensayo.

Todo este procedimiento se repitió tres veces consecutivas y este mismo procedimiento se realizó con las temperaturas de 55 y 60°C.

RESULTADOS

Se encontró que la curva de muerte de *Salmonella* sp., a pH 4.0, presenta las mismas tendencias a las temperaturas probadas (Fig. 1) y que a 60°C, la velocidad de muerte en minutos fue mayor que las otras temperaturas probadas y, en cambio, el valor D fue menor ($p < 0,05$) que a 55 y 50°C (Tabla 1)

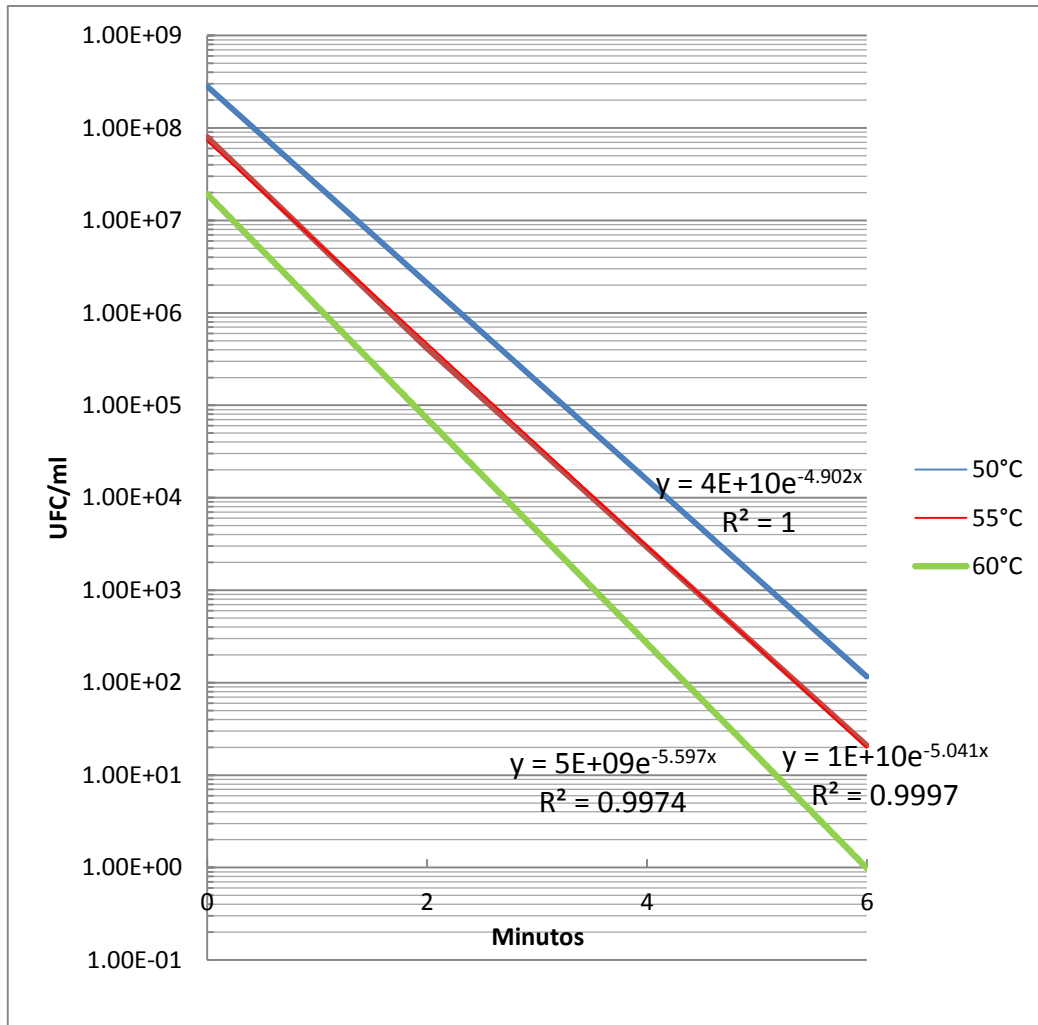


Fig. 1. Curva de muerte térmica de *Salmonella* sp. a 50°C (—), 55°C (—) y 60°C (—) en jugo de fresa, pH 4.0.

Tabla 1. Velocidad de muerte y valor D promedio para *Salmonella* sp. en jugo de fresa a diferentes temperaturas de evaluación.

Temperatura (°C)	Velocidad de muerte (minutos ⁻¹)	Valor D (minutos)				D. E.
		Repeticiones			Promedio	
		1	2	3		
50	4.902	2.162	2.164	2.163	2.163 ^a	0.001
55	5.041	2.011	2.077	2.099	2.062 ^a	0.046
60	5.597	1.889	1.925	1.657	1.824 ^b	0.145

D. E. : Desviación Estándar

^a : $p > 0.05$

^{a,b} : $p < 0.05$

DISCUSIÓN

Los comensales discrepan en relación al consumo de frutas y hortalizas frescas por ser un alimento saludable, accesible a las grandes mayorías y de bajo costo; y por otro lado, por qué su consumo representa un riesgo latente de infección por microbios patógenos¹⁸. Aquí se evidenció la permanencia de esta bacteria después de haber sido expuestas a temperaturas de 50, 55 y 60 °C hasta por 6 minutos (Fig. 1). Al respecto, se han reportado brotes infecciosos asociados al consumo de jugos de naranja y manzana^{19,20} que pueden ser incorporados en los alimentos y causar gastroenteritis y sepsis; estas infecciones son casi siempre el resultado de la ingestión de alimentos contaminados con bacterias como *Salmonella* spp.²¹. Además de la patogenicidad, estudios han advertido su propagación a través de la cadena alimentaria²² y contaminar otros lotes de manera silenciosa²³ cuando no existe ningún procedimiento de inspección destinado específicamente para el control²⁴.

Salmonella spp. se encuentra en la naturaleza a través de la eliminación inadecuada de residuos de origen humano y/o animal constituyendo fuente de contaminación de alimentos²⁵. La población de *Salmonella* sp. contamina los frutos maduros de *Frugaria* spp. debido a que los agricultores utilizan aguas de regadío contaminados con esta bacteria o durante su comercialización. Por tanto, su presencia en los mercados públicos y grandes centros comerciales a nivel local, regional y nacional, donde se preparan las frutas de manera artesanal o en plantas procesadoras con escaso control de calidad, y que son distribuidos en una actividad comercial ágil constituye un peligro latente; debido a que la recolección, manipulación y procesamiento de las frutas frescas posibilita la incorporación de esta bacteria patógena durante el rebanado, picado o troceado del material vegetal, que sobreviven si no se hace un buena pasteurización y pueden reproducirse activamente^{26,27}.

Esquivel et al²⁸ detectaron la presencia de *Salmonella* spp en el 11.11% de muestras de tomate constituyendo un riesgo potencial para la infección con patógenos en los consumidores. Al mismo tiempo, existen diferentes procesos tecnológicos para eliminar o reducir el número de salmonelas en los alimentos crudos, tales como son: esterilización, pasteurización⁷, congelación, refrigeración²⁹, ajuste de pH¹², irradiación³⁰ y Aw³¹, e incluso la adición de químicos³² y conservantes naturales como los aceites esenciales con poder bactericida, ya que dificultan la actividad y el desarrollo del patógeno. Por tanto, la destrucción térmica constituye una posibilidad de destruir la población bacteriana presente y los resultados obtenidos, ponen en evidencia que la pasteurización de jugos de *Frugaria* spp a 60 °C por más de 6 minutos si podría eliminar la totalidad de la población de *Salmonella* sp. contaminante.

La aseveración anterior como resultado de esta investigación se acopla a los fabricantes de alimentos envasados y en el caso específico de los jugos, donde la pasteurización se realiza a 95°C por 30 segundos³³. De manera general, someten sus productos a una temperatura por encima de 45 °C durante un periodo de tiempo determinado para garantizar la inactivación de bacterias y destruir células viables. De igual modo, se reportó que a 60 °C, *Salmonella typhi* es destruida a los 4.3 minutos¹⁷. En tanto que, Bautista¹³ determinó que la temperatura de 50 °C redujo la población inicial de *Salmonella* spp. en caldo BHI a pH 7.0 en un 36.8%; mientras que, la temperatura de 60 °C disminuyó en un 53.2% y 70 °C en un 62%, e inactivó totalmente a los 180 minutos de tratamiento a pH 7.0 y de 105 minutos a pH 5.5. En tanto que se ha determinado que *Salmonella* se puede prevenir a las temperaturas de 93.3 a 176.8 °C por 45 a 60 segundos³⁴.

El calor afecta directa e indirectamente los microbios desnaturando las proteínas intracelulares e impidiendo la síntesis de nuevas proteínas. De allí que la destrucción microbiana a una temperatura elevada es generalmente aceptada por la cinética de primer orden¹¹. Esta tendencia se observa en la Fig. 1 donde la población de *Salmonella* sp. es destruida directamente proporcional en cada una de las temperatura de ensayo (50, 55 y 60°C) con relación a la concentración presente en un tiempo en particular y la velocidad de muerte es mayor a medida que se incrementa la temperatura, desde 4.902 a 5.597 generaciones muertas/ minuto (Tabla 1) y la reducción de la población bacteriana osciló entre 7 y 8 unidades logarítmicas de la población inicial (Fig. 1) por daños en el ADN, desintegración de la estructura completa de la bacteria y por lisis de proteínas¹². Al respecto, existen regulaciones que especifican que se requieren procedimientos para inhibir microbios patógenos en los jugos, los cuales exigen una reducción de cinco ciclos logarítmicos del número de microorganismos¹⁹.

La pasteurización es adecuada para alimentos líquidos, ligeramente ácidos o zumos de verduras y fruta. Este tipo de tratamiento térmico se utiliza como método principal para inactivar *Salmonella* en la

preparación y transformación de alimentos crudos. Las temperaturas oscilan a partir de 70 °C aunque los alimentos con poca actividad de agua o alto contenido de grasa exigen un tratamiento térmico más intenso¹³. Algunos protocolos proponen aumentar la temperatura, disminuyendo el tiempo de tratamiento, ultrapasteurización, para no alterar en lo posible las propiedades organolépticas del alimento; por ejemplo, 72 °C por 15 segundos aunque en huevos es de 64-65 °C durante 2-4 minutos³⁵; y en el caso específico de la pasteurización del jugo de fresa se determinó que a 60 °C por 6 minutos se inactivó más del 99.99 % de la población inicial (Fig. 1) sin variación organoléptica aparente. En tanto que se logró destruir *Salmonella* spp. en compost a 55 °C por una hora o 60 °C por 15 a 20 minutos³⁶.

El tratamiento térmico de los alimentos con temperaturas altas conduce a la obtención de un producto libre de patógenos, sin embargo es necesario tener en cuenta que están limitados por los cambios en las características organolépticas y nutricionales que originan del producto final. Por otro lado, las células vegetativas y esporas son termorresistentes a pH cercano a 7.0; un alejamiento de este valor acelera su destrucción por el calor, siendo más eficaz un aumento hacia la acidez¹⁷, y según Welti-Chanes⁹, la fresa es un alimento ácido con pH entre 3.7 y 4.5. Además, la composición química del medio en que se encuentran las bacterias ejerce distinta influencia en la velocidad de inactivación de las mismas frente al tratamiento térmico. De allí que, el jugo de fresa, pH 4.0, proporcionó nutrientes a *Salmonella* sp. pero la concentración de solutos evitaron la acción del calor sobre las bacterias a las temperaturas de ensayo (Fig. 1) donde hay mayor cantidad de sobrevivientes, posiblemente debido a que las bacterias que solo fueron lesionadas por el calor aplicado, pudieron recuperarse posteriormente al encontrarse bajo condiciones ambientales y nutricionales apropiadas. Esta resistencia térmica también estaría relacionada con la presencia de factores de virulencia que le permiten soportar ambientes adversos³⁷.

El estudio de la cinética de inactivación microbiana permite optimizar el proceso para asegurar una mayor reducción de la población microbiana contaminante³⁰. Aquí, *Salmonella* sp. fue destruida desde el tiempo cero a las temperaturas de 50, 55 y 60 °C con valores D promedio de 2.163, 2.062, y 1.824 minutos, respectivamente no existiendo diferencia significativa entre los dos primeros, pero sí entre cualquiera de los dos primeros y el último valor D. Por su parte, Bautista⁹, reportó que *S. enteritidis* en caldo BHI, pH 7.0 tuvo un Valor D de 10.8 minutos a 70 °C; en tanto que, para *Salmonella* spp a 50 °C fue de 35.7 minutos, a 60 °C fue de 80.7 minutos, a 70 °C fue 73.6 minutos, y a 80 °C fue de 40.2 minutos. Por otro lado, la resistencia térmica ha sido evaluada en carne de pollo y en otros alimentos, siendo importantes estos datos por el grado de patogenicidad de esta bacteria asociada al consumo de frutas² y derivados en forma ambulatoria y artesanal.

En conclusión, la población de *Salmonella* sp. en jugo de *Fragaria* sp. fue reducida y destruida en mayor proporción a medida que se incrementó la temperatura con un valor D promedio de 2 minutos. Será necesario verificar las características organolépticas en que quedó el jugo después del tratamiento térmico para asegurar su consumo humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sánchez G. La red de valor fresa. Fundación Produce Michoacán, A.C. El Cluster Agroindustrial de Zamora. 2008.
2. Voca S, Duralija B, Druzic J, Skendrovic M, Dobricevic N, Cmelik Z. Influence of cultivation systems on physical and chemical composition of strawberry fruits cv Elsanta. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 2006; 71(4):171-174.
3. Kader A. Quality and its maintenance in relation to the postharvest. *Physiology of Strawberry*. In: Dale, A., Luby, J.J. (Eds.). *The Strawberry into the 21st Century*. Oregon, USA: Timber Press, Portland, 1991; pp.145-152.
4. Argai A, López-Malo A, Jiménez T, Ramírez M, Milacatl V. 2004. Thermal treatments optimization of mango nectar and puree products. *Proceedings of the international conference of engineering and food 9*. Montpellier Francia. En López -Díaz A, Palou E, López-Malo A. *Radiación ultravioleta en jugos de frutas: Fundamentos y aplicaciones*. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2012; 6(2):79-93.
5. Koutchma T. UV Light for Processing Food, *IUVA News* 2008; 10(4):24-29
6. Food and Drug Administration (FDA). Capítulo 12: Seguridad alimentaria para futuras mamás: Profesionales de la medicina - Los 14 patógenos principales transmitidos por los alimentos. 2014.
7. Lewis M, Heppell N. *Continuous thermal processing of foods, pasteurization and UHR Sterilization* Aspen Publishers Inc. Gaithersburg, Maryland. 2000.

8. Mann J, Braschears M. Contribution of humidity to the lethality of surface-attached heat-resistant *Salmonella* during the thermal processing of cooked ready-to-eat roast beef. *J Food Protection* 2006; 70(3):276-765
9. Welte-Chanes J. Tratamiento térmico de alimentos. En Vásquez-Aguilar M. 2007. Fundamentos de la determinación de parámetros cinéticos para microorganismos de interés en tratamiento térmico de alimentos. Temas selectos de ingeniería de alimentos 1. Universidad de las Américas Puebla, México. 2007; pp.1-14.
10. Von Rückert D, Pinto P, Santos B, Moreira M, Rodrigues A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2009; 61(2):326-330.
11. Rees J, Bettison J. Processing and packaging of Heat Preserved food. CMB Packaging technology, Wastage, Berks Blackie, Glasgow and London. 1991.
12. Leguérinel I, Spegagne I, Couvert O, Coroller L, Mafart P. Quantifying the effects of heating temperature, and combined effects of heating medium pH on the heat resistance of *S. typhimurium*. *Internacional J Food Microbiol*, 2007; 116:88-95.
13. Bautista G. Evaluación en tres microambientes diferentes de la termorresistencia de una cepa de *Salmonella* spp aislada de compost. Trabajo de grado para optar el título de Microbiólogo Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2009.
14. Droffner M, Brinton W. Survival of *E. coli* and *Salmonella* populations in aerobic thermophilic compost as measured with DNA gene probes. *Zentralbl Hyg Umweltmed. Inter J Hyg and Environm Med* 1995; 197:387-397.
15. Humpheson L, Adams M, Anderson W, Cole M. Biphasic thermal inactivation kinetics in *Salmonella enteritidis* PT4. *Appl Environm Microbiol*, 1998; 64:459-464.
16. Sánchez J. Introducción a la microbiología predictiva. Disponible en: <http://www.slideshare.net/docenciaeasp/microbiologia-predictiva>. Consultado: Octubre 2011.
17. Vásquez-Aguilar M. Fundamentos de la determinación de parámetros cinéticos para microorganismos de interés en tratamiento térmico de alimentos. Temas selectos de ingeniería de alimentos 1. Universidad de las Américas Puebla, México. 2007; pp.1-14
18. Isaacs S, Araminutosi J, Ceibin B, Farrar J, Ahmed R, Middleton D, et al. An international outbreak of salmonellosis associated with raw almonds contaminated with a rare phage type of *Salmonella enteritidis*. *J Food Protection*, 2005; 68(1):191-198.
19. Food and Drug Administration (FDA). Hazard analysis and critical control point (HACCP); procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice; final rule. *Fed. Register* 2001; 66(13):6137.
20. Instituto Nacional de Salud de Colombia (INSC). Ministerio de la Protección Social. Perfil de riesgo *Salmonella* spp. (No tifoideas) en pollo entero y en piezas. Bogotá. Colombia. 2011.
21. Lai J. La distribución de serotipos y resistencia a los antibióticos de *Salmonella* en animales productores de alimentos en Shandog provincia de China, 2009 y 2012. *Int J Food Microbiol Amsterdam* 2014; 180(1): 30-38.
22. Hirsh D. *Veterinary Microbiology*. Massachussets; USA: Blackwell Science Eds. 1999.
23. Juneja V, Eblen B, Marks H. Modeling non-linear survival curves to calculate thermal inactivation of *Salmonella* in poultry of different fat levels. *Int J Food Microbiol*. 2001; 70:37-51.
24. Lima E, Pinto P, Santos J, Vanetti M, Bevilacqua P, Almeida L, Pinto M, Dias F. Isolamento de *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus* no processo do abate suíno como subsídio ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2004; 24(4):185-190,
25. Budiati T. Prevalencia, resistencia a los antibióticos y el plásmido de perfiles de *Salmonella* en bagre (*Clarias gariepinus*) y tilapia (*Tilapia mossambica*) obtenido de mercados húmedos y lagunas en: De Busser E, Zutter L, Dewulf J, Houf K, Maes D. *Salmonella* control in live pigs at slaughter. *The Veterinary Journal* 2013; 196: 20-27.
26. Doyle M, Mazzotta A. Review of Studies on the Thermal Resistance of Salmonellae. *J Food Prot.* 2000; 63: 779-795.
27. Olvera D. Frecuencia y comportamiento de *Salmonella*, y microorganismos indicadores de higiene en jugo de zanahoria. [Tesis título de Químico en Alimentos]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. 2007.
28. Esquivel-Valenzuela B, Gallegos-Robles M, Vázquez-Vázquez C, Salazar-Sosa E, García-Hernández J, Orona-Castillo L, et al. Detección de *salmonella* spp. en tomate mediante métodos microbiológicos. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Universidad Juárez del Estado de Durango 2016; 1 (1):162-166.
29. Tirado J, Paredes D, Velázquez G, Torres J. Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados. *Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos*. Reynosa, México. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2005; 5(1):66-76
30. López -Díaz A, Palou E, López-Malo A. Radiación ultravioleta en jugos de frutas: Fundamentos y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2012; 6(2):79-93.

31. Kiran R, Syamaladevi R, Villa-Rojas R, Tang J. Design of a novel test cell to study the influence of water activity on the thermal resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. J Food Engineering. 2017; 208:48-56.
32. Moretro T, Heir E, Nesse L, Vestby L, Langsrud S. Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection. Food Res Internat, 2012; 45 (2):532-544.
33. Madrid A, Cenzano I, Madrid J. Nuevo manual de industrias alimentarias. Mundi-Prensa Libros. Madrid. 1994; p.595.
34. Yang S, Wu Z, Lin W, Xu L, Cheng L, Zhou L. Investigations into *Salmonella* contamination in feed production chain in Karst rural areas of China. Environ Sci Pollut Res. 2017; 24:1372-1379
35. Ministerio de Agricultura y Pesca y Alimentación de España (MAPAE). Seguridad alimentaria en huevos y ovoproductos. 2ª Ed. Instituto de Estudios del Huevo. Madrid, España. 2006.
36. Arnedo J, Parrado G, Pedroza M, Poutou R. Aislamiento y caracterización de bacterias termófilas aerobias con actividad amilolítica a partir de pilas de compost en fase mesofílica. [Tesis de Pregrado, Microbiología Industrial]. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Colombia. 2002.
37. Meza R, Monroy A, Rodríguez P, Pedroza A, Poutou R, Mercado M. Evaluación de la estabilidad del método de criopreservación en glicerol para el establecimiento de un banco de cepas. [Tesis de Pregrado]. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología. Bogotá. Colombia. 2002.

Correspondencia: albertoyenque65@gmail.com



Enterobiasis en niños menores de 6 años del distrito Víctor Larco Herrera (Trujillo, Perú). 2016

Enterobiasis among children under six years-old from Victor Larco Herrera district (Trujillo, Peru). 2016

Flor del Carmen Soriano¹ y César A. Jara²

¹Exalumna de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú (UNT).

²Departamento de Microbiología y Parasitología UNT

RESUMEN

La enterobiasis, helmintiasis producida por *Enterobius vermicularis*, es una de las enfermedades transmisibles más prevalentes en la población infantil del Perú y la más difícil de controlar por los diversos factores que intervienen en la cadena de su propagación; sin embargo, la real prevalencia y los factores de riesgo no se conocen en muchas partes del Perú, dentro de ellas la zona costera de la Región La Libertad. En la presente investigación se determinó la prevalencia de enterobiasis en niños menores de seis años habitantes en el distrito de Víctor Larco Herrera (Trujillo, Perú) y su relación con algunos factores epidemiológicos, de marzo a diciembre del 2016. Se evaluó las muestras de restos perianales obtenidas por la técnica de Graham de 280 niños (157 niños y 123 niñas) menores de 6 años que acudieron al Hospital distrital de Vista Alegre y la información de factores epidemiológicos obtenidos mediante encuestas. Se encontró: una prevalencia global de 58.6% y que la prevalencia no estuvo asociada a la edad ($p>0,05$), pero sí ($p<0,05$) al sexo (más prevalente en niños -38.2%- que en niñas -20.4%) y al índice de hacinamiento (a mayor hacinamiento, mayor prevalencia).

Palabras clave: *Enterobius vermicularis*, enterobiasis, índice de hacinamiento, técnica de Graham

ABSTRACT

Enterobiasis, helminthiasis produced by *Enterobius vermicularis*, is one of the most prevalent communicable diseases in the child population of Peru and more difficult to control due to its great diffusion and the various factors that intervene in its chain of propagation; however, its real prevalence and risk factors are not known in many parts of Peru. In the present investigation, the prevalence of enterobiasis was determined in children under six-years of age living in the district of Victor Larco Herrera (Trujillo, Peru) and its relationship with some epidemiological factors, from March to December, 2016. For this purpose, the samples obtained of 280 children (157 boys and 123 girls) under six-years of age attended in the Hospital distrital de Vista Alegre was evaluated by Grahams' technique, as well as, the information about epidemiological factors obtained through surveys. It was found: a global prevalence of 58.6%, and that the prevalence was no associated with the age ($p>0,05$), but was associated with the sex (more prevalent in children -38.2%- than in girls -20.4%) and rate of overcrowding (more crowding, more higher prevalence).

Keywords: *Enterobius vermicularis*, enterobiasis, overcrowding index, Graham technique

INTRODUCCIÓN

Producida por *Enterobius vermicularis*, la enterobiosis u oxiuriasis es una infección parasitaria de distribución mundial presente en todos los climas, niveles sociales y económicos de la población; es una de las enfermedades transmisibles más difíciles de controlar, no sólo por su gran difusión debido a que se puede adquirir por ingestión y/o inhalación de huevos infectivos o por el mecanismo de retroinfección, sino por los diversos factores que intervienen en su cadena de propagación; se presenta sobre todo en los primeros años de vida, ya que este grupo de población (niños de 5 a 12 años de edad) aún no ha adquirido los hábitos higiénicos necesarios para prevenirlo y aun no presentan inmunidad frente a este parásito y la carencia de agua potable las 24 horas del día y la falta de educación en la prevención de enfermedades parasitarias, se encuentran entre los otros factores sociales que facilitan la incidencia de esta parasitosis¹⁻³.

La enterobiasis es, una helmintiasis intestinal asintomática en adultos quienes por lo general portan una baja carga parasitaria; sin embargo, en niños, sobre todo en aquellos parasitados por gran número de especímenes hembras producto de las frecuentes reinfecciones, se presentan una serie de signos y síntomas que incluyen nerviosismo, inquietud, irritabilidad y distracción, aspectos que pueden influenciar en su crecimiento físico y cognoscitivo; el problema puede agravarse en niñas cuyas partes genitales pueden ser invadidas por hembras de *E. vermicularis* erráticas o por huevos, los cuales, causan vaginitis o vulvovaginitis con descensos que se confunden con las producidas por otros agentes infecciosos^{2,4,5}.

Se estima que entre el 4 y 28% de niños se hallan infectados globalmente por *E. vermicularis*^{6,6}. En el Perú, cuando se aplica la técnica de Graham para la detección, que es la técnica “Gold estándar”, se registran elevadas prevalencias en la población infantil de diversas regiones⁷⁻¹³. Sin embargo, cuando se registra la frecuencia del helminto junto con otros en un contexto de parasitismo intestinal, las frecuencias presentadas son, por lo general, menos del 1%^{3,5,14}. En la Región La Libertad y por lo tanto en Trujillo poco se ha investigado al respecto; en efecto, solo se tiene referencia de las investigaciones efectuadas en Paiján que tuvo como resultado el porcentaje de positividad de 26.4¹⁵, en Cascas donde se detectó que el 36.5% de niños examinados presentaron positividad a los huevos en la prueba del parche¹⁶ y en Alto Trujillo, donde se halló un 34.4 de parasitismo por *E. vermicularis*¹⁷.

Dada la necesidad de contar con cifras actualizadas respecto de la prevalencia de la infección por *E. vermicularis* en diferentes áreas del Perú y en particular de la Región La Libertad, así como su distribución por grupos etarios y sexo, considerando que los registros nacionales son escasos²¹ y que estos datos tienen importancia para poder establecer nuevas y mejores políticas de salud, se llevó a cabo una investigación que estuvo dirigida a determinar la prevalencia de enterobiosis en niños menores de seis años procedentes del distrito de Víctor Larco Herrera y que acudieron a consulta externa al Hospital distrital de Vista Alegre y su relación con algunos factores epidemiológicos, de marzo a diciembre del año 2016.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área y población estudiadas:

La presente investigación fue conducida en el distrito de Víctor Larco Herrera, antes Buenos Aires (Fig. 1), uno de los 11 distritos de la provincia de Trujillo (Región La Libertad, Perú); presenta una extensión superficial de aproximadamente 64533 km y una población total de 23,767 habitantes de los cuales, el 60% tiene necesidades socioeconómicas insuficientes, el 20% está en pobreza extrema y el 3% se encuentra en situación de indigencia, aspecto que repercute significativamente en la calidad de vida del individuo, familia y comunidad¹⁸. Este distrito cuenta con el Hospital Vista Alegre, encargado de velar por la salud de la población señalada. Como se trata de un hospital distrital cuenta con infraestructura compatible con esta categoría.

La población estudiada estuvo conformada por 280 niños (157 niños y 123 niñas) menores de seis años, procedentes del distrito mencionado que acudieron al consultorio externo del Hospital distrital de Vista Alegre (HDVA) para la atención de su salud, de marzo a diciembre del 2016.

Encuesta

Además del requerimiento por escrito de análisis por parte del médico al Laboratorio de Análisis del HDVA para que se investiguen parásitos, en particular a nivel de restos perianales, se preparó un cuestionario que incluyó preguntas de información básica, además de nombre, edad, sexo, tales como: cantidad de personas que viven en casa, cuántos comparten el dormitorio, si se practican normas básicas de higiene como lavado de manos frecuente y si los niños practican el lamido de dedos u onicofagia. También si el domicilio cuenta con sanidad básica adecuada o deficiente.

Detección de la infección por *Enterobius vermicularis*

La detección de huevos de *E. vermicularis* se hizo mediante el uso del método de la cinta adhesiva transparente o Método de Graham, tal como se describe en el Manual de Procedimientos de Laboratorio para el diagnóstico de las parasitosis intestinales del hombre^{19,20}. Las muestras fueron tomadas en el HDVA, mediante coordinación con el área de pediatría del hospital. Para una eficaz toma de muestra, se tomó en cuenta las condiciones pre-analíticas, informando a los padres de familia que las muestras se obtendrían en la mañana (6am) antes del aseo matinal, y sin aplicación de talcos, lociones ni cremas la noche anterior.

Con las recomendaciones mencionadas, se procedió a la etapa analítica, se dio mediante toques en el borde perianal con la cinta adhesiva transparente, presionando suavemente con un baja-lengua. Finalmente, la cinta adhesiva se colocó en la lámina portaobjeto. Las láminas fueron observadas a través del microscopio óptico a objetivo de 10x; y para la identificación de los huevos de *E. vermicularis*, se tomó en cuenta las siguientes características: estructura oval, cubierta delgada. Una de sus caras es aplanada y la otra convexa. Son muy ligeros y miden 45 - 60 μm de longitud. Los huevos recién depositados por las hembras no se encuentran embrionados.

Aspectos éticos

Todo el proceso de recepción de los niños en el Laboratorio, de la toma de muestra y del informe de los resultados del análisis fue hecho en concordancia con las normas éticas del HDVA y en concordancia con normas éticas propuestas en el Comité de Etica de LA Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo (Trujillo. Perú).

Análisis de los resultados

Los análisis estadísticos de la prevalencia de *E. vermicularis* en relación a diversos factores de riesgo se hizo utilizando la prueba Chi cuadrado (X^2). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si el $p < 0,05$. Para ello se utilizó el software SPSS. 21 para Windows (SPSS Inc, Illinois. USA)

RESULTADOS

De 280 muestras analizadas de infantes entre la edad de 2 a 5 niños atendidos en el Hospital Distrital Vista Alegre entre los meses de marzo a diciembre del 2016 se hallaron un total de 116 casos positivos para enterobiosis (58.6%).

Cuando se examinó el parasitismo en relación a la edad, se encontró porcentajes que variaron entre 5.4% (cuatro años) y 28.9% (cinco años); la prueba estadística demostró que los niños de cinco años se hallan más infectados con *E. vermicularis* ($p < 0,05$) que las otras edades (Tabla 1).

Al mismo tiempo, al examinar el parasitismo respecto del sexo, (Tabla 2) se encontró que los niños (38.2%) estuvieron significativamente ($p < 0,05$) más parasitados por el oxiuro que las niñas (20.4%).

Al efectuar s condiciones sanitarias de la zona con criterios establecidos previamente (Fig. 2) y comprobar mediante la prueba estadística si hay asociación, se encontró que la mayoría de las viviendas cumple con el criterio “regular”, con 51%, no hay tal asociación ($p > 0,05$).

Más bien se halló que el índice de hacinamiento sí se halla asociada estadísticamente significativa ($p < 0,05$) con la prevalencia de infección por *E. vermicularis* (Fig. 3).

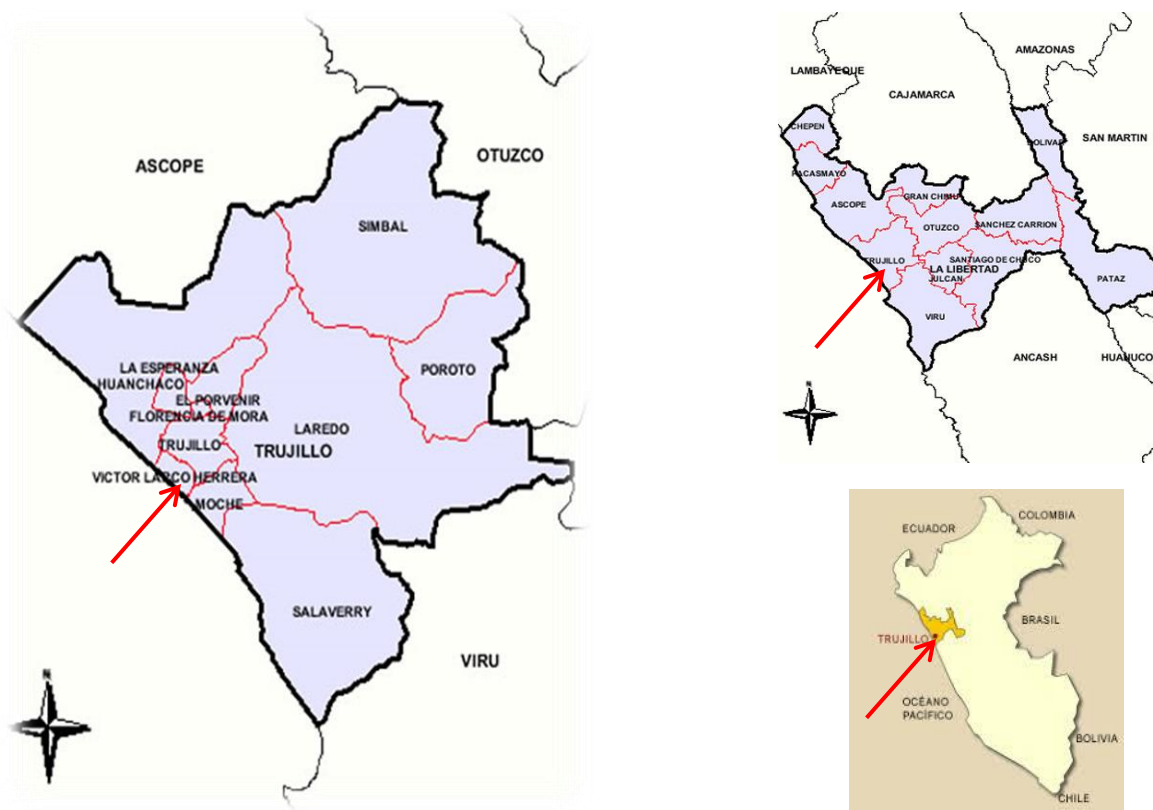


Fig. 1. Ubicación del distrito Víctor Larco Herrera en la provincia de Trujillo. El recuadro superior derecho muestra la ubicación de la provincia en el departamento de La Libertad y el recuadro inferior de éste en el Perú (flechas).

Tabla 1. Prevalencia de infección por *Enterobius vermicularis* en niños menores de dos a seis años atendidos en el Hospital distrital Vista Alegre (Víctor Larco Herrera, Trujillo-Perú), de marzo a diciembre, 2016.

Edad (años)	Positivo		Negativo		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
Dos	40	14.3	21	7.5	61	21.8
Tres	28	10.0	22	7.9	50	17.9
Cuatro	15	5.4	19	6.8	34	12.1
Cinco	81	28.9*	54	19.3	135	48.2
TOTAL	164	58.6	116	41.4	280	100.0

* $p < 0,05$

Tabla 2. Prevalencia de infección por *Enterobius vermicularis*, según el sexo, en niños menores de 6 años atendidos en el Hospital distrital Vista Alegre (Víctor Larco Herrera, Trujillo-Perú), de marzo a diciembre, 2016.

Genero	Positivo		Negativo		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
Masculino	107	38.2*	50	17.9	157	56.1
Femenino	57	20.4*	66	23.6	123	43.9
TOTAL	164	58.57	116	41.4	280	100.0

*p<0,05

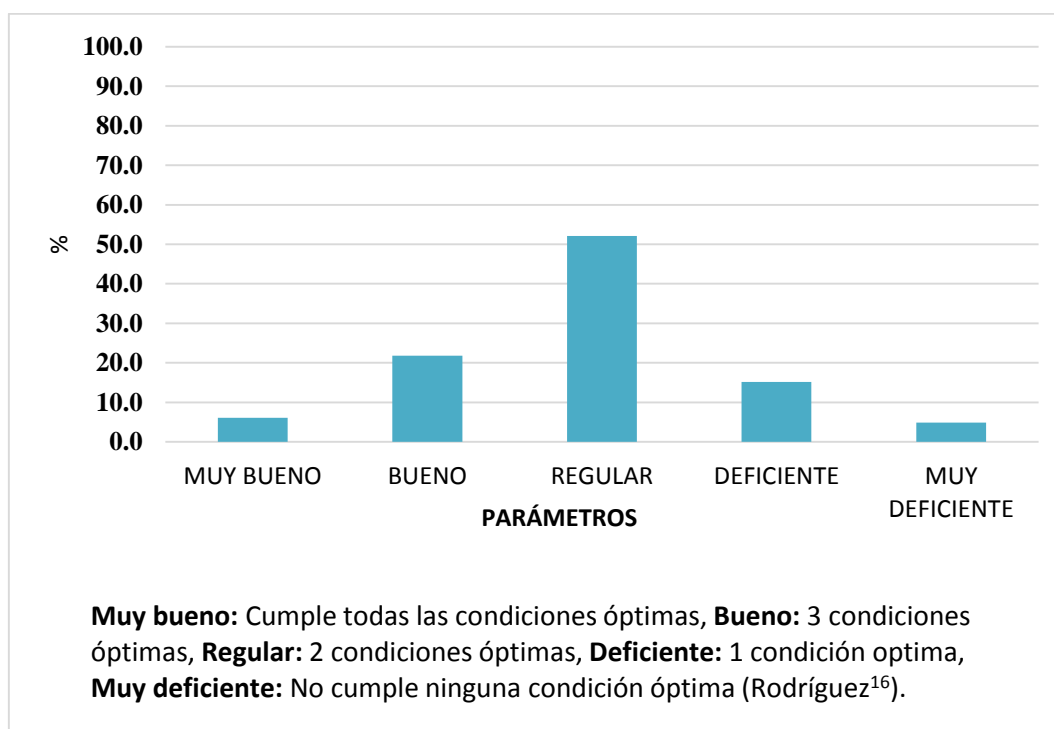


Fig. 2. Distribución de los casos positivos de infección por *Enterobius vermicularis*, según el factor saneamiento básico intradomiciliario, en niños menores de 6 años atendidos en el Hospital distrital Vista Alegre (Víctor Larco Herrera, Trujillo-Perú), de marzo a diciembre, 2016.

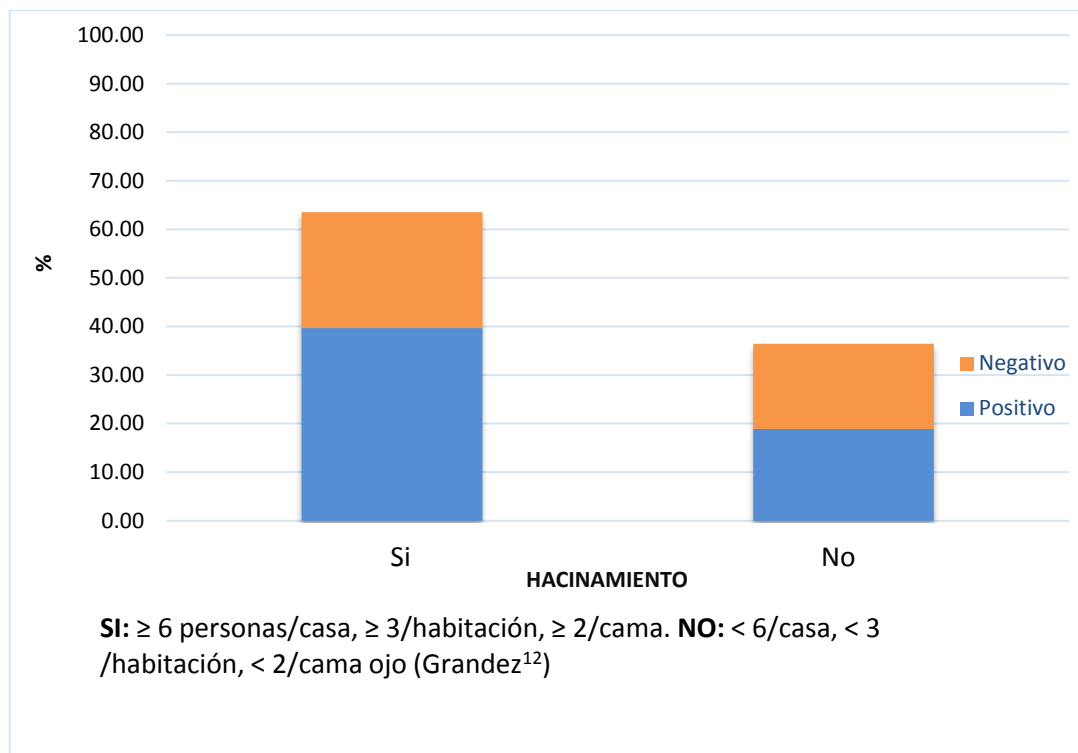


Fig. 3. Distribución de los casos positivos y negativos de infección por *Enterobius vermicularis* en niños menores de 6 años atendidos en el Hospital distrital Vista Alegre (Víctor Larco Herrera, Trujillo-Perú), según el factor hacinamiento de marzo a diciembre del 2016.

DISCUSIÓN

Aunque por lo general la infección por *E. vermicularis* es considerada una molestia más que una enfermedad grave (debido a que la presentación clínica no es llamativa) la elevada morbilidad con que se presenta en diferentes partes del mundo y del Perú, la convierten en una infección que debiera tomarse más en cuenta^{1,2,5}. Sin embargo, al juzgar los casos de parasitismo intestinal que presenta anualmente el Instituto Nacional de Salud²¹, se observa que los casos son pocos. Esto se debe a que la enterobiasis no es una enfermedad de declaración obligatoria como otras.

La prevalencia global hallada en la presente investigación es alta, lo que enfatiza que cuando se emplea la técnica apropiada (la de Graham o prueba del parche) se detectan altas prevalencias de infección por *E. vermicularis*. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que para ello, es necesario efectuar tres pruebas en tres días sucesivos, conforme se recomienda, y ello en razón de que la eliminación de huevos por parte de la hembra no es periódica, pero no tarda más de tres días. Así, cuando no se emplea las tres pruebas, las prevalencias, aunque altas, no alcanzan los dos dígitos como es el caso de las investigaciones efectuadas en China (12.7%)⁴, Celendín (16.7%)¹¹ y Loreto (15.0%)⁸, pero en caso contrario, supera los dos dígitos, como es el caso de los estudios llevados cabo en Madre de Dios¹² (32.5%), Paiján¹⁵ (26.4%), Cascas (36.5%)¹⁶, Tarapoto (15.5%)⁹ y Paucarpata (26.0%)¹³. En este mismo contexto, algunos autores señalan encontrar huevos en heces, aspecto no usual porque está demostrado que ello no ocurre naturalmente y por eso se ha ideado una prueba particular: la de Graham. En investigaciones de este tipo los porcentajes son bajos y no superan el 1.0%^{3,5}.

Es consenso que la enterobiasis es una afección infantil y casi todos los trabajos son efectuados en este segmento de la población. Una razón fundamental de ello es que la toma de muestras para llevar a cabo la prueba del parche implica tocamientos perianales, acontecimiento a lo que no están dispuestos y se niegan a la ejecución niños mayores a los seis años, tampoco los adultos; sin embargo, utilizando

como estrategia la desparasitación en adultos, se ha demostrado que también resulta ser un parasitismo a ese nivel y, probablemente, con consecuencias, tal como ocurre en niños²².

Si bien, el hospital se encuentra en una zona básicamente urbanizada, la mayoría de usuarios atendidos en el hospital provienen de las zonas periféricas del distrito, las cuales son una mezcla de población rural con carencia de saneamiento ambiental básico, y de agua potable, y de población urbana que cuenta con agua entubada, aunque no en forma continua, lo que obliga a la población a almacenar dicho líquido, con el consecuente peligro de contaminarse por varios mecanismos con formas parasitarias infectantes. Estas condiciones ecológicas, epidemiológicas y de hábitos favorecen la presencia de parasitosis intestinales. Además, los niños en edad escolar tienen un radio de acción más amplio y disminuye el control materno, esta sería la explicación de la alta prevalencia en la zona estudiada. Por otra parte, se ha observado que, en laboratorios particulares de la ciudad de Trujillo, la prevalencia de enterobiosis es menor, esto se debe a la diferencia de las condiciones socioeconómicas, de higiene y hacinamiento de los pacientes que se atienden en clínicas particulares en relación a los que se atienden en hospitales del Seguro Social, que son personas de recursos económicos bajos y que por lo general presentan mayor porcentaje de infección²³.

Al analizar la frecuencia de parasitados por *E. vermicularis* en relación a la edad se encontró que el parasitismo es significativamente mayor ($p < 0,05$) en aquellos de cinco años de edad. Este hecho tendría su explicación en que a partir de los cuatro años y con énfasis a partir de los cinco años los niños van siendo liberados del cuidado de los padres; es decir, se le deja el aseo personal y de alimentación bajo su responsabilidad en tanto que los padres concentran su atención en los más pequeños, asimismo, se les separa de dormitorio y en una sola cama duermen los niños de más edad, claro si se trata de zonas con viviendas hacinadas, como ocurre en muchas zonas, entre ellas varios barrios de Víctor Larco Herrera. Algunos investigadores también han apreciado este fenómeno, como por ejemplo en China⁴ y en Paiján (Perú)¹⁵. Sin embargo, la mayoría de investigaciones apuntan que entre los dos y cinco años en parasitismo es uniforme y la edad no juega un particular papel de asociación con la infección con el oxiuro humano⁷⁻⁹.

En la distribución del total de infantes estudiados se observó que el 38.2% de los casos positivos corresponden al sexo masculino frente a 20,36% del sexo femenino, con diferencia estadísticamente significativa. Este fenómeno ha sido explicado por la hiperactividad presente en niños que los conduce a jugar con juguetes que no se lavan ni protegen, a salir a la calle con mayor libertad que las niñas y a juntarse también con mayor libertad; a ello se suma el acervo cultural que señala, manifiestamente, que las niñas deben asearse más que los niños por el simple hecho de ser niñas. En Cascas (Perú)¹⁶ también se apreció esta asociación: sexo masculino versus parasitación por *E. vermicularis*. Sin embargo, anatómicamente no hay base para que el parasitismo por este helminto debiera ser mayor en niños que en niñas o viceversa y en ello se basan los resultados de otras investigaciones.

Se ha señalado que el saneamiento básico intradomiciliario no es un factor de riesgo en la adquisición del oxiuro porque éste se disemina no a través del suelo, como la mayoría de nematodos intestinales del hombre, sino incluso por el aire y por mecanismos de retroinfección; por esta razón para llevar a cabo el diagnóstico y detectar casos positivos, no se examinan heces sino restos perianales. Sin embargo, la infraestructura sanitaria interna sin duda juega un papel importante. Las viviendas de los niños que formaron parte del estudio presentaron en la mayoría de los casos la categoría “Regular”, en tanto que la categoría “Bueno” sólo obtuvo el 21.8%¹². Esto puede relacionarse con la alta prevalencia de enterobiosis, puesto que, al no tener las condiciones óptimas de saneamiento, ello puede representar, un foco de infección de parasitosis.

En concordancia con la mayoría de informes respecto de la enterobiosis en niños, el grado de hacinamiento tiene una relación directa con el porcentaje de casos positivos. Se ha tratado de fundamentar este fenómeno por el modo cómo la enterobiosis se trasmite, es decir, de un niño infectado a otro susceptible por la cercanía o convivencia entre ellos, que los compromete a compartir

camas, alimentos y a veces vestimenta, aunque, al menos, baño común. Entonces, está totalmente justificada, de acuerdo a los antecedentes, el denominar a la enterobiasis como “una helmintiasis familiar”, aspecto que tiene importancia trascendental porque el tratamiento debe ser masivo o extensivo a los niños de la familia^{11,12,16,17} y que más que la infraestructura sanitaria y el grado de hacinamiento, que son factores de riesgo sociales, una buena educación sanitaria podría aminorar significativamente la prevalencia de esta helmintiasis²⁴. En conclusión: (i) la prevalencia de enterobiasis en niños menores de 6 años que acudieron al HDVA (58.57%) es alta sin existir diferencia significativa en relación a la edad con el número de casos positivos, (ii) la prevalencia de enterobiasis es mayor en el sexo masculino con 38.21% frente al 20,36% del sexo femenino, (iii) la alta prevalencia de enterobiasis en infantes se basa primordialmente al saneamiento básico intradomiciliario y (iv) la elevada prevalencia de enterobiasis en niños menores de 6 años, está vinculado al hacinamiento humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, Hotez PJ. Soil-transmitted helminth infections: *Ascaris*, *Trichuris*, and hookworms. *Lancet*, 2006; 367(9521):1521-1532
- Cranston I, Potgieter N, Mathebula S, Ensink JH. Transmission of *Enterobius vermicularis* eggs through hands of school children in rural South Africa. *Acta Tropica*, 2015; 150:94-96
- Marcos L, Maco V, Terashima A, Samalvides F, Miranda E, Gotuzzo E. Parasitosis intestinal en poblaciones urbana y rural en Sandía, departamento de Puno, Perú. *Parasitol Latinoam*. 2003; 58: 35-40.
- Wang S, Yao Z, Hou Y, Wang D, Zhang H, Ma J, et al. Prevalence of *Enterobius vermicularis* among preschool children in 2003 and 2013 in Xinxiang city, Henan province, Central China. *Parasite*, 2016; 23:30
- Iannacone J, Benites MJ, Chirinos L. Prevalencia de infección por parásitos intestinales en escolares de primaria de Santiago de Surco, Lima Perú. *Parasitol. Latinoam*. 2006; 61: 54-62.
- Kim DH, Son HM, Kim JY, Cho MK, Park MK, Kang SY, et al. Parent's knowledge about enterobiasis might be one of the most important risk factors for enterobiasis in children. *Korean J Parasitol*. 2010; 48(2):121-126
- Liu M, Delgado M, Martínez E. Sintomatología e intensidad de las infecciones por *Enterobius vermicularis*. *Rev peru Parasitol*. 1995; 1(1):39-41
- Zevallos Soto FF. Prevalencia de *Enterobius vermicularis* en escolares de 05 a 12 Años de edad de La Comunidad de San Lorenzo -Datem del Marañón- Loreto, 2010. [Tesis de Grado]. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de La Amazonia Peruana. Iquitos, Perú. 2010.
- Mendoza Pizarro DH. Evaluación del estado nutricional de los niños de 2 a 5 años con diagnóstico de parasitosis intestinal atendidos en el Consultorio Externo de Pediatría del Hospital II-2 MINSATarapoto en el periodo enero-diciembre 2016. [Tesis Médico Cirujano]. Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional San Martín. Tarapoto. Perú. 2016
- Soto UK, Beltrán FM, Miranda TT, Castro CT, Cárdenas LV. Prevalencia de enterobiasis en niños de Acos Vicos-Ayacucho. *Rev peru Parasitol*. 2008; 17:80
- Morales del Pino JR. Parasitosis intestinal en preescolares y escolares atendidos en el centro médico EsSalud de Celendín, Cajamarca. *Horiz Med*. 2016; 16(3):35-42
- Grandez Castillo GA. Factores asociados a la presencia de enterobiasis en niños de 1 a 11 años de edad en dos comunidades nativas Ese'Eja, Madre de Dios-Perú. [Tesis Médico Cirujano]. Facultad de Medicina Humana. Universidad Ricardo Palma. Lima. Perú
- Hanco Ramos DG, Verde Castro LN. Determinación de carga parasitaria de oxiuros (*Enterobius vermicularis*) en juguetes de niños preescolares según características sociodemográficas en la Comunidad de Potracancha-Huánuco, 2016. [Tesis Licenciado]. Facultad de Enfermería. Universidad Nacional Hermilio Valdizán. Huánuco. Perú. 2016
- Quispe Zuñiga W, Jara CA. Prevalencia del enteroparasitismo e intensidad de infección por geohelminthos en niños del distrito de Quelluno, La Convención (Cusco, Perú). *REBIOL* 2013; 33(1):1-14
- Liñan-Abanto R, Jara CA. Frecuencia y aspectos epidemiológicos del parasitismo por helmintos intestinales en la población infantil de Paiján La Libertad-Perú. *Rev peru Parasitol*. 2005; 11:46-50
- Rodríguez JC, Contreras M. Factores sociales e incidencia de *Enterobius vermicularis* en instituciones educativas de nivel inicial del distrito de Cascas. In *Crescendo*. Institucional. 2015; 6(1): 11-21.
- Sánchez-Robles L, Jara CA. Prevalencia de infección por helmintos intestinales en niños de Alto Trujillo, La Libertad-Perú. *REBIOL* 2010; 30(1):58-64

18. Instituto Nacional de Estadística (INEI). Censo 2017. Tú cuentas para el Perú. www.inei.gob.pe
19. Beltrán FM, Tello CR, Náquira VC. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Instituto Nacional de Salud. Lima. Perú: Serie de Normas Técnicas N° 37. 2003
20. Beltrán FM, Hara T, Tello CR. Evaluación de los métodos de Graham y pin tape en el diagnóstico de *Enterobius vermicularis*. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2005; 22(1):76-80.
21. Instituto Nacional de Salud (INS). Anuario Estadístico 2017. Ministerio d Salud. Lima. Perú. 2017
22. Sato M, Saugankiat S, Pubampen S, Kusolsuk T. Enterobiasis: a neglected infection in adults. Sotheast Asian J Trop Med Public Health, 2008; 39(2):213-216
23. Poma PP, Jara CA. Prevalencia del enteroparasitismo en pacientes atendidos en el Laboratorio Quintanilla SRL, Trujillo (Perú). REBIOLEST. 2014; 2(1): e29.
24. Kang I-S, Kim D-H, An H-G, Son H-M, Cho MK, Park M-K, et al. Impact of health education on the prevalence of enterobiasis in Korean preschool students. Acta Tropica, 2012; 122:59-63

Correspondencia: cjara@unitru.edu.pe



Artículo Original

Socioepidemiología de las helmintiasis intestinales en perros de casa (*Canis familiaris*) y los riesgos en la comunidad. Chiclayo-Perú. 2015-2018

Socioepidemiology of the gastrointestinal helminthiasis in house dogs (*Canis familiaris*) and risk factors. Chiclayo-Peru. 2015-2018

Ruth Alva Fernández¹ y César A. Jara²

¹Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque. Perú. ²Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

El crecimiento urbano en las ciudades costeras del Perú, acompañado del aumento en la adquisición de mascotas principalmente perros, *Canis familiaris*, genera un riesgo potencial de presentación de enfermedades zoonóticas en la comunidad. Sin embargo, la prevalencia real de parasitismo no se ha determinado en muchas de ellas. Se realizó un estudio transversal en un grupo de 370 personas que poseían caninos a fin de establecer la frecuencia de helmintos intestinales en perros de casa, los factores socioepidemiológicos asociados a las parasitosis y los riesgos en la comunidad de Chiclayo (Perú). Se analizaron las muestras fecales de los animales mediante método de flotación con *sulfato de zinc* y se aplicó un cuestionario sobre edad, sexo de los canes, tipo de alimentación del canino, suministro de agua hervida o potable, forma de adquisición y motivos de tenencia, grado de restricción del canino, asistencia veterinaria, desparasitación, conocimiento sobre enfermedades zoonóticas, manejo de las excretas del perro. Los datos obtenidos fueron analizados. La prevalencia del parasitismo zoonótico en los perros de casa fue del 31.3%. El parásito más común fue *Toxocara canis* (18.0%) seguido de *Trichuris vulpis* (10.0%) y *Diphylidium caninum* (5.7%) y la asociación parasitaria más frecuentemente hallada fue la de *Toxocara canis-Giardia lamblia* (4.2%). Se concluye que existe una prevalencia moderada de infección por helmintos zoonóticos en la población canina de Chiclayo y que su presencia constituye un riesgo de Salud Pública.

Palabras clave: Zoonosis, parásitos, factores sociales, animal de compañía.

ABSTRACT

The urban growth in the coastal cities of Peru, accompanied by the increase in the acquisition of pets, *Canis familiaris*, generates a potential risk of occurrence of zoonotic diseases in the community. But, the real prevalence and some of them is unknowns. A cross-sectional study was conducted in a group of 370 people who had canines in order to establish the frequency of gastrointestinal helminths in house dogs, the socioepidemiological factors associated with the parasitosis and the risks in the community of Chiclayo. The faecal samples of the animals were analyzed by flotation method with zinc sulphate and a questionnaire was applied on age, sex of the dogs, type of feeding of the canine, supply of boiled or potable water, form of acquisition and reasons of tenure, degree of canine restriction, veterinary assistance, deworming, knowledge about zoonoses diseases, and management of dog excreta. The data obtained was analyzed. The prevalence of zoonotic parasitism in house dogs was 31.3%. The most common parasite was *Toxocara canis* (18.0%) follows by *Trichuris vulpis* (10.0%) and *Diphylidium caninum* (5.7%), as well as, and the parasite association more frequent was *Toxocara canis-Giardia lamblia* (4.2%). It was concluded that in Chiclayo exists a moderate prevalence of infection by zoonoses helminths, while, it is evident that constitute a public health risk.

Keywords: Zoonoses, parasites, social factors, pet.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha observado la emergencia y reemergencia de algunas zoonosis, debido a cambios ecológicos, climáticos y socioculturales que han determinado que la población animal comparta su hábitat con el hombre cada vez con mayor frecuencia^{1,2}. El estudio de los problemas zoonóticos hace entender que no pueden ser revisados de manera aislada, pues son problemas interdependientes y en la misma medida en que las condiciones de vida son adversas para la población, también lo son para sus animales y al aumentar el riesgo para la salud humana, aumenta también el riesgo para la salud animal, y este hecho se revierte hacia la población en un plano de consideración eminentemente ambiental³.

Siendo todos los seres vivos miembros de comunidades ecológicas ligadas unas a otras en una red de interdependencia, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) está buscando reducir los riesgos de enfermedades infecciosas en la interacción animales-seres humanos-ecosistemas, estableciendo la estrecha interdependencia entre la salud pública, la sanidad animal y el estado de los ecosistemas⁴. Surge un nuevo concepto: «un mundo, una salud», con la toma de conciencia colectiva del vínculo existente entre las enfermedades animales y la salud pública.

Los determinantes sociales pueden tener efectos negativos para la salud animal y por ende para la salud humana, así las zoonosis se constituyen en un problema de Salud Pública, además que no es necesario convivir con un animal para estar en riesgo de contraer una zoonosis, puesto que son condiciones dependientes del ambiente las que definen este riesgo, mismo que puede estar referido a una, o a varias zoonosis diferentes, dependiendo de la especie animal y de la forma en que ésta se transmite^{3,5,6}.

La tenencia de un animal de compañía y sus implicaciones para la salud humana en el sector urbano, está determinada por elementos ancestrales y culturales de gran arraigo en la población y hoy en día en muchos hogares de nuestro país es ya un miembro más de la familia. Sin duda un animal tiene un importante papel en el bienestar fisiológico y psicológico de sus propietarios, especialmente niños y ancianos⁷⁻⁹; no obstante, puede tornarse en un grave peligro para la salud no solo del propietario y la familia, sino de la comunidad entera, al albergar los perros un desconcertante número de parásitos transmisibles al hombre y a otros animales domésticos: *Giardia* spp., *Toxocara* spp., *Echinococcus granulosus*, *Ancylostoma* spp, *Dipylidium caninum*, *Trichuris vulpis*, *Spirocerca* spp., *Uncinaria* sp., *Strongyloides* spp.^{8,10} entre otros, los cuales pueden ocasionar en los humanos diversas patologías cutáneas, viscerales, oculares y cerebrales debido a que las excretas de los animales de compañía son un material biológico altamente contaminante de los alimentos, el agua y el suelo a través principalmente de quistes, huevos y larvas infectantes de parásitos intestinales^{7,10,11}.

Aun cuando el parasitismo por estos agentes es muy frecuente en los animales domésticos, particularmente los perros y los gatos, no son consideradas dentro de los programas de salud, a excepción de la hidatidosis (*E. granulosus*), por lo que se carece de casuística que permita su vigilancia^{4,12}. Al mismo tiempo, la mortalidad humana por helmintiasis intestinal no es tan alta comparada con otras infecciones, aunque su morbilidad sí lo es y la población infantil es la más susceptible debido a su inmadurez inmunológica y al escaso desarrollo de hábitos higiénicos¹³.

El parasitismo intestinal en perros ha sido investigado en algunas ciudades de países de Sudamérica tales como, Sao Paulo (Brasil)¹⁴, Buenos Aires (Argentina)¹⁵, Río de Janeiro (Brasil)¹⁶, Medellín (Colombia)¹⁷ y Tolima (Colombia)¹⁸ y se han encontrado resultados variables de los cuales destaca la alta prevalencia del parasitismo por *T. canis*, al igual que lo registrado en algunos lugares del Perú tales como, Ica¹⁹, Jauja²⁰, Puno²¹, Lima²² y Trujillo²³. Particularmente en Chiclayo, Nuntón²⁴, Carrasco²⁵ y Aguilar²⁶ también han investigado la prevalencia de helmintiasis en perros y han detectado que el grado de parasitismo es elevado y el riesgo de trasmisión es también alto.

Tomando en cuenta la importancia social que ofrece la tenencia de una mascota canina para las familias chiclayanas, surge la necesidad de hacer un estudio sobre el tema, identificando los factores sociales asociados a la infección animal, que puedan orientar al diseño de actividades de prevención y control de esos posibles riesgos así como los planes adecuados que lleven a lograr una convivencia equilibrada y bienestar entre las personas y animales de la comunidad, en el marco de la Atención Integral de Salud.

MATERIAL Y MÉTODOS

Zona de estudio.

Entre setiembre del 2015 y marzo del 2018 se realizó un estudio descriptivo correlacional de corte transversal en caninos, *Canis familiaris*, en el distrito de Chiclayo, en el Departamento de Lambayeque (Perú). El distrito está situado a 13 kilómetros de la costa del Pacífico, en una zona tropical, cerca del Ecuador, sin embargo, su ambiente es sub-tropical, sin lluvias durante la mayor parte del años y ligeras lloviznas durante la estación de verano (diciembre-marzo) y temperatura que varía entre 15° y 23°C.

Población estudiada:

Se estima que en Chiclayo viven aproximadamente 12040 canes²⁵ de cuya población se obtuvo una muestra (n) calculada utilizando la siguiente fórmula:

$n = Z^2(p.q)/T^2$. Para el cálculo de n se consideró la prevalencia de parásitos gastrointestinales de 30.6%²⁵ y el T = 5%. Con ello, se estimó un tamaño muestral de 370 perros. Se incluyeron en la muestra a aquellos canes cuyos propietarios accedieran a responder la entrevista y que no hayan recibido tratamiento antiparasitario en el último mes; se excluyeron, a aquellos que presentaron enfermedades que dificultaban la toma de la muestra, como procedimientos quirúrgicos recientes y aquellos con comportamiento agresivo. La evaluación física fue realizada por el médico veterinario.

Análisis coproparasitológicos:

Las muestras fecales de cada animal fueron recogidas directamente del recto, con el fin de evitar la contaminación con tierra y/o heces de otros animales. La recolección de las muestras fecales se realizó, de preferencia, en horas de la mañana y luego de ello fueron codificadas, rotuladas y dispuestas convenientemente en cajas de tecnopor con hielo, manteniendo la cadena de frío, para su traslado al laboratorio donde se refrigeraron hasta el análisis. El diagnóstico coproparasitológico se realizó mediante el método de flotación con *sulfato de zinc*²⁷ en el Laboratorio de Parasitología en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Recolección de la información:

Se aplicó una encuesta personal a los propietarios, el cual incluyó las variables independientes del estudio: edad, sexo, tipo de alimentación del canino, suministro de agua hervida o potable, forma de adquisición y motivos de tenencia, grado de restricción del canino, desplazamiento dentro de casa, asistencia veterinaria, desparasitación, conocimiento sobre enfermedades zoonóticas, manejo de las excretas del perro. Para cumplir con los Aspectos éticos, se obtuvo la aprobación para la ejecución de la investigación, por medio de un consentimiento informado leído y firmado por los propietarios de los canes.

Análisis estadístico:

La información obtenida de los canes y propietarios, sumado al diagnóstico coproparasitológico, fue transferida a una base de datos en hojas de cálculo del programa Microsoft Excel 2010. Los resultados de frecuencias fueron expresados en forma porcentual considerando las variables.

RESULTADOS

Se identificaron especies de parásitos, de los cuales *Toxocara canis* fue el más prevalente, seguido de *Trichuris vulpis*, *Ancylostoma caninum* y *Dipylidium caninum*. La prevalencia global de infección por helmintos fue de 31.4% y se halló una doble asociación parasitaria con protozoarios, de 4.2 y 2.8% (Tabla 1).

Respecto de los factores sociodemográficos se encontró que el 100% de perros estuvieron aparentemente sanos, que la mayoría de parasitados (49.2%) tenían menos de dos años, que la mayoría (52.0%) fueron obsequiados, que al 39.1% de los dueños les gusta tener perros, que la mayoría (51.0%) le prepara en casa el alimento y le da agua de caño (94%), que casi no tienen la costumbre de sacar al paseo diario; sin embargo, sí tienen atención veterinaria, aunque no muy frecuente (Tabla 2)

Tabla 1. Prevalencia del parasitismo por helmintos intestinales en perros de casa, *Canis familiaris*, de la ciudad de Chiclayo (Perú). 2015-2018

Helminto	Prevalencia	
	N°	%
<i>Toxocara canis</i>	49	70.0
<i>Trichuris vulpis</i>	7	10.0
<i>Ancylostoma</i> sp.	5	7.1
<i>Dipylidium caninum</i>	4	5.7
<i>Toxocara canis-Giardia lamblia</i>	3	4.2
<i>Toxocara canis-Isospora</i> sp.	2	2.8

DISCUSIÓN

El análisis de las muestras fecales de caninos provenientes del distrito de Chiclayo mostró que el parasitismo intestinal por helmintos es alto (31.3%), aspecto que podría deberse al modo de crianza de los perros que conduce a que se expongan a varios factores de riesgo y a que no es periódica la desparasitación la cual se hace de modo individual y no en masa, de manera que los suelos se vuelven a contaminar periódicamente. Los resultados encontrados en la presente investigación son inferiores a los registrados por: (i) Nuntón²⁴ (87%), 40% para *T. canis* y 72% para *D. caninum*, (ii) Vega et al²² (100.0%), 87.7% para *T. canis* y 4.1% para *D. caninum*, (iii) Minaya²⁰ (73.2%), 41.5% para *T. canis* y 1.4% para la asociación *T.canis-Toxascaris leonina-A. caninum* y (iv) Trillo et al¹⁹ (40.1%), 8.6% para *D. caninum*, 4.3% para *Taenia* sp., 19.7% para *T. canis*, 9.3% para *A. caninum* y 6.2% para *T. leonina* (6,17%). Sin embargo, como ocurre cuando se investigan fenómenos biológicos tales como el parasitismo, en otras investigaciones se han observado frecuencias menores a la detectada en esta investigación. En efecto, Cruz et al²¹ determinaron la frecuencia global de helmintiasis gastrointestinal en perros pastores de la provincia de Carabaya y Lampa-Puno de 20.5% y particular de *Taenia* de 14.5%, *Trichuris vulpis* de 2.6% y *Capillaria* sp de 0.9% y Aguilar²⁶ determinó un 20.8% de prevalencia de enteroparásitos en 120 perros del distrito de José Leonardo Ortiz, Chiclayo, reportando *T. canis* 16%, *A. caninum* 12%, *D. caninum* 8%, *T. vulpis* 4% y la asociación *Isospora canis-T. canis* 4%, la prevalencia fue mayor en las hembras con 23.2% que en machos 17.6% y entre las edades fue mayor en los perros de 1 a 3 años con 28.6%. Probablemente por tratarse de la misma área, aunque en tiempos diferentes, los hallazgos de esta investigación son similares al estudio realizado por Carrasco²⁵ quien efectuó el análisis coprológico de 150 perros del distrito de Chiclayo, y encontró 30.7% de positivos, con 54.3% para *T. canis*, *A. caninum* 10.9%, *D. caninum* 2.2%; con respecto al sexo, 31.4% hembras y 30.0% de machos fueron positivos y tomando en cuenta la edad, la mayor prevalencia se halló entre perros de 1 a 3 años con 20% y de 5 años a más 11.33%.

A pesar de observarse un buen estado de los perros evaluados en esta investigación, más de la cuarta parte de la población canina fue diagnosticada positiva a alguna helmintiasis. La mayor frecuencia con 49.2% correspondió a perros menores de dos años de edad. Así mismo, se halló que más de la mitad de los perros eran machos en un 58% y hembras 42%, siendo que el mayor índice de parasitismo lo presentaron las hembras con un 74.4% y los machos en un 68,0%. En investigaciones ejecutadas previamente^{17,22,23} se ha observado la misma tendencia. Como se ha mencionado, en términos generales el parasitismo es más prevalente en hospederos más jóvenes porque tienen más probabilidades de infectarse y porque el sistema inmune aun no madura; más bien la prevalencia del parasitismo es discutible porque se han registrado variaciones y es que probablemente sólo es casuística, ya que no hay razón para el parasitismo se relacione con el sexo. Si bien la frecuencia es baja, debe considerarse relevante por el tipo de población canina evaluada que son de casa a diferencia de los trabajos que evaluaron animales sin dueño (callejeros) y tienen mayor riesgo de infectarse y por los parásitos reportados que son helmintos enteroparásitos zoonóticos y de alto potencial biótico^{16,25}. El rol de algunos parásitos intestinales de perros y gatos como agentes de infecciones zoonóticas ha

Tabla 2. Prevalencia de factores sociodemográficos de perros de casa, *Canis familiaris*, de la ciudad de Chiclayo (Perú), parasitados por helmintos intestinales. 2015-2018

Factor Sociodemográfico	%
Estado de salud	
• Aparentemente sano	100.0
• Evidentemente enfermo	0.0
Edad (años)	
• <2 a 2	49.2
• 3 a 4	23.2
• más de 4	27.5
Forma de adquisición	
• Obsequio	52.0
• Compra	26.0
• Cría en casa	16.0
• Recogido de la calle	6.0
Razón de tenencia	
• Gusta tener perro	39.1
• Compañía necesaria	21.7
• Costumbre familiar	20.3
• Guardianía	13.0
• Petición de un hijo	5.8
Tipo de alimentación	
• Comida casera	51.0
• Comida casera + ración comercial	38.0
• Ración comercial	11.0
Agua de bebida	
• No hervida (caño)	94.0
• Hervida	6.0
Restricción de salida a la calle	
• Sí	78.3
• No	21.7
Paseo supervisado	
• Sí	72.0
• No	28.0
Desplazamiento en casa	
• Irrestringido	68.1
• Sólo en azotea	14.5
• Confinado a caseta	2.9
Asistencia Veterinaria	
• Sí	68.1
• No	31.8
Desparasitación	
• Sí	78.0
• No	22.0
Frecuencia de desparasitación	
• Hace menos de un año	82.7
• Hace más de un año	17.3
Lugar de defecación	
• Intradomiciliar	40.6
• Extradomiciliar	30.4
Eliminación correcta de excretas en la calle	
• Sí	75.3
• No	24.6
Frecuencia de recojo de excretas intradomiciliar	
• Diaria	73.8
• Interdiaria	11.9
• Semanal	14.3
Lugar de preferencia de defecación	
• Grass/tierra	46.4
• Piso de cemento	43.5

sido claramente establecido desde hace varias décadas para especies como *T. gondii*, *T. canis*, Ancylostomideos, *D. caninum*, *E. granulossus* y *T. cati*^{1,2,4}.

Generalmente, los perros adultos aun estando parasitados no presentan síntomas clínicos, más sí son portadores sanos, pudiendo infectar no solo a la camada sino al ambiente; por ejemplo, la presencia de huevos de *Toxocara* y *Ancylostoma* no pueden detectarse en los perros adultos a través de un análisis clínico, debido a la migración somática que realizan a partir de la sexta semana^{6,17}. En este sentido, es bueno recalcar el papel de *Toxocara* en la salud canina y humana porque *T. canis* es tal vez el más importante parásito causante de enfermedad en el huésped humano y que tiene como fuente de infección el perro y el suelo; por ello, ha sido motivo de investigaciones particulares en diferentes partes^{18,29,30,32} y también en parques de Chiclayo³¹. Las personas se infectan principalmente a través de la ingesta de huevos eliminados por los cachorros o las hembras en la etapa final de la gestación. Ocurre esto con mayor frecuencia por la manipulación de tierra contaminada. Los suelos contaminados en parques públicos y areneros descubiertos son un riesgo para los niños, debido a sus hábitos de juego, que involucran la manipulación de la tierra, el llevarse las manos a la boca, y con cierta frecuencia pica y geofagia. Además, existe el hábito dañino de llevar a los perros a defecar al parque y a los niños a jugar a los mismos sitios. Otras personas vulnerables son aquellas que tienen contacto frecuente con suelos contaminados (ejemplo: jardineros, campesinos) o con los animales como los criadores de perros⁶. Es de relevancia el hallazgo de concentraciones de huevos en diferentes estadios de desarrollo y viables, en el pelaje de perros, debido al contacto estrecho que suele presentarse con ellos, principalmente por parte de niños^{12,28,29}.

Epidemiológicamente, el sexo es un factor a considerar, ya que las hembras presentan dos estados fisiológicos que favorecen al parasitismo de gastrointestinales, como la gestación, donde las alteraciones hormonales que se dan en este período inducen al parecer a una disminución inmunitaria de las perras preñadas y, son aprovechadas por los parásitos como *T. canis* en las perras, donde las larvas inhibidas del parásito, se activan durante la gestación, atraviesan la barrera placentaria e infectan al feto^{29,30}. La hembra adulta sirve de reservorio de larvas para su descendencia y éstos a su vez actúan como reservorios de parásitos adultos. El mecanismo que induce la reactivación de estas larvas latentes, tiene relación con alteraciones hormonales, tales como la hidrocortisona, oxitocina. La lactación también conlleva a un efecto inmunosupresor en la hembra, debido al aumento de la hormona prolactina, que aumenta entre 10 a 12 veces su concentración en la sangre durante la lactación^{13,15}.

La tenencia responsable es un conjunto de deberes que adquiere una persona cuando decide tener un animal de compañía a fin de asegurar la convivencia armoniosa y el bienestar de los animales y las personas que viven con ellos y del vecindario impulso del momento. Es importante pensar primero, si se cuenta con presupuesto para su alimentación básica, control veterinario, educación, espacio y tiempo para una mejor calidad de vida de su mascota. Los resultados demuestran que el perro ha sido siempre el animal de compañía preferido del hombre. Sin embargo las razones de tenencia en la ciudad son la compañía y la afectividad. Se ha señalado que el poseer un animal doméstico se ha convertido en una necesidad social para algunas personas y en algunos casos la única razón⁹.

Los programas de desparasitación deben iniciarse en la hembra gestante, dos semanas antes del parto para limitar la infección de los fetos. Esto basado en las características de las larvas arrestadas de *T. canis*, que cerca del parto, debido a la presencia de hormonas del parto y de la lactancia, reactivan a estas larvas que a través de la corriente sanguínea se dirigen al feto. Los cachorros deben ser desparasitados a partir de la segunda semana de edad y los perros adultos deben recibir tratamiento cada seis meses, tratándose además los animales que vivan en el mismo ambiente¹¹. De acuerdo a la OPS⁴ los lugares de residencia de los animales de compañía, deben contar con una puerta de entrada cerrada y no deben existir otros tipos de caminos hacia otras casas, para evitar que la mascota contraiga alguna enfermedad infecto contagiosa zoonótica. Recomienda también verificar periódicamente el estado de las cercas perimétricas de los patios, para lograr el aislamiento de la vivienda e impedir la libre entrada o salida de otros animales de patios aledaños y que penetren enfermedades. Finalmente, sugiere que la importancia de la supervisión del perro es para evitar que el perro consuma basura o desperdicios, que pueden actuar como fuentes de infección cuando contienen agentes infecciosos de enfermedades transmisibles con perjuicio para la salud. Los desperdicios pueden estar contaminados con organismos no solo patógenos para el perro sino también para el

hombre. De todo ello, se ha creado conceptos de acuerdo al nivel de restricción o supervisión impuesta al perro por las personas: **Perro supervisado**: totalmente dependiente y totalmente restringido o supervisado. Es el perro que no sale de la casa si no es con su dueño e idealmente con un medio de sujeción que lo una directamente al propietario (correa o trailla). **Perro callejero**: totalmente dependiente; semi-restringido. Es el perro que tiene dueño y hogar asociado pero que se puede encontrar en la calle solo, constantemente o de forma temporal. **Perro de vecindario**: semi-dependiente; semi-restringido o sin restricción. Es el perro que no tiene un hogar asociado ni dueño que se responsabilice por los problemas que pueda producir. Se asocia a un barrio y lo alimentan una o más personas.

Los resultados expuestos para la ciudad de Chiclayo, indican un conocimiento muy escaso sobre zoonosis. Si lo comparamos con la población urbana, de la periferia y aun rural del municipio de Santa Clara en Cuba, donde se registró un 62%, 44% y 38% respectivamente. En general, los propietarios españoles de perros y gatos desconocen los riesgos que los parásitos intestinales de sus mascotas pueden suponer para su propia salud y la de su familia. Según los datos que aporta el estudio, el 23% de los propietarios de perros o gatos no saben lo que es un parásito intestinal, y más del 50% desconoce que pueda ser causante de enfermedades en personas. Nuestra ciudad en materia de convivencia humano-animal, vive una realidad que no difiere de otras ciudades de nuestro país: desordenada tenencia de animales, contaminación ambiental por deyecciones, abandono animal, accidentes y mordeduras, presencia de reservorios y vectores de enfermedades y es lo que refleja estos resultados: un desconocimiento generalizado en la población acerca de enfermedades zoonóticas y manejo adecuado de animales de compañía.

Aún cuando el hombre ha domesticado a esta especie desde tiempos remotos, hasta el siglo XIX sólo se sabía que la rabia, y la peste, que genera problemas respiratorios y hemorragias en la piel, podían ser transmitidas por el contacto con perros y ratas, respectivamente; los estudios médicos y epidemiológicos efectuados desde entonces han multiplicado la lista de zoonosis, y los conocimientos son tan amplios que ahora se sabe que incluso un animal saludable es capaz de transmitir una infección. De las potenciales situaciones de contagio, derivadas de la presencia de los animales en un medio común para animales y humanos, se puede diferenciar entonces aquel contacto que de manera voluntaria se establece, como es el caso de quienes poseen animales por un interés estimativo, y que se ejemplifica en las mascotas o, por una circunstancia en la que media el interés económico y de servicio, correspondiendo ésta a animales de trabajo, guardia o proveedores de algún producto de consumo. Debe hacerse énfasis en la circunstancia que implica el contacto involuntario e ignorado, resultado de la convivencia con los animales por vecindad o por el uso de espacios comunes, como sucede en patios, calles y los parques públicos, en donde el suelo, al agua y hasta el aire, sirven para hacer posible este contagio. Un ejemplo típico de estos casos son las ascaridiasis atribuibles a *T. canis* y *T. felis*, para las que, a través de estudios realizados en ciudades como la de México, se han encontrado concentraciones significativas de huevos de estos parásitos en parque públicos, resultado de la contaminación por heces de perros en áreas verdes, en donde la población más expuesta son los niños^{2,3}. Sin embargo, la desinformación generalizada en la ciudadanía, con respecto a cuestiones básicas de bienestar animal, prevención de enfermedades y tenencia responsable, genera conductas perjudiciales tanto para los animales como para la sociedad. Peña et al⁹ estudiaron las enfermedades de mascotas en humanos y concluyeron que: "...las mascotas son animales de compañía, pero debida a diversas causas esta asociación ha producido diversas y variadas enfermedades, algunas de ellas severas y graves y otras con gran impacto en la salud pública, por ellos es importante conocerlas a fin de prevenir y controlar algunas de ellas. En el presente trabajo se observó que menos de la mitad de los propietarios permiten que sus mascotas defecuen en la casa. Sin embargo, no todas ellas recogen las heces, solo el 68,12% y de este grupo el 73,81% lo hace en forma diaria. Un porcentaje alto 30,43% permite que su animal defecue en la calle, y otro 30% es indiferente donde defecue. Este resultado señala nuevamente el desconocimiento sobre enfermedades zoonóticas, su transmisión y prevención.

La ausencia del recojo de heces, propicia la contaminación ya sea de los patios o jardines de las casas o si el animal defeca fuera de casa, se está perjudicando las áreas públicas y de juego como son los parques y jardines, constituyéndose de inmediato en focos de infección y un factor de riesgo para la salud pública. El suelo tiene una significancia particular en la ruta de transmisión medio ambiental, representando un factor de riesgo para la transmisión a los humanos^{1,2}. El suelo permeable es un factor

que favorece el desarrollo y la viabilidad de los huevos/larvas de los parásitos y otros perros. Los perros infectados al defecar en tierra o jardines, contaminan el suelo con materia fecal, que contiene los huevos/larvas de parásitos. Estas formas con el calor, la humedad del suelo y la sombra, maduran y se convierten en estadios infectantes del parásito.

Las personas, principalmente los niños, pueden ingerir los embriones del parásito, por las manos sucias y el polvo. Las personas inmunocomprometidas, niños, adultos mayores y los propietarios de mascotas deben tener conocimiento sobre el riesgo potencial de adquirir infecciones parasitarias a partir de sus mascotas y de los sitios frecuentados por los animales¹⁰. Los parques mejor conservados son los más contaminados, ya que presentan la mayor proporción de áreas con vegetación, lo que proporciona las condiciones óptimas de humedad, temperatura y sombra que favorecen la supervivencia de los huevos de *Toxocara spp.* y larvas de ancylostómidos; mientras que los parques en mal estado de conservación, los huevos y larvas están expuestos a la desecación y a la acción directa de los rayos solares que los destruirían en corto tiempo^{12,13,28,30,31}.

El recojo de las heces debe hacerse diario para cortar el desarrollo de los huevos o larvas. Estos cuando son eliminados necesitan un tiempo para transformarse en formas infectantes, es decir capaces de contagiar e instalarse en los hospederos susceptible. Una vez que los huevos, fuentes de infección, son depositados junto con las heces, la limpieza y sanidad asumen una importancia vital para la prevención de infecciones/reinfecciones de los perros. Lo recomendable es que las heces sean removidas diariamente y nunca deben ser dejadas por recoger en los locales donde los animales o las personas pasan el tiempo. Con relación a los factores condicionantes generales, los parásitos gastrointestinales, tiene como principal factor común, decisivo para su existencia y difusión, la necesidad de un alto grado de “fecalismo ambiental”.

Las heces de los animales de compañía son un material biológico altamente contaminante en todas las ciudades, donde los parásitos pueden ser viables durante largos periodos de tiempo. No recoger las heces de los perros es altamente peligroso para la salud pública, ya que los parásitos que contienen pueden ser viables durante largos periodos de tiempo. Extremar los hábitos de higiene cuando se convive con una mascota puede minimizar los riesgos de contraer ciertas zoonosis.

Los propietarios en un alto porcentaje 75,36% manifestaron eliminar las heces en los basureros públicos, sin embargo un 25% lo hace en la vía pública. Nuevamente se refleja la falta de conocimiento de las enfermedades zoonóticas y su impacto en la salud pública. La importancia de realizar una correcta eliminación de heces caninas, no sólo es por las molestias que estos excrementos causan en las ciudades (mal olor y aspecto), sino por el riesgo sanitario que pueden provocar en caso de que los animales no estén correctamente desparasitados. Desde el punto de vista sanitario, la eliminación de las heces de la vía pública evita el contagio de enfermedades zoonóticas¹⁻³. Las heces del perro son tóxicas para el césped, provocando quemaduras y decoloración antiestética, pero más allá del césped, se ha estimado que un solo gramo de excremento de perro puede contener 23 millones de bacterias coliformes fecales, que son conocidos por causar calambres, diarrea, enfermedades intestinales y trastornos graves de riñón en los seres humanos^{3,31}. En conclusión: (i) existen riesgos para la salud de las familias de la ciudad de Chiclayo que poseen perros con helmintos gastrointestinales zoonóticos, (ii) los parásitos gastrointestinales con potencial zoonótico reportado en perros domiciliarios están asociados con factores sociales como hábitos de higiene, falta de tenencia responsable de caninos y falta de conocimiento de las posibles enfermedades que pueden adquirir por la tenencia de animales de compañía, (iii) los médicos veterinarios pueden desempeñar un papel importante en la educación de sus clientes, (iv) se requieren una atención a las zoonosis parasitarias desde una perspectiva integral, que más allá de una casuística, considere sus determinantes para lograr un proceso de evaluación y seguimiento más real de estas parasitosis, elementos necesarios para la implementación de un modelo de vigilancia epidemiológica de las infecciones parasitarias en caninos domiciliarios y (v) es necesaria una mayor integración entre las autoridades sanitarias de Salud Pública con los Médicos Veterinarios con el propósito de trazar políticas públicas, para el control epidemiológico del parasitismo de animales de compañía.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Han BA, Kramer AM, Drake JM. Global patterns of zoonotic disease in mammals. *Trends in Parasitol.* 2016; 32(7):565-577
2. Torgeson PR, Macpherson CNL. The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: Global trends. *Vet Parasitol.* 2011; 182:79-95
3. Baneth G, Thamsborg SM, Otranto D, Guillot J, Blaga R, Dephazes P, et al. Major parasite zoonoses associated with dogs and cats in Europe. *J. Comp. Path.* 2016; 155: S54-S74
4. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y animales. Vol. III. 3ra ed. Washington, DC. Publicación Científica y Técnica N° 580. 2003
5. Kahn LH. Confronting Zoonoses, Linking Human and Veterinary Medicine. *Emerg Infect Dis.*, 2006; 12: 556-561.
6. Lee ACY, Schantz PM, Kazacos KR, Montgomery SP, Bowman DD. Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends Parasitol.* 2010; 26(4):155-161. doi:10.1016/j.pt.2010.01.002
7. Acosta DC, Castro LI, Pérez J. Parásitos gastrointestinales zoonóticos asociados con hábitos de higiene y convivencia en propietarios de caninos. *Revista Biosalud* 2017; 16(2): 34-43 DOI: 10.17151/biosa.2017.16.2.4
8. Moline DH. Neglected Diseases but unrecognized successes-challenges and opportunities for infectious disease control. *Lancet* 2004; 364:380-383.
9. Peña GI, Vidal FF, del Toro RA, Hernández A, Zapata RM. Zoonosis parasitarias causadas por perros y gatos, aspecto a considerar en Salud Pública de Cuba. *REDVET.* 2017; 18(10):1-11
10. Robertson ID, Irwin PJ, Lymbery A, Thompson R. The Role of Companion Animals in the emergence of parasitic zoonoses. *Int J Parasitol* 2000; 30(12/13):1369-1377.
11. Traversa D, di Regalbobo AF, Di Cesare A, La Torre F, Pitrobelli J, Pietrobelli M. Environmental contamination by canine geohelminths. *Parasites & Vectors* 2014; 7:67
12. Traversa D. Pet roundworms and hookworms: A continuing need for global worming. *Parasites & Vectors* 2012; 5:91 doi:10.1186/1756-3305-5-91
13. Marcano Y, Gonzáles M, Gallego L, Hernández T, Naranjo M. Caracterización epidemiológica de parasitosis intestinales en la Comunidad 18 de Mayo, Santa Rita, estado Aragua, Venezuela, 2012. *Bol Mal Salud Amb.* 2013; 52(3):135-145
14. Oliveira-Sequeira TC, Amarante AF, Ferrari TB, Nunes LC. Prevalence of intestinal parasites in dogs from Sao Paulo State, Brazil. *Vet Parasit* 2002; 103(1-2):19-27.
15. Balassiano BCC, Campos MR, Alcantara de Mecezes RCA, Pereira MJS. Factors associated with gastrointestinal infection in dogs in Rio de Janeiro, Brazil. *Preventive Med Vet* 2009; 91:234-240.
16. Sierra-Cifuentes V, Jiménez-Aguilar J, Alzate Echeverri A, Cardona-Arias J, Ríos-Osorio L. Prevalencia de parásitos intestinales en perros de dos centros de bienestar animal de Medellín y el oriente antioqueño (Colombia). 2014. *Rev Med Vet.* 2015; (30):55-66.
17. Gonzáles AC, Giraldo JC. Prevalencia de parásitos intestinales zoonóticos en caninos (*Canis lupus familiaris*) del Área urbana del Municipio de Coyaima (Tolima). *Revista Med.* 2015; 23(2):24-34
18. Trillo-Altamirano M, Carrasco A, Cabrera R. Prevalencia de helmintos enteroparásitos zoonóticos y factores asociados en *Canis familiaris* en una zona urbana de la ciudad de Ica, Perú. *Parasitol. latinoam.* 2003; 3-4: 136-141.
19. Minaya Ibáñez A. Identificación y frecuencia de parásitos gastrointestinales en canes de la SAIS Túpac Amaru en el distrito de Canchayllo, Jauja-Junín. [Tesis de Médico Veterinario Zootecnista]. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Perú. 2007.
20. Cruz TL, Chávez VA, Falcón PN, Fernández PV, Huamán UH, Li O, et al. Helmintiasis gastrointestinal en perros pastores de comunidades ganaderas de Puno, Perú. *Rev. investig. vet. Perú.* 2012; 23(1):72-79.
21. Vega S, Serrano-Martínez E, Grandez R, Pilco My, Quispe M. Parásitos gastrointestinales en cachorros caninos provenientes de la venta comercial en el Cercado de Lima. *Salud Tecnol. Vet.* 2014; 2:71-77.
22. Huamán-Dávila A, Jara CA. Prevalencia del parasitismo intestinal en *Canis familiaris* de dos zonas de Trujillo, Perú. 2015. *REBIOL* 2016; 36(2):33-39
23. Nunton J. Prevalencia e Identificación de Ectoparásitos y Endoparásitos en caninos (*Canis familiaris*) sacrificados en la Estación Cuarentenaria de la Ciudad de Chiclayo. [Tesis de Médico Veterinario]. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque. Perú. 2000.
24. Carrasco Valderrama Y. Prevalencia de Enteroparásitos en perros (*Canis familiaris*) del Distrito de Chiclayo. Departamento de Lambayeque. Perú. 2013 [Tesis de Médico Veterinario]. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. 2014.
25. Aguilar Dávila S. Prevalencia de Enteroparásitos en perros (*Canis familiaris*) del Distrito de José Leonardo Ortiz. Provincia de Chiclayo. Departamento de Lambayeque. Perú 2014. [Tesis de Médico Veterinario]. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. 56p.
26. Hendrix CM. Diagnóstico parasitológico veterinario. 2da ed. Madrid, España: Harcourt-Brace. 1999

27. Aydenizöz-özkayhan M, Yagci BB, Erat S. The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. *Vet Parasitol*, 25 March 2008; 152(1-2):94-100.
28. El-Tras WF, Holt HR, Tayel AA. Risk of *Toxocara canis* eggs in stray and domestic dog hair in Egypt. *Vet Parasitol*, 2011; 178(3-4):319-323.
29. Rubel D, Zunino G, Santilán G, Wisnivesky C. Epidemiology of *Toxocara canis* in dog population from two diferente áreas of diferente socioeconomic status, Greater Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol* 2003; 115(3):275-286
30. Alva Fernández R, Arévalo Tello W, Oviden J. Prevalencia de huevos de *Toxocara* spp en parques y jardines en el distrito de Chiclayo. En: XVI Cong Nacional de Ciencias Veterinarias. Huánuco-Perú. 2002; 71:12-14
31. Rubinsky-Elefant G, Hirata CE, Yamamoto JH, Ferreira MU. Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. *Ann Trop Med and Parasitol*. 2010; 104(1):3-23.

Correspondencia: cjara@unitru.edu.pe



Efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)

Effect of temperature on the development cycle of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)

Robert Marquina-Bazán¹, Aída Carbajal de Wilson²

¹Escuela de Segunda Especialidad de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo,

²Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. (Trujillo, Perú)

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), en condiciones de laboratorio. El trabajo se realizó en el laboratorio de Crianza de insectos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, de febrero a agosto del 2016. Se utilizaron los adultos y huevos de *G. mellonella*, se acondicionaron cámaras climáticas para regular las temperaturas de 25°C, 29°C, 33°C y a temperatura ambiente 21°C, con tres repeticiones por cada una de las temperaturas. El registro de temperatura se realizó por medio de un termohigrómetro VWR, se empleó el diseño experimental completamente al azar. Los resultados mostraron que la duración del ciclo de desarrollo de *G. mellonella* fue que a menor temperatura (temperatura ambiente de 21°C) la duración del ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. fue mayor (87.8 días) y a mayor temperatura (33°C) la duración del ciclo de desarrollo fue menor (45.85 días). La duración del periodo de incubación, estado larval, estado pre-pupa y pupa a mayor temperatura fue de 6.91, 27.16, 1.21, 10.57 días a 33°C y a menor temperatura fue de 12.85, 51.89, 2.53 y 20.53 días a temperatura ambiente.

Palabras clave: Ciclo de desarrollo, *Galleria mellonella*, temperatura.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the effect of temperature in the development cycle of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), under laboratory conditions. The work was carried out in the laboratory of Insect Breeding of the Faculty of Biological Sciences of the National University of Trujillo, from February to August 2016. The adults and eggs of *G. mellonella* were used, climatic chambers were conditioned to regulate the temperatures of 25 ° C, 29 ° C, 33 ° C and at room temperature 21 ° C, with three repetitions for each of the temperatures. The temperature record was made by means of a VWR thermohygrometer, the experimental design was used completely at random. The results showed that the duration of the development cycle of *G. mellonella* was that at a lower temperature (ambient temperature of 21 ° C) the duration of the development cycle of *Galleria mellonella* L. was higher (87.8 days) and higher temperature (33 ° C) the duration of the development cycle was shorter (45.85 days). The duration of the incubation period, larval stage, pre-pupal stage and pupa at higher temperature was 6.91, 27.16, 1.21, 10.57 days at 33 ° C and at a lower temperature was 12.85, 51.89, 2.53 and 20.53 days at room temperature.

Keywords: Development cycle, *Galleria mellonella*, temperature.

INTRODUCCIÓN

Galleria mellonella L. (Lep.: Pyralidae) “polilla mayor de la cera”, se distribuye ampliamente en todo el mundo, excepto en climas muy fríos y en grandes altitudes¹. La actividad de los adultos comienza en primavera y continúa gran parte del verano, aunque en países tropicales puede continuar desarrollándose durante todo el año². Las polillas ovipositan preferentemente en lugares oscuros, con poca ventilación o en colmenas débiles, presentando preferencia por los panales viejos y oscuros³. Es considerada una de los mayores enemigos de las colonias de abejas, ya que en su fase larvaria destruye, de forma significativa, los panales y se encuentra distribuida en todas las regiones de mundo donde se practica la apicultura⁴.

A pesar de la importancia de la “polilla mayor de la cera” en la industria apícola, también se investiga mucho más como un organismo modelo para estudios en Fisiología de insectos, la Genómica, la Proteómica, entre otros. La “polilla mayor de la cera” es considerada un insecto útil, ya que sus larvas son comercializadas en Estados Unidos y Europa para la alimentación de peces y aves⁵. Las larvas de *G. mellonella*, son utilizadas como hospederos alternativos para la producción de parasitoides y otros enemigos naturales de plagas perjudiciales para los agroecosistemas⁶, la exigencia cada vez mayor del uso racional y selectivo de pesticidas por parte de los mercados internacionales ha impulsado el desarrollo de un programa de manejo integrado en el que se emplea prácticas agronómicas, etológicas y biológicas en este rubro la crianza de insectos⁷. En también en Brazil, se utilizó larvas del V estadio para la producción artificial de *Lixophaga diatraeae* (Townsend)⁸.

El comportamiento y desarrollo de las poblaciones de insectos, tanto de hospederos como parasitoides, están influenciados por varios factores abióticos entre ellos la temperatura, humedad y luz y bióticos como los organismos herbívoros, la calidad y las características de las plantas hospederas⁹. Entre los factores abióticos, uno de los más importantes es la temperatura. Ésta es la que determina los límites de las actividades biológicas de los insectos, de tal manera que las temperaturas óptimas y los umbrales máximos y mínimos pueden ser estimados para todos los procesos principales de la vida de los insectos. Sin embargo, los requerimientos térmicos pueden ser diferentes según las especies y las etapas de desarrollo^{10,11}.

Neira¹³ registró que el ciclo biológico de *G. mellonella* varía de acuerdo a las condiciones de temperatura, pudiendo ser de 30 a 60 días a 22° C¹². La duración del ciclo de vida de *G. mellonella* disminuye a medida que se incrementa la temperatura¹³; sin embargo, no se ha investigado con detalle tal influencia en cada estadio de desarrollo y en circunstancias distintas a su medio natural.

Se debe considerar que el conocimiento sobre los efectos de la temperatura sobre los diferentes estados de desarrollo de los insectos es un elemento importante para la definición de las estrategias de crianza y control. Este conocimiento, cuando se aplica a *G. mellonella*, permitirá determinar el tiempo de desarrollo a diferentes temperaturas. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L., en condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de ejecución:

El trabajo se llevó a cabo, en el Laboratorio de Crianza de insectos. Pabellón “Antonio Samanamud Romero” 304. Ciudad Universitaria – UNT. Av. Juan Pablo II s/n., distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, entre los meses de febrero a agosto del 2016.

Obtención del material biológico:

Los adultos y huevos de *G. mellonella* que se utilizaron en el trabajo de investigación provienen de crianza masal del laboratorio de control biológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA.

Preparación de la dieta:

En un recipiente se colocó el alimento de mascota “Mimaskot” molida junto con el afrecho de trigo, al cual se le agregó miel de azúcar rubia agitando constantemente hasta obtener una mezcla ligosa.

Efecto de la temperatura:

Los experimentos fueron realizados en laboratorio, donde se acondicionó cámaras climatizadas para regular las temperaturas de 25° C, 29° C y 33° C y a temperatura ambiente con tres repeticiones por cada una de las temperaturas. El registro de la temperatura se realizó por medio de un Termohigrómetro VWR.

Ciclo de desarrollo:

Colecta de posturas y acondicionamiento de huevos

Se colectó a diario huevos de *G. mellonella* y se acondicionaron en recipientes de plástico de 500 mL, aproximadamente de 0,4 g de huevos con 4 g de polen por un período de 8 días, cumplido el tiempo se agregó 500 g de dieta por un período de 7 días.

Para determinar el período de incubación de *G. mellonella*, se inició con una unidad experimental constituida por 20 huevos recién ovipositados, ubicados en una placa petri sobre un papel filtro húmedo. Éstos se incubaron a las diferentes temperaturas 25° C, 29° C, 33° C y a temperatura ambiente, hasta su eclosión, para cada temperatura o tratamiento se tuvo tres repeticiones.

Crianza de larvas

Para las observaciones sobre el estado de larva de *G. mellonella*, se colocó una larva de un día de edad en un recipiente con la dieta preparada, lo que constituye la unidad experimental. El experimento se inició con 20 larvas para cada temperatura y diariamente se tomó la medida de la longitud de su cuerpo, la cual se midió con la ayuda de una regla milimetrada, para este estado se registró el tiempo que tomó la larva en cambiar de estadio.

Acondicionamiento de pre-pupa y pupa

Se colocó una pupa en un recipiente de 4.5 x 4.6 x 2.3 cm sobre un papel filtro, el experimento se inició con 20 pupas por cada temperatura o tratamiento y se registró el tiempo de duración de este estado.

RESULTADOS

En la Tabla 1 y Fig. 1, se presentan la duración promedio del ciclo de desarrollo de *G. mellonella* L. Se observó que el ciclo de desarrollo de *G. mellonella* es más corto a medida que se incrementa la temperatura, siendo el mayor promedio de duración de 87.80 días a 21° C y el menor promedio de duración de 45.85 días a 33° C, que fue la mayor temperatura.

En la Tabla 2, se presenta la duración promedio de cada estado de *G. mellonella*. Se observó que el periodo de incubación varía de 6.91 a 12.85 días a 33° C y temperatura ambiente. El menor tiempo de duración del estadio de pupa fue de 1.21 días a 33° C.

En la Fig. 5, se presenta la duración promedio de cada estadio larval de *G. mellonella*. Se observó que 33° C el desarrollo de cada estadio fue en menor tiempo a comparación a la de 21° C que tuvo mayor tiempo de desarrollo.

Tabla 1. Duración promedio en días del ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. a temperatura ambiente (21°C), 25° C, 29° C y 33°C.

Tratamiento	Promedio \pm DS
T. ambiente (21° C)	87.80 \pm 2.92
25° C	70.36 \pm 2.57
29° C	60.81 \pm 2.38
33° C	45.85 \pm 2.27

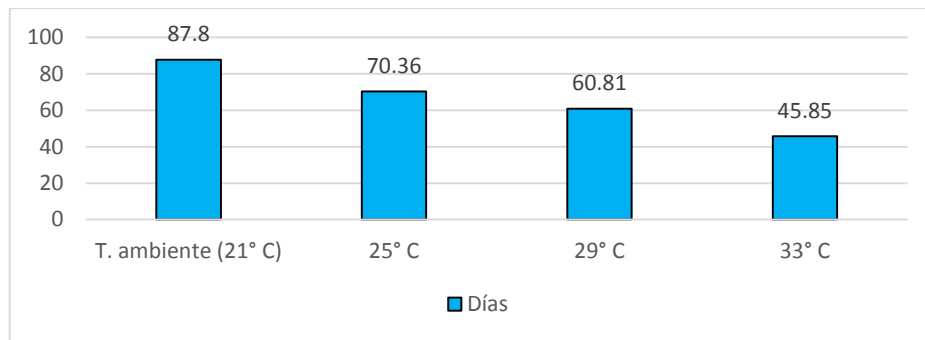


Fig. 1. Duración promedio en días del ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. a temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C.

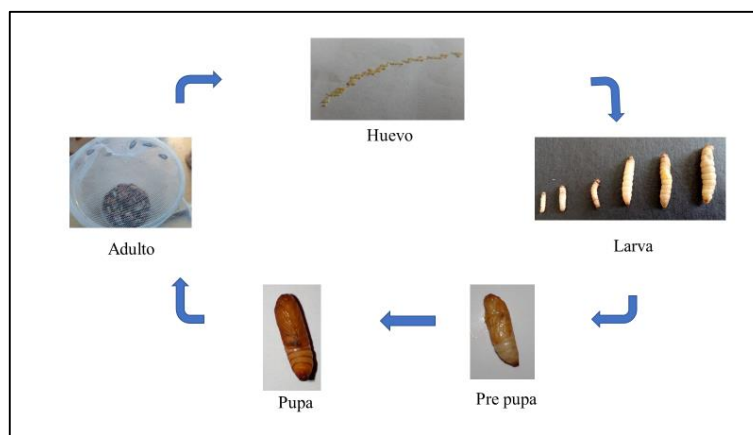


Fig. 2. Ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. en condiciones de laboratorio.

Tabla 2. Duración promedio en días de los estados de desarrollo de *Galleria mellonella* L. a temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C.

ESTADO	T. ambiente	25° C	29° C	33° C
Huevo	12.85 ± 0.75	10.90 ± 0.54	8.93 ± 0.68	6.91 ± 0.37
Larva	51.89 ± 3.01	41.92 ± 2.94	37.01 ± 2.88	27.16 ± 2.80
Pre Pupa	2.53 ± 0.27	2.23 ± 0.21	1.85 ± 0.17	1.21 ± 0.11
Pupa	20.53 ± 2.01	15.31 ± 1.88	13.02 ± 1.67	10.57 ± 1.51

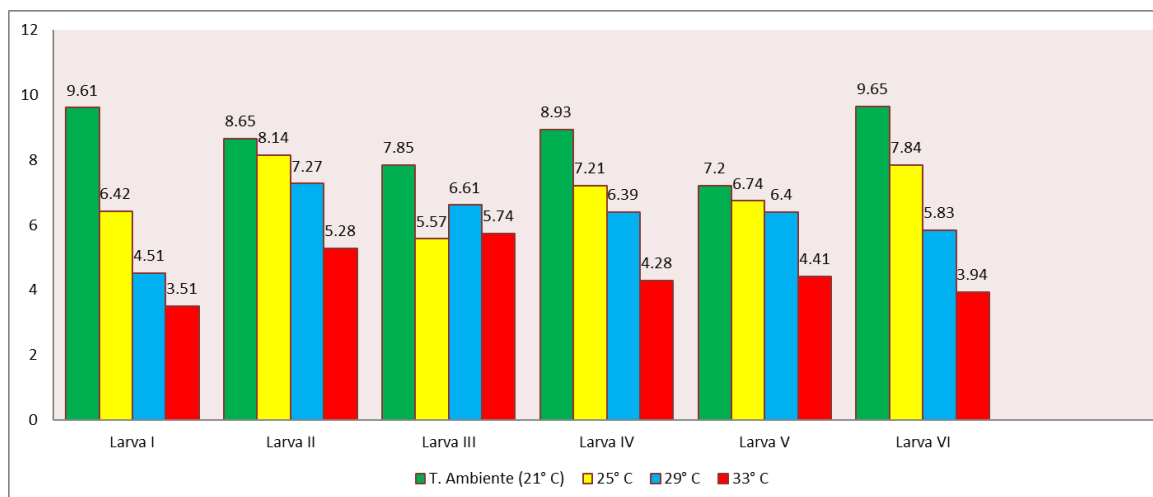


Fig. 3. Promedio de la duración en días de cada estadio larval de *Galleria mellonella* L. a temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C.

DISCUSIÓN

En la Tabla 1 y Fig. 1, se observa, el tiempo total de duración de los estados biológicos de *G. mellonella* a temperatura ambiente fue de 87.80 días, a 25° C fue 70.36 días, estos resultados se asemejan a los obtenidos en Cuba, donde se encontró que el ciclo de desarrollo de *G. mellonella* a 20° C y 25° C y tuvo una duración total de 89.10 y 71.25 días, respectivamente¹⁴. A temperatura de 29° C fue de 60.81 días muy cercano con Ozer¹⁵, que menciona que a 29° C el ciclo de desarrollo fue de 59.67 días. A la temperatura de 33° C tuvo un promedio de duración de 45.85 días. En los resultados obtenidos, se ha encontrado una relación inversamente proporcional entre la temperatura y la duración del ciclo de desarrollo¹⁶.

En la Tabla 2 se observa, que el período de incubación de la polilla tuvo un promedio de 12.85, 10.90, 8.93 y 6.91 días para temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C respectivamente, estos resultados son similares a los registrados por Abid *et al.*¹⁷ quienes registraron que la duración del estado de huevo fue de 13.6 días a 22° C. Asimismo, Cardoso *et al.*¹⁸ mencionan que el período de incubación fue de 8.3 días a 29° C y de 6.8 a 32° C.

El estado larval fue influenciado por la temperatura y tuvo un promedio de 54.42, 44.15, 38.86 y 28.37 días para temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C respectivamente (Tabla 2), estos resultados son similares a los registrados por Marston y Campbell¹⁴, quienes evaluaron el crecimiento larvario de *G. mellonella* en dietas alternativas expuestos a diferentes temperaturas y registraron que la duración del estado larvario es de 56.97, 41.07 y 30,4 días a temperatura ambiente, 21° C, 29° C y 33° C respectivamente. Por lo contrario cuando evaluó el ciclo biológico de *G. mellonella* en condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo de 16:8 horas de oscuridad: luz, demostró que la duración del estadio larvario fue de 74.41, 50.27 y 23.4 días a temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C respectivamente¹⁹, probablemente, en este estudio las larvas estaban expuestas a un periodo de luz lo cual pudo afectar el desarrollo larvario, por ser *G. mellonella* un insecto de hábitos nocturnos²⁰.

En la Fig. 3, se presenta la comparación en la duración de los diferentes estadios larvales en las temperaturas evaluadas, se observó que las larvas de *G. mellonella* pasaron por seis estadios, resultados semejantes a los obtenidos por Zenner y Posada²¹, quienes en su investigación observaron que las larvas de esta especie pasaron por seis estadios a 25° C, 29° C y 33° C; Realpe *et al.*¹³, cuando utilizaron larvas para la producción de nematodos entomopatógenos observaron que esta especie pasaron por seis estadios. Sin embargo, este dato difiere con los datos obtenidos por Cardoso *et al.*¹⁸, en el cual las larvas fueron alimentadas con harina de trigo, levadura, miel procesada y cera sólida; y observaron que a 20° C las larvas de *G. mellonella* pasaron por siete estadios, mientras que a 25 y 30° C pasaron por ocho estadios, probablemente esta dieta tendría un alto valor nutricional ya que se utilizaron ingredientes que forman parte de la dieta natural de *G. mellonella*. Sin embargo, cuando se evaluó el efecto de diferentes dietas en la producción de larvas, registro que *G. mellonella* paso por siete estadios larvarios²². Cabe anotar que el número de estadios en los insectos puede variar como

respuesta a factores como la disponibilidad, la cantidad y calidad de alimento ya que de esto va a depender el estado nutricional y tendrían un efecto directo sobre el rendimiento y la calidad de las larvas²³.

En el estado biológico de pre-pupa y pupa, la tendencia general de la duración en estos estados es igual a la observada en el estado de huevo y larva, con una disminución en días a medida que aumenta la temperatura. La duración del estado de pre-pupa fue de 2.53, 2.23, 1.85 y 1.21 días para temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C, y la duración del estado de pupa fue de 20.53, 15.31, 13.02 y 10.57 días para temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C, respectivamente, estos resultados se asemeja al obtenido por Brar *et al.*²⁴, encontraron que la duración del estadio de pupa es de 18.2 días a 22° C y 12.2 días a 31° C. No obstante, esos datos difieren de los obtenidos por Molina y López²⁵ quienes encontraron que la duración de este periodo es de 6.5 a 7.8 días a una temperatura de 32° C.

Las diferencias encontradas en el ciclo de desarrollo de *G. mellonella* a temperatura ambiente, 25° C, 29° C y 33° C, se deben a factores físicos y biológicos principalmente como se ha mencionado la temperatura, lo que también coincide con Kopáček *et al.*²⁶, que este factor determinaría el tiempo de duración del ciclo de desarrollo. De igual manera otro factor que influiría sería los estímulos químicos generados por el insecto tales como gradientes de temperatura²⁷. Estas diferencias en el ciclo de desarrollo de *G. mellonella* también se pueden atribuir a los mecanismos de defensa de cada insecto al estar expuestos a diferentes temperaturas²⁸. En conclusión: (i) a menor temperatura (temperatura ambiente de 21°C) la duración del ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. fue mayor (87.8 días) y a mayor temperatura (33°C) la duración del ciclo de desarrollo fue menor (45.85 días), (ii) la duración del periodo de incubación, a mayor temperatura fue de 6.91 días a 33° y a menor temperatura ambiente a 21° C fue de 12.85 días a temperatura ambiente, (iii) la duración del estado larval, a mayor temperatura fue de 27.16 días a 33° C y a menor temperatura ambiente a 21° C fue de 51.89 días a temperatura ambiente y (iv) la duración del estado de pre-pupa y pupa, a mayor temperatura fue de 1.21 y 10.57 días a 33° C y a menor temperatura a 21° C fue de 2.53 y 20.53 días a temperatura ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Root A. ABC y XYZ de la apicultura. 10a edición. Argentina. A. I. Root Company 1976; 670 p.
2. Neira M, Manquian, N. Apuntes prácticos de apicultura. Material curso: Apicultura básica (PSVE 232). Universidad Austral de Chile, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal. Valdivia, Chile. 2004; 111 p.
3. Cornejo L. Apicultura práctica en América Latina. Servicios agrícolas de la FAO. Roma. Bull. 1993; 105. 169 p.
4. Llorente J. Las enfermedades y enemigos de las colmenas. In: Quero, A. (ed). Las abejas y la apicultura. Universidad de Oviedo. España. 2004; pp: 105 – 117.
5. Williams J. Insects: Lepidoptera (moths) In: Morse, R y Nowogrodski, R. (eds). Honey bee pests, predators, and diseases. Sec. Edition. USA. 1990; pp: 96 – 120.
6. Gallo D, Nakano O, Silveira S, Neto R, Carvalho L, Batista G, Berti E, Parra J, Zucchi R, Alves S, Vendramin J. Manual de entomología agrícola. 2° edição. Editora Agronômica Ceres Ltda., São Paulo, 1988; 649p.
7. Rijo E, Barrios A. Desarrollo de *Galleria mellonella* alimentada con dieta a base de derivados de la industria azucarera. Cienc. Tec. Agric. Protec Plantas. 1996; 12: 61-69.
8. Ravelo H, Técnica de incubación – liberación para la reproducción artificial de *Lixophaga diatraeae* (Town). Rev Protección Vegetal. 2015; 30:106.
9. Minkenbergh O, Helderman; C. Effect of temperature on the life history of *Liriomyza bryoniae* (Diptera: Agromizidae) on tomato. J Economic Entomol. 1990; 83: 117-125.
10. Gilbert N, Raworth, D. Insect and temperature, a general theory. Can Entomol. 1996; 128:1-13.
11. Roy M, Brodeur J, Cloutier C. Relationship between temperature and development rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). Environ Entomol. 2002; 31:177-187.
12. Neira M. Sanidad apícola, principales enfermedades y enemigos de las abejas en Chile. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 2006; 138 p.
13. Realpe A, Bustillo P, López N. Optimización de la cría de *Galleria mellonella* L. para la producción de nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café. Cenicafé 2007; 58(2):142-157.

14. Marston N, Campbell B, Boldt P. Mass producing eggs of the greater wax moth, *Galleria mellonella* L. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture Technical Bulletin. 1985; 1510: 15 pp.
15. Ozer M. Arı kovanlarında önemli zarar yapan balmumu güvesi (*Galleria mellonella* L.)' nin morfoloji, biyoloji ve yayılışı üzerine araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 1962; 2: 26–36.
16. Bazzocchi G, Lanzoni A, Burgio G, Fiacconi M. Effects of temperature and host on the pre-imaginal development of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). Biological Control. 2003; 26: 74-82.
17. Abid M, Shaarawy M, El-Yassery M. Studies on the biology of the greater wax moth *Galleria mellonella* L., (Lepidoptera: Pyralidae). Iraq. Bull. Nat. Hist. Res. 1979; Centre 7:1-10.
18. Cardoso A, De La Prata M, Furlong J, Prezoto F. Exigencias térmicas de estadios inmaduros de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Ecology, Behavior and Bionomics. Neotrop Entomol. 2007; 36(5):657-661.
19. Mishra S. Observations on the biology of wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Indian For. 1971; 97: 573-576.
20. Ceballos Gonzalo. Introducción a la entomología general. 3a ed. Madrid: Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes. 1974; 330 p.
21. Zenner De P, Posada F. Manejo de insectos, plagas y benéficos, de la palma africana. (Manual de Asistencia Técnica No. 54). Bogotá, ICA, 1992; 124 p.
22. Lyon W. Rearing wax worm. Ohio State University Extension Fact Sheet. Entomology. 2007.
23. Bustillo P. Diferencias en el ciclo de vida e incidencia en el número de instares de *Glena bisulca* (Lepidoptera: Geometridae) a diferentes temperaturas ambientales. Revista Colombiana de Entomología. 1976; 2 (3): 99 - 103.
24. Brar H, Brar B, Gatoria G, Jhaj H. Biology of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. infesting *Apis mellifera* L. colonies in Punjab. J. Insect Sci. 1996; 9: 12-14.
25. Molina J, López J. Producción in vivo de tres especies de entomonematodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. Revista Colombiana de Entomología. 2001; 27 (1-2): 73 - 78.
26. Kopáček P, Weise C, Götz, P. The prophenoloxidase from the wax moth *Galleria mellonella*: Purification and characterization of the proenzyme. Insect Biochem and Mol Biol. 1995.
27. Smith T. Morphology of the larva, pupa and adult of the wax moth *Galleria mellonella* L. J Kansas Entomol Soc. 1997. 38: 287-310.
28. Schuhmann B, Seitz V, Vilcinskas A, Podsiadlowski L. Cloning and expression of gallerimycin, an antifungal peptide expressed in immune response of greater wax moth larvae, *Galleria mellonella*. Arch Insect Biochem and Physiol. 2003.

Correspondencia: robertmarquinabazan@gmail.com



Pesquería del pejerrey, *Odontesthes regia regia*, en Puerto Casma, Ancash (Perú). 2010-2015

Fisheries of *Odontesthes regia regia* in Casma Port, Ancash (Peru). 2010-2015

Bilmia Veneros Urbina, Elena Icochea Barbarán, Nancy Cordova Rosario y Cristian Geldres Cruz

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

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo caracterizar la pesquería de *Odontesthes regia regia* en Puerto Casma, Ancash desde el año 2010 hasta el 2015; la información procesada fue obtenida en Puerto Casma. El mayor desembarque de esta especie se observó en el año 2010, luego disminuyó bruscamente en el 2011, para posteriormente a partir del 2013 mostrar una tendencia a estabilizarse. La flota utilizada fueron lanchas con una capacidad de bodega entre 6 y 12 T, botes entre 1 y 5 T y chalanas de 0,7 y 08 T, equipadas con redes de cerco y cortina las lanchas y los botes, mientras que las chalanas solo operaron con red cortina. El número de tripulantes por lancha varió entre 5 y 6, los botes entre 1 y 5 y las chalanas entre 1 y 2. Las zonas de pesca fueron 26 siendo las más frecuentes y con mayores desembarques el Frío, Punta Gorda, Batan, Bernardino, Isla Blanca, el Huaro, la pampa y Rincón Piños.

Palabras Clave: Pesquería, *Odontesthes regia regia*, Casma, Ancash.

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize the fisheries of *Odontesthes regia regia* in Port Casma, Ancash, since the year 2010 to 2015, the processed information was obtained from Port Casma the mayor landed this specie was in the year 2010, later diminished quickly in 2011, then since 2013 to show a tendency to stablished. The fleet used was launches with a hold between 6 and 12 T, boats between 1 and 5 T and scows of 0,7 and 0,8 T, equipped whit ring and curtain nets. The crews umber for launch was 5 and 6, the boats between 1 and 5 and scows between 1 and 2. The most fishing zones were 26 and with the most landings the Frio, Punta Gorda, Batan, Bernardino, Isla Blanca, the Huaro, the Pampa and Rincon Piños.

Keywords: Fishery, *Odontesthes regia regia* Casma, Ancash.

INTRODUCCIÓN

El mar peruano se extiende de norte a sur en una franja litoral de 3080 Km, abarcando una superficie de 960 000 Km², de esta superficie la franja paralela a la costa (hasta 20 millas aproximadamente), constituye el área de actividad pesquera artesanal, en la cual se obtienen una variedad de recursos¹. Éste se encuentra ubicado en el área de afloramiento más importante del mundo, tiene niveles de productividad no superados por ningún otro ecosistema marino, y que son la base de una inmensa cadena trófica lo que favorece el desarrollo de grandes volúmenes de recursos pesqueros².

La pesquería artesanal en el Perú es una actividad que se remonta a épocas prehispánicas, tal como se aprecia en las diferentes manifestaciones culturales de las épocas pre-incas e incas; esto significa que el poblador peruano desarrolló una tecnología de extracción, conservación y utilización de los recursos, lo cual ha permitido que el pescador artesanal tenga un conocimiento innato sobre el comportamiento y disponibilidad de los recursos en función de los cambios en el ambiente, aprovechando éstos cuando le son más accesibles³.

Durante el 2010, el desembarque de la pesquería artesanal fue de 757 607 t lo que significó 21,2 % de incremento con respecto al 2009. De este total, 49,4 % fueron peces (373 897 t); 48,8 % invertebrados (369 307 t), 14 117 t de algas y 286 t de ovas de pez volador⁴. Dentro de estos recursos que sustentan la pesquería artesanal en el Perú se encuentra la especie *Odontesthes regia regia*, conocida como el pejerrey, es una especie pelágica costera que se encuentra en el mercado en el mercado interno es bastante aceptada por el agradable sabor y buena textura de su carne.

Berrú et, al⁵ identificaron en Puerto Casma 16 especies de invertebrados comerciales y 40 especies de peces, así como praderas de macroalgas y fauna asociada, indicando que la comunidad pesquera artesanal del litoral de este Puerto sustenta mayormente su actividad en peces y moluscos como Pejerrey, lorna, anchoveta, machete, cabinza y lisa, calamar, caracol negro, pulpo y lapa. Así mismo mencionan que los registros de capturas durante el año 2004, señalan que los peces más importantes por sus volúmenes de captura fueron: *O. regia regia* “pejerrey” (39,48%), *Sciaena deliciosa* “lorna”, *Engraulis ringens* “anchoveta”, *Ethmidium maculatum* “machete”, *Isacia conceptionis* “cabinza”, *Mugil cephalus* “lisa” y *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

IMARPE⁶ indica que en Puerto Casma las principales especies ícticas que sustentan la pesca artesanal son, teniendo en cuenta sus desembarques, *O. regia regia*, *Paralichthys peruianus* “coco”, *M. cephalus*, *S. deliciosa* y *E. maculatum*. *O. regia regia* es una especie perteneciente a la familia Atherinopsidae⁷, que tiene gran demanda en el consumo humano debido a su bajo costo, es de hábitat relativamente costero y habita sobre fondos arenosos cercanos a las playas, es de amplia distribución de preferencia al norte y centro del litoral peruano.

La presente investigación, estuvo orientada a caracterizar la pesquería de *Odontesthes regia regia* “pejerrey” durante los últimos 5 años tiene con la finalidad conocer como se está desarrollando la pesquería de este recurso, y pretende sentar las bases científicas para una óptima gestión de la pesquería, asegurando una pesca responsable y sostenida a través del tiempo, lo que permitirá aportar fuente de proteínas a la población de Puerto Casma.

MATERIAL Y MÉTODOS

La recolección de información se realizó en Puerto Casma, ubicado entre 9°28'01" Latitud Sur y 78°24'00" Latitud Oeste, perteneciente al distrito Comandante Noel de la provincia de Casma, departamento de Ancash (Fig. 1).

Los desembarques de pejerrey se procesaron por año y estación, para determinar las variaciones a través del tiempo, así mismo se identificó las zonas de pesca, los desembarques por cada zona, para estimar las zonas que aportaron los mayores desembarques y estimar el porcentaje de cada una de ellas, a través del tiempo, así como las zonas más frecuentes de pesca.

Se identificaron las embarcaciones y se clasificó de acuerdo a su capacidad de bodega, el número de tripulantes por embarcación y los artes de pesca utilizados en la captura de pejerrey, según Tresierra et al⁸.

La información fue organizada en tablas y gráficas utilizando el Programa Computacional Excel y para la redacción el Programa Computacional Word 2011.



Fig. 1. Ubicación geográfica de la Zona de muestreo Puerto Casma, Ancash (Perú).

Fuente:

<https://www.google.com.pe/search?q=Coordenadas+de+ubicacion+geografica+de+puerto+casma+ancash+peru&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiUveH6m8HTAhU>

RESULTADOS

Los desembarques de pejerrey en el periodo comprendido entre el 2010 y el 2015 presentó una tendencia a disminuir a través del tiempo, observándose un alto desembarque en el año 2010, luego una disminución brusca hacia el año 2011 y luego aparece una ligera recuperación para el año 2012; sin embargo, a partir del 2013 sus desembarques tienen la tendencia a estabilizarse (Fig. 2).

Los desembarques más altos de esta especie se observaron en la estación de invierno durante los años 2010 y 2014, para los años 2011 y 2012 los mayores desembarques corresponden a la estación de otoño, en el 2013 en el verano y 2015 fue en la estación de primavera (Fig. 2).

La captura de pejerrey en puerto Casma se realiza con chalanas, botes y lanchas (Fig. 3), siendo los botes las embarcaciones que estuvieron presentes durante los cinco años, la capacidad de bodega de los botes varío entre 1 y 5 toneladas, a excepción de año 2012 en la que la capacidad de bodega estuvo comprendida entre 3 y 5 para el verano y entre 2 y 5 toneladas para la estación de primavera (Tabla 1).

Las lanchas tienen una capacidad de bodega que varía entre 6 y 12 T y en la estación de primavera de los años comprendidos entre el 2010 y 2013 no participaron de la captura de este recurso, así como en el verano del año 2011 y 2012. Las chalanas, por su parte, tienen una capacidad de bodega comprendida entre 0,7 y 0,8 T y estuvieron presentes en otoño, invierno y primavera del 2013 y verano y primavera del 2014 (Tabla 1).

El número de tripulantes en las lanchas varió entre 5 y 6 y la captura lo realizaron solo con red de cerco, mientras que los botes su número de tripulantes varió entre 1 y 6 cuando operaban con red de cerco y 1 a 2 cuando la captura se realizó con red cortina y en las chalanas que solo capturaban con red cortina el número de tripulantes varió entre 1 y 2 personas por embarcación.

Las zonas de pesca fueron 26 y las que aportaron mayor captura en el año 2010 fueron el Frío, Punta Gorda e Isla Blanca, en el 2011 el Frío y el Batán, 2012 la zona de pesca fue el Huaro, Punta Gorda y Rincón piños, 2013 fueron Bernardino, Punta Gorda y el Huaro, 2014 Bernardino, el Huaro y la Pampa y en el 2015 fueron Bernardino, el Frío y el Huaro (Tabla 2). Estas zonas de pesca además de ser las más frecuentadas son las que mayores capturas han aportado durante los cinco años.

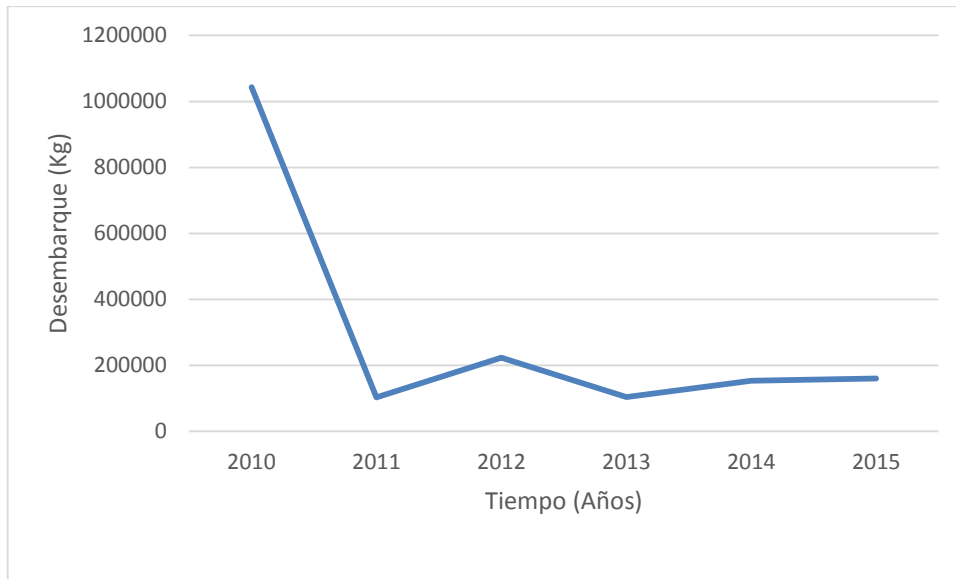


Fig. 2. Variación anual de desembarques de *Odontesthes regia regia* “pejerrey”, procedente de Puerto Casma (Perú). 2010-2015.

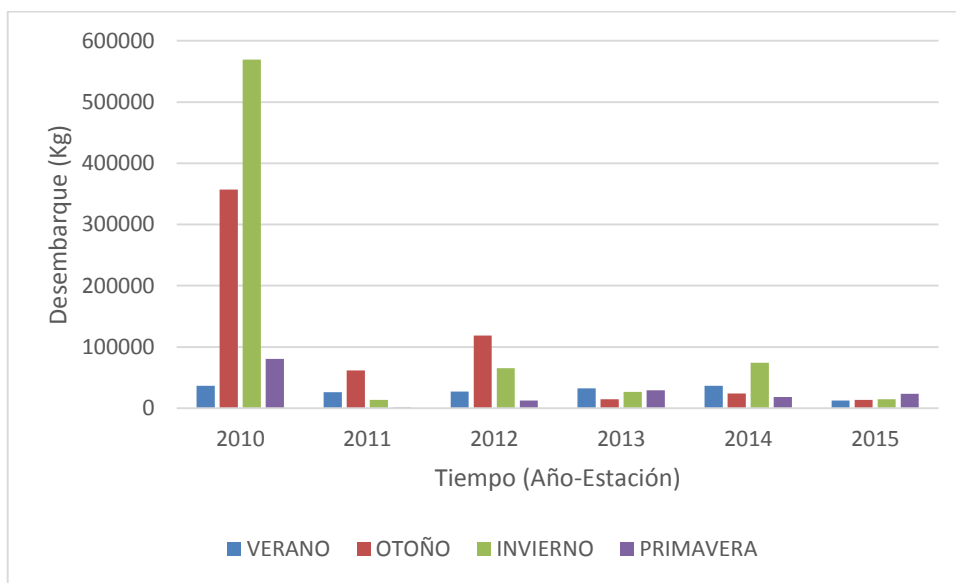


Fig. 3. Variación estacional de desembarques de *Odontesthes regia regia* “pejerrey”, Puerto Casma (Perú). 2010- 2015.



Fig. 4. Embarcaciones pesqueras dedicadas a la pesca artesanal en Puerto Casma, durante el periodo 2010 – 2015.

Tabla 1. Capacidad de bodega (Ton) y presencia de embarcaciones por estación y por año en la captura de *Odontesthes regia regia* “pejerrey”, Puerto Casma (Perú) del 2010 al 2015.

Año	VERANO			OTOÑO			INVIERNO			PRIMAVERA		
	B	L	Ch	B	L	Ch	B	L	Ch	B	L	Ch
2010	1 - 4	6	-	1 - 4	6 - 12	-	1 - 5	12	-	1 - 5	-	-
2011	1 - 5	-	-	1 - 5	6 - 7	-	1 - 4	-	-	1 - 4	-	-
2012	3 - 5	-	-	1 - 5	6	-	1 - 5	7 - 12	-	2 - 5	-	-
2013	1 - 5	6	-	1 - 5	-	0,7	1 - 5	7	0,7	1 - 5	-	0,7
2014	1 - 5	6	0,7	1 - 5	12	-	1 - 5	6 - 7	0,8	1 - 5	6 - 7	0,7
2015	1 - 5	6	-	1 - 5	12	-	1 - 5	6 - 7	0,7	1 - 5	-	-

B= bote, L= lancha Ch= Chalana, -= negativo

Tabla 2. Zonas de pesca y capturas de *Odontesthes regia regia* “pejerrey” en Puerto Casma, Ancash (Perú), durante el periodo 2010 – 2015.

ZONAS DE PESCA	DESEMBARQUES (Kg)					
	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Batán / Perez	10	3619	13052	147	-	239
Batea	27	579	3473	5559	1771	2931
Bernardino	-	-	956	52460	93293	51893
Bocana del río	-	-	26	88	-	-
Cajero	895	3010	6578	4721	4915	2173
Campanario	475	-	25	25	-	-
El Faro	6241	-	1	-	-	3592
El Frío	967345	90625	9040	14	-	27023
El Arco/Gramita/Pta.Cruz	-	-	1480	50	-	55
El Huaro	7050	-	124505	9040	23610	21459
Escalería	8182	-	-	-	-	250
Isla Blanca	18869	134	3403	471	1678	1421
Isla Tortuga	-	-	-	-	200	4127
Islote la Viuda	-	475	-	400	-	-
La Fortuna	9	-	-	-	194	50
La Lobera / Lobería	211	21	8840	7885	949	3854
La Pampa	835	2391	1486	3687	23589	14623
Los Chivatos	-	-	458	7148	125	880
Mongon	950	125	63	1339	1275	749
Palo Parado		25	1625	781	18	-
Punta Gorda	30380	538	22833	9566	1725	2365
Punta Infiernillo	2025	1375	-	-	146	937
Punta Mongoncillo	-	-	2056	-	-	361
Punta Piños	1027	5	4636	72	-	646
Rincón Piños	28	-	15840	257	-	-
Salitre	113	-	-	-	-	-

DISCUSIÓN

En Puerto Casma, la pesquería artesanal está sustentada por una variedad de especies, de las cuales según IMARPE¹³ la especie más representativa en las capturas de recursos costeros fue la “lisa” con un volumen de extracción de 2340 toneladas, representando el 35,3 % del total capturado, seguido del “pejerrey” y “lorna” (1834 y 1430 toneladas), que representaron el 27,2 y 21,2 %, esto se observa durante el periodo de estudio donde El “pejerrey” estuvo presente y presentó desembarques significativos.

Las variaciones de los desembarques en el periodo 2010 – 2015 puede explicarse por los factores ambientales y por el uso de las redes de cerco, la cual al no ser selectiva captura los ejemplares sin tener en cuenta la talla mínima de captura de esta especie (16 cm). Veneros¹⁰ indica que la captura indiscriminada de las tallas más pequeñas de las especies, puede provocar una serie de consecuencias en la estructura de la población, lo cual se traducen en la disminución de la captura y por ende en los rendimientos pesqueros.

Las embarcaciones utilizadas en Puerto Casma fueron botes, lanchas y chalanas, de las cuales los botes son los más utilizados, seguidos de las lanchas y chalanas, que son las embarcaciones propias para esta actividad, según el Reglamento de la Ley General de Pesca, así mismo Wosnitza-Mendo³ indica que la pesca artesanal en el Perú, opera normalmente entre las 10 – 20 millas con embarcaciones no mayor de 30 TM de capacidad.

El número de tripulantes por embarcación fue mayor en las lanchas y botes y más en aquellos que utilizaron red de cerco para la captura, esto para poder operar la red, en las chalanas el número de tripulantes fue de 1 a 2 debido a que usaron solo redes cortina y además por el poco espacio en la embarcación, esto coincide con lo señalado por Terán¹¹ quien indica que para poder realizar una buena maniobra en una chalana se debe llevar como máximo dos tripulantes.

Algunas de las zonas de pesca más frecuentes de captura de esta especie coinciden con lo reportado con Berrú et, al. (2005) quienes reportan, además a Lobería, Infiernillo, Mongon, Tortugas y chivatos, lo que confirma que las zonas de pesca persisten a través del tiempo. En conclusión: (i) los desembarques de pejerrey tienen una tendencia a disminuir a partir del año 2011, (ii) la flota utilizada para la extracción de estuvo constituida por lanchas, botes y chalanas, (iii) las redes utilizadas en la captura fueron la red de cerco y cortina y (iv) las zonas de pesca más frecuentes y con mayor volumen de desembarques fueron el Frío, Punta Gorda, Batan, Bernardino, Isla Blanca, el Huaro, la pampa y Rincón Piños.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zapata E. Descripción y situación de las pesquerías artesanales en el Perú. Revista de la Comisión Permanente del Pacífico Sur N° 18 Bogotá-Colombia. 1989; pp.1-35
2. Bakun A, Weeks J. The marine ecosystem off Peru: What are the secrets of its fishery productivity and what might its future hold? Progress in Oceanography, 2008; 79(2-4): 290-299.
3. Wosnitza-Mendo C, Espino M, Veliz M. La Pesquería Artesanal en el Perú durante junio de 1986 a junio de 1998. Publicación N° 93. PROCOPA. IMARPE Callo-Perú. 1988
4. Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Anuario científico y tecnológico IMARPE. Enero-diciembre. Instituto del Mar del Perú, 2010; 10:1-205
5. Berrú P, Tresierra A, García V, Cervantes C, Domínguez N. Prospección bioceanográfica en el litoral de la Provincia de Casma: delimitación de zonas de pesca artesanal, bancos naturales de invertebrados y áreas propuestas para maricultura (22, 23, 24, 30 de junio; 01, 05-14 de julio del 2005). 2005. <https://epic.awi.de/28590/1/Ber2005g.pdf>.
6. Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Informe anual del seguimiento de la pesquería demersal-costera. Informe interno del Instituto del mar sede Huanchaco. 2010; p.24
7. Chirichigno N, Vélez J. Clave para identificar los peces marinos del Perú. 2da Edic. Publicación especial Inst. Mar. Perú. 1998.
8. Tresierra A, Culquichicon Z, Veneros B. Manual de Evaluación de los Recursos Pesqueros en la zona costera de la Región La Libertad, Perú. Trujillo, Perú: Edit. Nuevo Norte. 2014.
9. Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Diagnóstico de las poblaciones de los recursos pesqueros para el ordenamiento como base para su sostenibilidad y seguridad alimentaria. Evaluación Ejecutiva al I Semestre del 2013. 2013.
10. Veneros B. Caracterización de las bases biológicas-pesqueras para el manejo sustentable de los principales recursos que soportan la pesca artesanal. [Tesis Doctor]. Escuela de Posgrado. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2008.
11. Teran J. Pesquería artesanal de “lisa” *Mugil cephalus* en el puerto de Salaverry del 2004 al 2007. [Tesis de Biólogo Pesquero]. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2009.

Correspondencia: bvenero@unitru.edu.pe

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: cesarj75@hotmail.com