



Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas

REBIOL
REVISTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA



ISSN: 2313-3171 (En Línea)

Volumen: 39

Número: 1

Enero - Junio, 2019

BIBLIOTECAS Y REPOSITORIOS DIGITALES PARA LOS ESTUDIANTES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

La Universidad Nacional de Trujillo, como ente del saber ha implementado un sistema en línea donde el estudiante puede acceder a diferentes informaciones científicas, mediante sus bibliotecas y repositorios digitales. Al revisar las diferentes páginas encontramos el Registro Nacional de Trabajos de Investigación RENATI, perteneciente al SUNEDU, que sirve como fuente de información a nivel nacional e internacional, albergando las síntesis de las investigaciones (tesis, trabajos de suficiencia profesional, y trabajos académicos), que conducen a grados académicos, contribuyendo con ello a cumplir con el mandato de difundir su utilización en el ámbito académico. Tenemos también el Repositorio Institucional UNITRU, cuyo objetivo es facilitar y mejorar la visibilidad de la producción científica y académica de nuestra universidad, dentro de ellas la Facultad de Ciencias Biológicas (tesis de Ciencias Biológicas, Microbiología y Parasitología, Pesquería y Segunda Especialidad) permitiendo el acceso abierto a sus contenidos. Bibliotecas UNT catálogo online, donde con una sola palabra podrás obtener los códigos, títulos, autores, contenido de libros o tesis presentes en la biblioteca de las facultades que creas conveniente. El Repositorio Nacional Digital de Ciencia y Tecnología e Innovación, denominado ALICIA (Acceso Libre a la Información Científica) ofrece acceso abierto al patrimonio intelectual resultado de la producción en materia de ciencia, tecnología e innovación realizada en entidades del sector público y privado. Según datos proporcionados por el CONCYTEC, los documentos sobre ciencia y tecnología más consultados por el público, son los artículos, seguidos por las tesis de grado, tesis de maestría y los reportes. Institute of Physics (IOP) Science es una colección digital definitiva de trabajos publicados desde 1874, es un recurso indispensable para la comunidad científica y representa más de 130 años de investigación publicada. Esta colección ofrece el acceso perpetuo e inmediato a más de tres millones de páginas de contenido publicadas por el IOP. ScienceDirect contiene información fundamental hasta la investigación nueva y novedosa, que cubren una variedad de disciplinas desde las teóricas hasta las aplicadas, agrupadas en Ciencias Físicas e Ingenierías, Ciencias de la vida y la salud, Ciencias Sociales y Humanidades.

Además tenemos el Repositorio de Revistas Científicas de las diferentes facultades de nuestra universidad, entre ellas la Facultad de Ciencias Biológicas, destacando la revista REBIOL (Revista de Investigación Científica), donde se encuentra artículos científicos relacionados a diferentes campos de la Biología, la política de la revista es de acceso abierto a su contenido, basado en el principio de ofrecer al público un acceso libre a las investigaciones y ayuda a un mayor intercambio global del conocimiento.

Los editores

Foto de la portada: Nombre científico: *Telmatobius sp.* (Wiegmann, 1834). Nombre común: “rana de agua”. Familia Telmatobiidae. Lugar: Río Pollo – Otuzco (La Libertad). Foto tomada por Luis Enrique Pollack Velásquez.

REBIOL

Volumen N° 39, Número 1, Enero - Junio, 2019

ARTÍCULOS ORIGINALES/ORIGINAL PAPERS

- Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación in vitro de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche / **Effect of gibberellic acid and indoleacetic acid on the in-vitro micropropagation of *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche**..... 4
- Helechos epífitos en *Elaeis guineensis* "palma aceitera", en Shanusi y Tocache, San Martín, Perú/**Epiphytic ferns on *Elaeis guineensis* "oil palm", in Shanusi and Tocache, San Martín, Perú**..... 10
- Resistencia extrema al cobre por un consorcio bacteriano conformado por *Sulfobacillus spp.* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*/**Extreme resistance to copper by a microbial consortium formed from *Sulfobacillus spp.*, and *Acidithiobacillus ferrooxidans*** 18
- La pesca artesanal de *Isacia conceptionis* "cabinza", desembarcada en Puerto Casma, Ancash, 2010 – 2015/**Artisanal fishing of *Isacia conceptionis* "cabinza", landed at Casma Port, Ancash, 2010-2015** 31
- Contaminación parasítica de hortalizas de consumo humano expandidas en mercados de Trujillo, Perú/**Parasitic contamination of vegetables for human consumption sold in markets of Trujillo, Perú** .. 41

ARTÍCULOS DE OPINIÓN

- ¿Cuándo apareció el sistema nervioso? Enfoque evolutivo en metazoos no vertebrados/**When did the nervous system emerge? Evolutionary focus on non-vertebrate metazoans** 50

POLITICA EDITORIAL

- Guía para los autores 56

Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche

Effect of gibberellic acid and indoleacetic acid on the in-vitro micropropagation of *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche

*Eloy Lopéz- Medina¹; José Mostacero- León¹; Armando Efraín Gil- Rivero¹; Angélica Lopéz - Zavaleta¹; Anthony J. De La Cruz-Castillo¹

¹Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Papa y Cultivos Andinos, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II S/N; Ciudad Universitaria, Trujillo – Peru.

*Autor para correspondencia: slopezm@unitru.edu.pe

Recibido: 4 de Abril, 2019. Aceptado: 4 de Julio, 2019.

RESUMEN

La papa es un cultivo de origen andino de importancia nutricional y económica para los agricultores. La existencia de más de 5000 variedades ha catalogado al Perú como el centro de origen y de diversidad de la papa, tal es así que existen variedades específicas para un determinado uso culinario. Siendo Maria Reiche, una variedad óptima para el procesamiento que cuenta con un enorme potencial para las condiciones de costa. La biotecnología vegetal constituye una herramienta esencial para optimizar la producción a partir de un germoplasma *in vitro* libre de patógenos; ante la necesidad de conocer el efecto de diferentes fitorreguladores, se propuso determinar el efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche. La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos, donde se micropropagó entrenudos a partir de plantas madre de la variedad Maria Reiche. Para ver el efecto del ácido indolacético y ácido giberélico, se preparó medio de cultivo MS (1962) suplementado con diferentes concentraciones de estos fitorreguladores. Pasados 20 días se evaluó la altura de plántula, número de entrenudos y número de raíces. Al ser analizados estadísticamente no se encontró diferencias significativas, se concluye que *S. tuberosum* var. Maria Reiche, puede propagarse *in vitro* sin la necesidad de fitorreguladores.

Palabras claves: Ácido giberélico, ácido indolacético, micropropagación, *Solanum tuberosum*.

ABSTRACT

Potato is an Andean crop of nutritional and economic importance for farmers. The existence of more than 5000 varieties has cataloged Peru as the center of origin and diversity of the potato. So that there are specific varieties for a specific culinary use. Maria Reiche for example is an optimum variety for processing that has enormous potential for coastal conditions. Plant biotechnology is an essential tool to optimize the production of pathogen free in vitro germplasm; In view of the need to know the effect of different phytohormones, it was proposed how to determine the effect of gibberellic acid and indoleacetic acid on the in vitro micropropagation of *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche. The research was developed in the Biotechnology Laboratory of the Institute of the Potato and Andean Crops, where internodes from mother plants of the Maria Reiche variety were micropropagated. To see the effect of indoleacetic acid and gibberellic acid, MS culture medium (1962) supplemented with different concentrations of these phytohormones was prepared. After 20 days the plantlet height, number of internodes and roots were evaluated. When analyzed statistically, no significant differences were found, so that it can be concluded that *S. tuberosum* var. Maria Reiche, can spread in vitro without the need for phytohormones.

Keywords: Gibberellic acid; indoleacetic acid; micropropagation; *Solanum tuberosum*.

1. INTRODUCCIÓN

El Perú, con 28 de los 32 climas que tiene el mundo, es un escenario en el cual se ha dado un largo proceso de domesticación de especies vegetales y su evolución a través del tiempo, las condiciones en las cuales han ocurrido estos procesos han conllevado a que muchas de estas especies exhiban una alta plasticidad genética. Consecuencia de ello es una alta diversidad genética, distribuida en los diferentes pisos ecológicos. Siendo la papa un cultivo que cuenta con especies silvestres, nativas y mejoradas. Las más de 5000 variedades cultivadas por el poblador andino, constituyen ser la base de su seguridad alimentaria. Debido a que las denominadas “variedades nativas”, han sido catalogadas como alimentos nutraceuticos por la presencia de antioxidantes. Constituyendo ser un acervo genético invaluable, dada la necesidad de mejoramiento de la producción, productividad, calidad, resistencia a plagas y enfermedades, propiedades culinarias y potencial de adaptación al cambio climático (CIP & FEDECH, 2006; Mendoza & Mosquera, 2011; Diez *et al.*, 2013; Gil *et al* 2019).

En nuestro país, el cultivo de la papa abarca 19 departamentos, con una producción de 260,000 ha/año; cuyo consumo per cápita fue de 89 Kg en el 2017, proyectándose para el 2021 llegar a los 100 kg. (Ministerio de Agricultura, 2011; Agraria, 2019). De las 70 variedades modernas liberadas por Ministerio de agricultura e INIA, tanto para consumo en fresco como para procesamiento, las variedades para consumo fresco han tenido mayor difusión y por tanto mayor uso, siendo las variedades para procesamiento relativamente desconocidas, tal es el caso de las variedades Costanera, Desértica, Tacna, primavera, Reiche, entre otras. La variedad Reiche, está adaptada a condiciones de costa, tuberiza a temperaturas altas, su periodo vegetativo es de 90 días, su producción es de 30 toneladas por hectárea, soporta salinidad, es inmune a los virus PVX y PVY, presenta alto contenido de materia seca, bajo contenido de azúcares reductores, lo cual facilita las labores culinarias al consumir una baja cantidad de aceite en la fritura y al no quemarse (Vásquez, 2003).

Una buena producción de papa, tanto en cantidad como en calidad, está en función de los tubérculos-semillas utilizados. Los cuales deben poseer buenas condiciones genéticas, físicas, fisiológicas y sanitarias. El sistema Biotecnológico, en sus fases de laboratorio, invernadero y campo, garantizan que los tubérculos semillas producidos tengan las características deseadas. A nivel de laboratorio, la micropropagación de un buen material es indispensable, entendiéndose por micropropagación, como el conjunto de técnicas que buscan producir masivamente plántulas *in vitro* bajo condiciones asépticas y con el manejo de los factores ambientales. El medio de cultivo Murashige y Skoog (1962), es el medio en el cual responden la mayoría de especies cultivadas *in vitro*. Haciéndose uso de fitohormonas y/o reguladores de crecimiento, los cuales estimulan, inhiben, retardan o regulan cualquier proceso fisiológico en las plantas; clasificándose en auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscisico y etileno (Kessel, 2008; Abdelnour & Vincent, 1994; Beltrán & Roca, 1984).

El ácido indolacético (AIA), es una auxina que promueve el alargamiento celular al actuar sobre las paredes celulares, al mismo tiempo estimula la división celular a concentraciones muy bajas. Mientras que el ácido giberélico (AG3), es una giberelina que está relacionado con el alargamiento de los entrenudos y el crecimiento de plantas. Siendo importante considerar que la actividad de las fitohormonas puede acelerarse (sinergismo) o retardarse (antagonismo) al ser añadida independiente o complementaria con otras fitohormonas (Salisbury & Ross, 1984; Ortega, 2000; Rojas *et al.*, 2004; Su *et al.*, 2011; Curtis *et al.*, 2008; Campbell *et. al*, 2001).

Ante la necesidad de obtener masivamente plántulas *in vitro*, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo de investigación determinar el efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la propagación *in vitro* por nudos de *Solanum tuberosum* var Reiche .

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El material biológico estuvo constituido por plántulas *in vitro* de *S. tuberosum* L. Var. Reiche, procedente del banco de germoplasma del Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos (IPACA), de la Universidad Nacional de Trujillo. Se utilizó el medio basal de MS (1962), suplementado con sacarosa al 3%, agar 0.8% y diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (Tabla 1). Los medios fueron preparados de acuerdo a los tratamientos en tubos de ensayo. Una vez tapados con papel platino, se llevaron a esterilizar en autoclave a 120°C y a 1 atm de presión por 20 minutos. La siembra se realizó en la cámara aséptica, previa esterilización del ambiente, utensilios y materiales adjuntos. Luego se procedió a sembrar los nudos en sus respectivos medios de cultivo. Para finalmente transportarlos al cuarto de

incubación, con un fotoperiodo de 16-8 horas luz oscuridad, 18 °C de temperatura y humedad relativa de 85%.

Se empleó un diseño completamente aleatorizado, con 9 tratamientos y 7 repeticiones por tratamiento. La evaluación se realizó a los 20 días, tomando como parámetros la altura de plantas, número de nudos y número de raíces. Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza.

3. RESULTADOS

Tabla 1. Medio de cultivo MS 1962 suplementado con diferentes concentraciones de fitohormonas para evaluar el efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación *in vitro* de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche, durante 20 días.

Tratamiento	AG3(ppm)	AIA(ppm)
1	0	0
2	0	0.1
3	0	0.25
4	0.25	0
5	0.25	0.1
6	0.25	0.25
7	0.5	0
8	0.5	0.1
9	0.5	0.25

La tabla 2, resume los resultados promedios de los parámetros altura de plántula, número de nudos y número de raíces en la micropropagación por nudos de *S. tuberosum* L. var. Maria Reiche, empleando diferentes concentraciones de ácido giberélico y del ácido indolacético. Pudiéndose resaltar que el tratamiento 7 destaca por presentar mayor resultados en los parámetros evaluados. Por otro lado la Figura 1, ilustra las plántulas *in vitro* a los 20 días de evaluación. Mientras que la Figura 2, ilustra diferentes gráficos de cajas, observándose cierta variabilidad en los resultados promedios evaluados de *S. tuberosum* var. Maria Reiche.

Tabla 2. Promedio de los tratamientos de las combinaciones del ácido giberélico y del ácido indolacético en los parámetros: Altura de plántula, número de nudos y número de raíces en la micropropagación por nudos de *Solanum tuberosum* L. var. Maria Reiche.

Tratamiento	Altura	Número nudos	Número de raíces
1	0.971	2.710	1.429
2	0.457	1.286	2.000
3	1.571	3.000	2.286
4	1.086	3.286	1.000
5	1.443	2.860	1.714
6	2.100	4.143	3.000
7	2.614	5.571	2.143
8	1.143	2.710	1.429
9	0.857	1.857	0.429

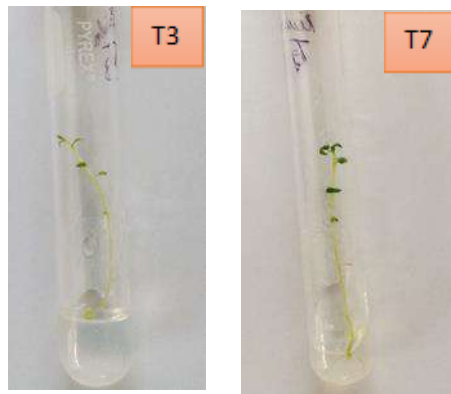


Figura 1. Plántulas *in vitro* a los 20 días, obtenidas en tratamientos resultantes de las combinaciones del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación por nudos de *Solanum tuberosum* L. var. Maria Reiche.

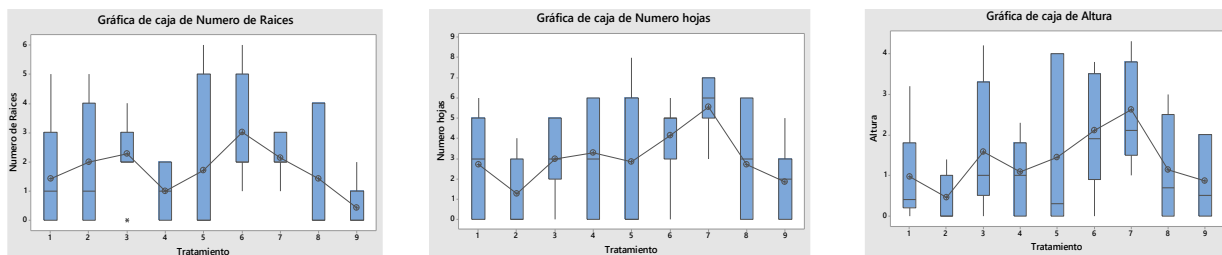


Figura 2. Gráfico de cajas, para demostrar el efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético para altura de plántula, número de nudos y número de raíces en la micropropagación por nudos de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche.

4. DISCUSIÓN

La micropropagación es una técnica de propagación clonal, para la generación de una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas (Castillo, 2004). Respecto al parámetro altura de plántula de *S. tuberosum* L. var. María Reiche (Tabla 2), el tratamiento 7, constituido por 0.5 ppm de AG₃ manifestó una mayor altura promedio. Al hacer una comparación de medias con el método LSD de Fisher (Figura 2), se llegó a la conclusión de que al menos un par de medias son distintas para el factor altura de plántula. Sin embargo todos los tratamientos al ser analizados estadísticamente, según el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas, debido a que el valor-P, fue mayor que 0,05; con un nivel confianza del 95,0%. De ello se infiere que a las concentraciones empleadas, el efecto del ácido indolacético como promotor del crecimiento celular y del ácido giberélico como promotor del crecimiento de plántulas intactas y alargamiento de entrenudos son relativamente muy débiles (Figura 1 y 2), debido probablemente al fenómeno de habituación o a la intromisión de fitohormonas, sintetizados de manera natural por las plántulas *in vitro* de *S. tuberosum* L. var. María Reiche (Salisbury & Ross, 1984; López *et al.*, 2017). Investigaciones de Araque *et al.*, 2018, corroboran los resultados obtenidos al concluir que para la micropropagación de *S. tuberosum* L., el empleo de medio de cultivo MS + 0,02 mg L⁻¹ de ANA y MS sin reguladores es adecuado en la producción de brotes de apariencia uniforme, vigorosos, de mayor grosor y longitud promedio, debido a que el cultivo *in vitro* de *S. tuberosum* L., no es exigente de fitohormonas y fitorreguladores. De la misma manera López, 2012, afirma que para la micropropagación *in vitro* de variedades nativas de *S. tuberosum* L., basta el medio de cultivo MS (1962), suplementado con ácido giberélico a la concentración de 0,25 ppm (López, 2012). Por otro lado García *et al.*, 2015, afirma que para la micropropagación de *S. tuberosum* L. basta medio de cultivo MS (1962), suplementado con 100 mg l⁻¹ de mio-inositol. Además de demostrar la existencia de diferentes repuestas de los explantes, en relación al factor altura dependiendo del genotipo de la variedad. Sin embargo Tacoronte *et al.*, 2017, afirma que al

aumentar las concentraciones de nitrato de amonio a 1,98 g L⁻¹, nitrato de potasio 2,28 g L⁻¹ y disminuir la sacarosa a 20 g L⁻¹, se alcanza una longitud superior a los 5,82 cm.

Referente al número de nudos y número de raíces (Tabla 2 y Figura 1), el tratamiento 7, constituido por 0.5 ppm de AG₃, manifestó un mayor número de nudos; mientras que el tratamiento 6, constituido por 0.25 ppm de AG₃ y 0.25 ppm de AIA, manifestó un mayor número de raíces. Todos los tratamientos al ser analizados estadísticamente, según el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas, debido a que el valor-P, fue mayor que 0,05; con un nivel confianza del 95,0%. Sin embargo al hacer una comparación de medias con el método LSD de Fisher, se llegó a la conclusión de que al menos un par de medias son distintas para el factor número de nudos y número de raíces, lo cual se ve representado en el gráfico de Cajas (Figura 2). Es importante considerar que investigaciones han demostrado que un mejor desarrollo radical se obtienen al emplear 0.05 mg L⁻¹ de AIB. Ya que el ácido indolbutírico (AIB) es catalogado como el enraizante por excelencia en biotecnología vegetal (Araque *et al.*, 2018). Sin embargo, en la actualidad se ha demostrado que cultivos líquidos y los Sistemas de Inmersión Temporal permiten obtener mayor calidad de plántulas de *S. tuberosum* L., el cual está vinculado a los factores altura, número de entrenudos y raíces (Igarza, 2012).

5. CONCLUSIONES

Se concluye que el efecto del ácido giberélico y el ácido indolacético es relativamente débil en la micropropagación de *S. tuberosum* var. Maria Reiche, pudiendo propagarse *in vitro* sin la necesidad de estos fitoreguladores.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ábdelnour, E., & Vincent, E. 1994. Conceptos básicos del cultivo de tejidos vegetales. Costa Rica: CATIE S.A. 38 pp.
2. Agraria. (2019). Agencia Agraria de Noticias. Disponible en: <http://agraria.pe/>
3. Araque, E., Bohórquez, M., Pacheco, J., Correa, L., Urquijo, J., Castañeda, S., Pacheco, J. (2018).
4. ropagación y tuberización in vitro de dos variedades de papa. Ciencia en Desarrollo, 9(1), 21-31.
5. Beltrán, J. & Roca, W. 1984. EL cultivo de meristemas para la conservación de germoplasma de yuca in vitro. Colombia: CIAT. 41pp.
6. Campbell, N., Mitchel, L. & Reece, J. 2001. Biología: Conceptos y relaciones. (3era ed.). México: Ed. Pearson Educación. 809 pp.
7. Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Las Brujas, Uruguay: AR-VITRO, INIA. 8 pp.
8. CIP & FEDECH. (2006). Catálogo de variedades de papa nativa de Huancavelica-Perú. 1era ed. Lima-Perú: Editorial Metrocolor S.A. 208 pp.
9. Curtis, H., Barnes, N., Schnek, A. & Massarini, A. 2008. Biología. (7ma ed.). España: Ed. Médica Panamericana. 1160 pp.
10. Diez, C., López, E., Zavaleta, C., Rodríguez, M. & Huayanay, J. (2013). Cuantificación de los principios anticancerígenos de la variedad de papa nativa de pulpa de color de la región La Libertad con el fin de procesamiento industrial. Pueblo continente, 24(2), 425-431.
11. García, L., Rodríguez, M., La, M., Pérez, M., Alvarado, Y., De Fera, M., Veitía, N., Miraba, D., Castillo, J. (2015). Propagación in vitro de variedades cubanas de *Solanum tuberosum* L. 'Yuya', 'Marinca', 'Grettel' e 'Ibis'. Biotecnología Vegetal, 15(2): 75 - 83.
12. Gil, E., López, E., Mostacero, J. & De la Cruz, J. (2019). Papas nativas con potencial antioxidante, cultivadas en el norte del Perú. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 18 (3), 289-324.
13. Igarza, J., Agramonte, D., Alvarado, Y., de Fera, M. & Pugh .T. (2012) Empleo de métodos biotecnológicos para la producción de semilla de papa. Biotecnología vegetal, 12 (1): 3-24.

14. Kessel, A. 2008. Aplicación de técnicas biotecnológicas en frutales, una vía valiosa para el rescate y la conservación de estas especies. *Cultivos Tropicales*, 29(3): 27-37.
15. López, S. 2012. In vitro conservation of germplasm of native potato of color-pulp from Region La Libertad, Perú. *REBIOL*, 1(32):11- 15.
16. López, S., López, A. & De la Cruz, J. (2017). Efecto del ácido giberélico en la propagación in vitro de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, "estevia". *Arnaldoa*, 24 (2): 599- 608.
17. Mendoza, H & V. Mosquera. (2011) Selección de variedades de papa. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/308786084_Seleccion_de_Variedades_de_Papa
18. Ministerio de Agricultura. (2011). La papa nuestra de cada día. Lima, Perú: Editorial MINAGRI. 13 pp.
19. Vásquez, E. 2003. Influencia de los Factores Ambientales en la Predicción del Comportamiento de los Clones de Papa para la Costa del Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. Tesis ingeniero Agrónomo. 102 pp.
20. Ortega, C. 2000. Evaluación de fitohormonas y abonos foliares para mejorar el amarre de frutos de tomate en árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt) cultivar punto amarillo. Tababela-Pichincha. Tesis ingeniero agrónomo. Universidad central del Ecuador.
21. Rojas, S., García, J. & Alarcón, M. 2004. Propagación asexual de plantas. Colombia: Ed. Corpoica. 55 pp.
22. Salisbury, F. & C. Ross. 1984. *Plant Physiology*. Third edition. Wadsworth publishing company. California. U.S.A
23. Su, Y., Liu, Y. & Zhang, X. 2011. Auxin– Cytokinin Interaction Regulates Meristem Development. *Molecular Plant* 4(4): 616–625.
24. Tacoronte, M., Vielma, M., Olivo, A., Chacín, N. (2017). Efectos de nitratos y sacarosa en la propagación in vitro de tres variedades de papa nativa. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2): 63-73

Artículo Original

Helechos epífitos en *Elaeis guineensis* “palma aceitera”, en Shanusi y Tocache, San Martín, Perú

Epiphytic ferns on *Elaeis guineensis* "oil palm", in Shanusi and Tocache, San Martín, Perú

*Freddy Pelaez¹, Jorge Torres², William Zelada¹, Homan Castillo¹ & Narda Alarcón¹

¹ Universidad Nacional de Trujillo, ² Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto

*Autor para correspondencia: fpelaez@unitru.edu.pe

Recibido: 31 de Enero, 2019. Aceptado: 15 de Julio, 2019.

RESUMEN

Con el objetivo de registrar las especies de helechos epífitos en *Elaeis guineensis* “palma aceitera”, un cultivo industrial de importancia en la amazonía peruana, se evaluaron dos zonas en la región San Martín, (valle de Shanusi y Tocache), lugares con amplios campos de *E. guineensis*; se registraron 7 familias y 14 especies, 12 de ellas en Shanusi y ocho en Tocache; en las dos zonas se presentan seis: *Pityrogramma calomelanos*, *Asplenium serratum*, *Christella grandis*, *Nephrolepis biserrata*, *Cyclopeltis semicordata* y *Phlebodium decumanum*, sólo en Shanusi hay seis: *Polytaeniun guayanense*, *Pteris biaurita* *Christella* sp., *Thelypteris* sp. *Campyloneurum phyllitidis* y *Microgramma* sp., y en Tocache solo se registran a *Cheiroglossa palmata* y *Vittaria lineata*. Se concluye que hay poca riqueza de especies epífitas las que tienen una amplia distribución, tanto latitudinal como altitudinal.

Palabras clave: *Elaeis guineensis*, Helechos epífitos, San Martín, palma aceitera

ABSTRACT

With the aim to register the species of epiphytic ferns in *Elaeis guineensis* "oil palm", an important industrial crop in the Peruvian Amazon, two zones were evaluated in the San Martín region (Shanusi Valley and Tocache), places with wide fields of *E. guineensis*; 7 families and 14 species were recorded, 12 of them in Shanusi and eight in Tocache; in the two zones there are six: *Pityrogramma calomelanos*, *Asplenium serratum*, *Christella grandis*, *Nephrolepis biserrata*, *Cyclopeltis semicordata* and *Phlebodium decumanum*, only in Shanusi there are six: *Polytaeniun guayanense*, *Pteris biaurita* *Christella* sp., *Thelypteris* sp. *Campyloneurum phyllitidis* and *Microgramma* sp., and in Tocache only *Cheiroglossa palmata* and *Vittaria lineata* are registered. It is concluded that there is little richness of epiphytic species that have a wide distribution, both latitudinal and altitudinal.

Keywords: *Elaeis guineensis*, epiphytic ferns, San Martín, oil palm

1. INTRODUCCION

Los helechos son plantas vasculares que producen esporas y presentan una alternancia de generaciones con gametofitos y esporofitos de vida libre. (Christenhusz & Chase, 2014). Los helechos son alrededor de 10 500 especies, (PPG I, 2016; Smith *et al.*, 2006; Tryon & Stolze, 1989a); se distribuyen en los ecosistemas tropicales, subtropicales, temperados y boreales. Son colonizadores de paisajes disturbados y también están dispersos entre las rocas de desiertos semiáridos, sabanas, costas y altas montañas alpinas, donde resisten la sequía, fuego y bajas temperaturas. (Sharpe, Mehlreter & Walker, 2010; Christenhusz, Zhang, & Schneider, 2011).

Los helechos son especialmente diversos y abundan en hábitats húmedos con temperaturas moderadas en elevaciones de 1000 a 2500 m. (Kessler, 2010). En los bosques tropicales húmedos, se encuentran alrededor del 65% de las especies de helechos, pero muchas especies también están en hábitats propensos a la sequía, ya sea en ecosistemas (semi) áridos o en lugares con suministro de agua discontinuo dentro de ecosistemas por lo demás húmedos. Estas ubicaciones incluyen ramas de árboles y rocas, ambos sustratos con poca capacidad de almacenamiento de agua (Hietz, 2010).

En Sudamérica se estima entre 3 000 y 3 500 las especies de helechos y licofitas (Almeida & Salino, 2016; Morán, 2008; Tryon & Tryon, 1982). En Perú se reportan 1 200 especies (Kessler & Smith, 2017; Smith *et al.*, 2005), las cuales se distribuyen principalmente en áreas de bosques montanos lluviosos o nublados, ecosistemas presentes en los departamentos de Amazonas, San Martín, Huánuco, Junín, Pasco, Cusco, (Tryon, Stolze, & Hickey, 1994). San Martín es la región de mayor riqueza con 611 especies, (Peláez *et al.*, 2010).

La Amazonía tiene el bosque húmedo tropical más grande del planeta, con un área de casi seis millones de km², (RAISG, 2015), en Perú son 730 mil km² de bosques. Los beneficios que generan los bosques en términos de servicios ecosistémicos y biodiversidad son numerosos y sirven de base productiva y de medios de vida a parte importante de la población. Sin embargo, esta riqueza natural además de subvalorada, cada día se ve disminuida por procesos de deforestación y degradación, en parte debido a la instalación de cultivos permanentes como “café” y “cacao”. A partir de 2007 se constata una mayor expansión de la deforestación vinculadas a cultivos industriales de “palma aceitera” principalmente y de “cacao” en la regiones de San Martín, Loreto y Ucayali (GIZ, 2016; Defensoria del Pueblo, 2017).

La “palma aceitera” (*Elaeis guineensis*), es el cultivo oleaginoso más productivo y rentable, la principal zona de producción mundial es el Sudeste Asiático, pero debido al aumento de la demanda del aceite y a la escasez de tierras en esta región está provocando que la industria busque otras zonas para expandirse, algo que está ocurriendo con rapidez en África y América Latina. La Amazonía reúne condiciones biofísicas adecuadas para el cultivo de la palma. En el caso del Perú, ya se registran inversiones de empresas asociadas con plantaciones en Malasia y tiene la mayor superficie destinada al cultivo en la Amazonía con un crecimiento acelerado (Dammert, 2014).

Las plantaciones de *Elaeis guineensis* se consideran agroecosistemas complejos y heterogéneos relacionados, integrados por el cultivo y la flórua asociada; en ésta última predominan las plantas terrestres además de epífitas y parásitas (Fariñas *et al.*, 2011). La flora epífita en general y los helechos en particular, encuentran en el estípite de *E. guineensis*, un lugar adecuado para su desarrollo, debido a que la base de los peciolos acumulan material necesario para su establecimiento (Sofiyanti, 2013).

Algunos trabajos sobre helechos epífitos en *E. guineensis* indican la presencia de seis familias y 16 especies en Indonesia (Sofiyanti, 2013), cinco familias y cinco especies en Venezuela (Fariñas *et al.*, 2011), tres familias y cuatro especies en Nigeria (Adeleye, Akinsoji, & Adeonipekun, 2017), no existiendo trabajos relacionados a estas plantaciones en Perú. Por lo cual el objetivo planteado es reportar las especies epífitas de helechos en plantaciones de *E. guineensis* “palma aceitera” departamento de San Martín y su distribución geográfica.

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. AREA DE ESTUDIO

Las plantaciones de *E. guineensis* “palma aceitera”, están ubicadas en el valle Shanusi (a 65 Km al este de la ciudad de Tarapoto) y en la Provincia de Tocache (Tabla 1).

2.2. TOMA DE DATOS

Los helechos epífitos del estípite de *Elaeis guineensis* se colectaron en dos muestreos realizados en junio y octubre del 2016. Para lo cual, se hizo un muestreo cualitativo, en 10 palmeras por parcela, evaluando un

total de 30 estípites, los mismos que se eligieron tomando en cuenta la accesibilidad y la cantidad de epífitos; así mismo, se hizo un registro fotográfico con una cámara Canon SX60HS, de cada una de las especies encontradas.

2.3. COLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE HELECHOS

Se registraron las especies presentes, cuando fue necesario, para la determinación de las especies, se colectaron ejemplares fértiles y se anotaron las características más saltantes (tamaño aproximado, color de los soros, rizoma, escamas, etc.). Se hizo el registro fotográfico.

2.4. DETERMINACIÓN DE LAS ESPECIES DE HELECHOS

Con la bibliografía especializada de la flora peruana (Tryon & Stolze, 1989a, 1989b, 1991; Tryon et al., 1994; Tryon, Stolze, & León, 1993), la misma que sirvió para ver la distribución geográfica; asimismo trabajos de Brasil (Prado, Hirai, & Moran, 2017), y comparación de las muestras colectadas con ejemplares depositados en el Herbarium Truxillense (HUT).

También se utilizó como consulta, páginas web especializadas como Flora do Brasil 2020 (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br>); Trópicos (<http://www.tropicos.org/>).

El arreglo de Familias y Géneros fue de acuerdo a la propuesta de Clasificación de licofitos y helechos existentes, (PPGI, 2016).

Tabla 1. Georreferenciación de las zonas de muestreo de helechos epífitos en *Elaeis guineensis*, “palma aceitera” 2016. (Coordenadas UTM)

Denominación	Altitud (msnm)	S	E
Shanusi 1	179	9323144	0370127
Tocache 1	501	9078152	0342353

3. RESULTADOS

Se reportan siete familias, 13 géneros y 14 especies de helechos en las 2 zonas de muestreo de San Martín (Tabla 2); las familias con mayor número de géneros y especies son Pteridaceae con cuatro géneros y cuatro especies y Polypodiaceae con y tres géneros y tres especies.

En la tabla 3, se presentan la relación de especies de helechos epífitos y su ubicación geográfica en las dos zonas de muestreo, en la zona de Shanusi, se encontraron 12 especies y en Tocache nueve.

En la tabla 4. Se presenta la distribución geográfica en Perú (departamentos) de helechos epífitos de *Elaeis guineensis* presentes en la zona de estudio, donde se puede ver que todas ocurren en más de un departamento, y con altitudes que van hasta los 2500 msnm.

Tabla 2. Relación de Familias y número de Géneros y Especies de Helechos Epífitos en *Elaeis guineensis* “palma aceitera”, en Shanuzi y Tocache, 2016.

FAMILIAS	GÉNEROS	ESPECIES
OPHIOGLOSSACEAE	1	1
PTERIDACEAE	4	4
ASPLENIACEAE	1	1
THELYPTERIDACEAE	2	3
NEPHROLEPIDACEAE	1	1
LOMARIOPSIDACEAE	1	1
POLYPODIACEAE	3	3
8	13	14

Tabla 3. Familias y Especies de helechos epífitos en *Elaeis guineensis* “palma aceitera” en Shanusi y Tocache, 2016

FAMILIA	ESPECIE	UBICACIÓN	
		SHANUSI	TOCACHE
OPHIOGLOSSACEAE	<i>Cheiroglossa palmata</i> (L.) C.Presl		X
PTERIDACEAE	<i>Pityrogramma calomelanos</i> (L.) Link	X	X
	<i>Polytaeniun guayanense</i> (Hieron.) Alston	X	
	<i>Pteris biaurita</i> L.	X	
	<i>Vittaria lineata</i> (L.) Sm.		X
ASPENIACEAE	<i>Asplenium serratum</i> L.	X	X
THELYPTERIDACEAE	<i>Christella grandis</i> (A.R. Sm.) A.R. Sm.	X	X
	<i>Christella</i> sp.	X	
	<i>Thelypteris</i> sp.	X	
NEPHROLEPIDACEAE	<i>Nephrolepis biserrata</i> (Sw.) Schott	X	X
LOMARIOPSIDACEAE	<i>Cyclopeltis semicordata</i> (Sw.) J.Sm.	X	X
POLYPODIACEAE	<i>Campyloneurum phyllitidis</i> (L.) C.Presl	X	
	<i>Microgramma</i> sp.	X	
	<i>Phlebodium decumanum</i> (Willd.) J. Sm.	X	X
		12	8

4. DISCUSIÓN

En términos generales, las formas epífitas conforman entre el 25 y 29% de las especies en el mundo y después de las Orchidaceae y Bromeliaceae, los helechos es el grupo de plantas vasculares en donde se concentra la mayor riqueza de taxa epífitas (Mendoza-Ruiz, Ceja-Romero, & Pérez-García, 2016); creciendo no sólo sobre forofitos silvestres, si no, que han logrado adaptarse a vivir sobre especies cultivadas, como *Elaeis guineensis*, una palmera cuya base del peciolo acumula material necesario para su establecimiento (Sofiyanti, 2013).

La Amazonía peruana reúne condiciones biofísicas adecuadas para el cultivo de la palma, contando con grandes superficies de cultivo de “palma aceitera”, resaltando Shanusi y Tocache (Dammert, 2014). Es estas áreas se han encontrado 14 especies de helechos epífitos, 12 de ellas en el área de Shanusi y ocho en Tocache; coincidiendo las especies de *Pityrogramma calomelanos*, *Asplenium serratum*, *Christella grandis*, *Cyclopeltis semicordata*, *Nephrolepis biserrata* y *Phlebodium decumanum*. Por otro lado, *Polytaeniun guayanense*, *Pteris biaurita*, *Christella* sp., *Thelypteris* sp. *Campyloneurum phyllitidis* y *Microgramma* sp., se reportan sólo para Shanusi, mientras en Tocache se registró a *Cheiroglossa palmata* y *Vittaria lineata*.

Según, Pteridophyta of Peru (Tryon & Stolze, 1989b, 1991, 1992, Tryon et al., 1994, 1993), todas las especies encontradas, tienen amplia distribución geográfica, en lo que respecta a los departamentos de Perú, y un rango altitudinal, que va desde los 100 a 2500 m.s.n.m., aunque la mayoría habitan por debajo de los 2000 m.s.n.m., y solo *Campyloneurum phyllitidis*, *Cheiroglossa palmata*, *Pityrogramma calomelanos* y *Vittaria lineata*, habitan por encima de esa altitud. Esto indica, que las especies reportadas no son específicas para éste cultivo, habiéndose adaptado a éste.

En cuando a la riqueza específica encontrada, es baja, pero mayor que las cinco especies reportadas en Venezuela (Fariñas et al., 2011) y a las cuatro especies registradas en Nigeria (Adeleye et al., 2017); dentro de las cuales está *Nephrolepis biserrata*, reportada para nuestra zona de estudio, que también ha sido registrada en Indonesia dentro de las 16 especies (Sofiyanti, 2013). No obstante, es evidente que cuando los

hábitats naturales son convertidos a plantaciones ocurre una, reducción de la biodiversidad nativa, incluyendo la riqueza de especies, hasta en 60% (Dirzo *et al.*, 2014).

5. CONCLUSIONES

La evaluación de helechos epífitos de *Elaeis guineensis* en el valle de Shanusi y Tocache (San Martín) permite concluir que:

- El valle de Shanusi, alberga una mayor riqueza específica comparada con Tocache, aunque en general es baja la riqueza.
- Las especies tienen una amplia distribución latitudinal como altitudinal.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adeleye, M., Akinsoji, A., & Adeonipekun, P. (2017). A survey of vascular epiphytes of oil palms (*Elaeis guineensis* jacq.) in lekki conservation centre, lagos, nigeria. *Trends in Science & Technology Journal*, 2(1A), 74–78.
2. Almeida, T. E., & Salino, A. (2016). State of the art and perspectives on neotropical fern and lycophyte systematics. *Journal of Systematics and Evolution*, 54(6), 679–690. <https://doi.org/10.1111/jse.12223>.
3. Christenhusz, M. J. M., & Chase, M. W. (2014). Trends and concepts in fern classification. *Annals of Botany*, 113(4), 571–594. <https://doi.org/10.1093/aob/mct299>
4. Christenhusz, M. J. M., Zhang, X. C., & Schneider, H. (2011). A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. *Phytotaxa*, 19, 7–54. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.19.1.2>
5. Dammert, J. L. (2014). Cambio de uso de suelos por agricultura a gran escala en la amazonía andina: el caso de la palma aceitera. (USAID, Ed.). Lima: Negrapata SAC.
6. Defensoria del Pueblo. (2017). Deforestación por cultivos agroindustriales de palma aceitera y cacao: Entre la ilegalidad y la ineficacia del Estado. (Defensoria del Pueblo, Ed.). Lima: Negrapata SAC.
7. Dirzo, R., Broadbent, E. N., Zambrano, M. A., Picado, A., Moraga, M., & García, D. (2014). Biodiversidad en las Plantaciones de Palma Aceitera de la Región Osa-Golfito. (Stanford Woods, Ed.), Iniciativa INOGO (Vol. Julio). San José.
8. Fariñas, J., Vásquez, M., Cumana, L. J., Barrios, R., Leonett, L., Rodríguez, G., & Mark, D. (2011). Flórua de plantaciones de palma aceitera establecidas en el estado Monagas, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*, 11(1), 71–82.
9. GIZ. (2016). Cambio de uso actual de la tierra en la Amazonía peruana (Doc.Trabaj). Lima: Proambiente.
10. Hietz, P. (2010). Fern adaptations to xeric environments. In K. Mehlreter, L. R. Walker, & J. M. Sharpe (Eds.), *Fern Ecology* (pp. 140–176). New York: Cambridge University Press.
11. Kessler, M. (2010). Biogeography of Ferns. In K. Mehlreter, L. R. Walker, & J. M. Sharpe (Eds.), *Fern Ecology* (pp. 22–60). New York: Cambridge University Press.
12. Kessler, M., & Smith, A. R. (2017). Prodrómus of a fern flora for Bolivia. I. General introduction and key to families. *Phytotaxa*, 327(1), 57–89.
13. Mendoza-Ruiz, A., Ceja-Romero, J., & Pérez-García, B. (2016). Helechos Y Licofitos Epífitos De Veracruz, México: Riqueza Y Distribución. *Acta Botanica Mexicana*, 114, 87–136.
14. Moran, R.C. (2008). Diversity, Biogeography, and Floristics. In T. A. Ranker, & C. H. Hafler (Eds.), *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes* (pp. 201–221). New York: Cambridge University Press. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511541827.015>
15. Peláez, F., Alarcón, N., Vergara, S., & Torres, J. (2010). Nuevos registros de Pteridophyta en la región San Martín-Perú. *Sciéndo*, 13(2), 28–34. Retrieved from <http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/SCIENDO/article/viewFile/326/304>
16. PPG, I. (2016). A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of Systematics and Evolution*, 54(6), 563–603. <https://doi.org/10.1111/jse.12229>
17. Prado, J., Hirai, R. Y., Moran, R. C., New, T., & Botanical, Y. (2017). Fern and lycophyte flora of Acre state, Brazil Jefferson. *Biota Neotropica*, 17(4), 1–59.
18. RAISG. (2015). DEFORESTACIÓN en la AMAZONÍA (1970-2013). 48 págs. (www.raisg.socioambiental.org)
19. Sharpe, J.; Mehlreter, K.; & Walker L., (2010). Ecological importance of ferns. In K. Mehlreter, L. R. Walker, & J. M. Sharpe (Eds.), *Fern Ecology* (pp. 1–21). New York: Cambridge University Press.

20. Smith, A. R., León, B., Tuomisto, H., van der Werff, H., Moran, R. C., Lehnert, M., & Kessler, M. (2005). New Records of Pteridophytes for the Flora of Peru. *Sida*, 21(4), 2321–2342. <https://doi.org/10.2307/41968530>
21. Smith, A. R., Pryer, K. M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H., & Wolf, P. G. (2006). A classification for extant ferns. *Taxon*, 55(3), 705–731. <https://doi.org/10.2307/25065646>
22. Sofiyanti, N. (2013). The diversity of epiphytic fern on the oil palm tree (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Pekanbaru, Riau. *Jurnal Biologi*, 17(2), 51–55.
23. Tryon, R.M. and Tryon, A.F. (1982). *Ferns and Allied Plants. With Special Reference to Tropical America.* Springer, New York.
24. Tryon, R., & Stolze, R. (1989a). Pteridophyta of Peru Part I. 1. Ophioglossaceae-12. Cyatheaceae. *Fieldiana Botany New Series*, 20, 145.
25. Tryon, R., & Stolze, R. (1989b). Pteridophyta of Peru Part II. 13. Pteridaceae-15. Dennstaedtiaceae. *Fieldiana Botany New Series*, 22, 128.
26. Tryon, R., & Stolze, R. (1991). Pteridophyta of Peru Part IV. 17. Dryopteridaceae. *Fieldiana Botany New Series* 27, 176.
27. Tryon, R., & Stolze, R. (1992). Pteridophyta of Peru Part III. 16 Thelypteridaceae. *Fieldiana Botany New Series*, 29, 80.
28. Tryon, R., Stolze, R., & Hickey, J. (1994). Pteridophyta of Peru Part VI 22. Marsileaceae-28. Isoetaceae. *Fieldiana Botany New Series*, 34, 136.
29. Tryon, R., Stolze, R., & León, B. (1993). Pteridophyta of Peru Part V. 18. Aspleniaceae-21. Polypodiaceae. *Fieldiana Botany New Series*, 32, 190.

ANEXOS



Elaeis guineensis
Con epífitos

Cheiroglossa palmata
OPHIOGLOSSACEAE

Pityrogramma calomelanos
PTERIDACEAE

Pityrogramma calomelanos
PTERIDACEAE

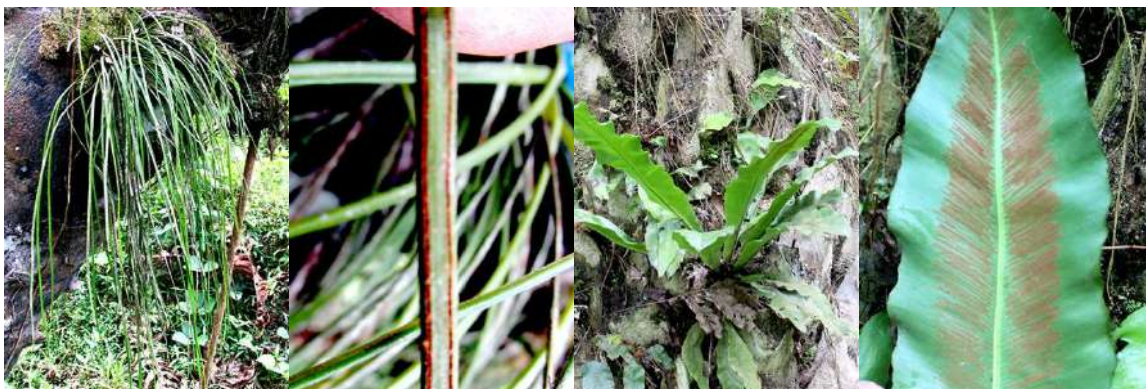


Polytaenium guayanense
PTERIDACEAE

Polytaenium guayanense
PTERIDACEAE

Pteris biaurita
PTERIDACEAE

Pteris biaurita
PTERIDACEAE



Vittaria lineata
PTERIDACEAE

Vittaria lineata
PTERIDACEAE

Asplenium serratum
ASPLENIACEAE

Asplenium serratum
ASPLENIACEAE



Christella grandis
THELYPTERIDACEAE



Christella grandis
THELYPTERIDACEAE



Nephrolepis biserrata
NEPHROLEPIDACEAE



Nephrolepis biserrata
NEPHROLEPIDACEAE



Cyclopeltis semicordata
LOMARIOPSIDACEAE



Cyclopeltis semicordata
LOMARIOPSIDACEAE



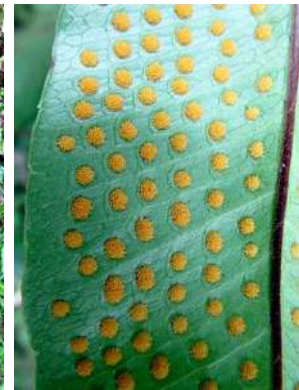
Campyloneurum phyllitidis
LOMARIOPSIDACEAE



Elaeis guineensis
Con epifitos



Phlebodium decumanum
POLYPODIACEAE



Phlebodium decumanum
POLYPODIACEAE



Phlebodium decumanum
POLYPODIACEAE



Microgramma sp.
POLYPODIACEAE

Resistencia extrema al cobre por un consorcio bacteriano conformado por *Sulfobacillus* spp. y *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Extreme resistance to copper by a microbial consortium formed from *Sulfobacillus* spp., and *Acidithiobacillus ferrooxidans*

*Omar D. Pairazamán-Quiroz¹, José E. Neciosup-Quesñay², Yeni S. Valdez-Anco³, Fabián A. Veliz-De La Vega⁴, Paola J. Barrios-Cuevas⁴, Christopher Araya-Rozas⁴, Heber M. Robles-Castillo⁵, Mario R. Esparza-Mantilla⁴

¹Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias de la Salud, Laboratorio de Microbiología. Cajamarca – Perú

²Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Facultad de Ciencias Biológicas

³Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Facultad de Ciencias Biológicas

⁴Universidad de Antofagasta, Laboratorio de Biominería

⁵Universidad Nacional de Trujillo. Laboratorio de Biotecnología

*Autor de correspondencia: opq2507@hotmail.com

Recibido: 26 de Marzo, 2019. Aceptado: 26 de Julio, 2019.

RESUMEN

La sensibilidad al cobre por parte de microorganismos biolixiviadores es uno de los principales problemas que enfrenta la minería para mejorar los procesos de biolixiviación. En tal sentido, nosotros evaluamos la resistencia al cobre de un consorcio microbiano conformado por *Sulfobacillus* spp., y *Acidithiobacillus ferrooxidans*, el cual se propagó, en biorreactores de tanque aireado y agitado de 1 L, los cuales contenían medio 9K suplementado con hierro y concentraciones crecientes de cobre (200 mM, 400 mM, 600 mM, 800 mM y 1,000 mM) a 30°C con un pH de 1.6 durante 96 horas. Se colectó una muestra de cada biorreactor cada 8 horas, para realizar análisis, microscópicos y moleculares, además el cultivo del consorcio en placa mostró una resistencia al cobre hasta 1,000 mM. Se observó que el consorcio microbiano puede crecer en presencia de cobre tanto en medio líquidos (biorreactores-9K+Cu: 200 mM-800mM) como en medios sólidos (agarosa-9K + Cu: 1,000mM). Nuestros resultados proponen que el consorcio conformado por *Sulfobacillus* spp., y *Acidithiobacillus ferrooxidans*, presenta resistencia extrema al cobre y podría ser aplicado bajo condiciones de mayor escalamiento en procesos de biolixiviación de minerales sulfuros donde el cobre se encuentra en concentraciones de hasta 1,000 mM.

Palabras clave: *Acidithiobacillus ferrooxidans*; consorcio microbiano; microorganismos biolixiviadores; *Sulfobacillus* spp, resistencia al cobre

ABSTRACT

The sensitivity to copper by bioleaching microorganism is one of the main problems faced by mining to improve bioleaching processes. In this sense, we evaluated the resistance to copper of a microbial consortium formed by *Sulfobacillus* spp., and *Acidithiobacillus ferrooxidans* which was propagated, in aerated and agitated tank bioreactors of 1 L, which contained 9 K medium supplemented with iron and concentrations copper (200 mM, 400 mM, 600 mM, 800 mM and 1,000 mM) at 30 °C with a pH of 1.6 for 96 hours. A samples of each bioreactor was colleted every 8 hours, to perform cytometric microscope and molecular analysis, and plate count test showed a resistance to copper at 1,000 mM. It was observed that the microbial consortium can grow in the presence of copper both in liquid medium (bioreactors -9K + Cu: 200 mM – 800 mM) and in solid media (agarose – 9K + Cu: 1,000 mM). Our results propose that the consortium formed *Sulfobacillus* spp., and *Acidithiobacillus ferrooxidans* presents wxtrreme resistance to copper and could be applied under higher scaling conditions in bioleaching processes of sulfide minerals where copper is found in concentrations up to 1 000 mM.

Keywords: *Acidithiobacillus ferrooxidans*; bioleaching microorganisms; microbial consortium; *Sulfobacillus* spp; resistance to copper.

1. INTRODUCCIÓN

Los microorganismos extremoacidófilos viven en condiciones que no son comunes para la mayoría de los seres vivos ($\text{pH} < 2$), donde están expuestos a la oxidación por metales pesados (Madigan et al., 2019). Dichos microorganismos pertenecen a especies de bacterias, arqueas y hongos, e incluso algunas protistas, las cuales se caracterizan por tener metabolismos quimiolitautótrofos y quimiolit-organoótrofos, además de ser aerobias y mesófilas, o bien termófilas (Madigan et al., 2019; Medina et al., 2012).

La biolixiviación se puede definir como un proceso natural de solubilización de metales, por disgregación de los minerales, generada por el ataque oxidante de moléculas liberadas por el metabolismo del hierro y el azufre en las bacterias extremoacidófilas (Watling, 2006). Este bioproceso ya es usado en países como Chile, donde la biominería es una estrategia eficiente frente a los métodos convencionales, utilizando cepas modificadas genéticamente para incrementar los rendimientos de extracción (Latorre et al., 2016).

En la biolixiviación del cobre, se disponen pilas de minerales, las cuales contienen sulfuros secundarios, donde se adicionan soluciones ácidas (Watling, 2006). Estas soluciones contienen diferentes concentraciones de cobre ya que constantemente están bañando las pilas, por lo que suelen clasificarse de tres formas: la solución rica en cobre o también llamada PLS (Pregnant Leach Solution), la solución intermedia de cobre o también llamada ILS (Intermediate leaching solution) y la solución de refino que contiene una baja concentración de cobre, debido a que se obtiene después de la extracción del cobre (Morales, 2016).

Las soluciones PLS contienen alrededor de 100 mM de cobre, mientras que en las soluciones de refino se pueden encontrar concentraciones aproximadas a 19.2 mM de cobre (Morales, 2016); además, otras soluciones de biolixiviado presentan concentraciones en torno a 30.5 a 40 mM de cobre (Jia et al., 2016). Estas concentraciones son letales para procariontes no extremoacidófilos, porque el cobre tiene características antimicrobianas (Neciosup et al., 2015); sin embargo, empleando herramientas metagenómicas se han reportado la existencia de comunidades microbianas (Xie et al., 2007). Según Watling et al. (2014), bacterias de los géneros *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum*, *Ferriphilum* y *Acidiphilum*, además de arqueas como *Ferroplasma* han sido identificadas en soluciones ILS (Demergasso et al., 2005). Según Jia et al. (2016), las soluciones PLS e ILS, con presencia de microorganismos, muestran una mejor oxidación del hierro en relación con la solución de refino, lo cual indica un metabolismo muy activo a pesar de las concentraciones de cobre.

Bacterias como *Acidithiobacillus ferrooxidans* son utilizadas en procesos de biolixiviación por su capacidad de crecer en presencia de cobre (Demergasso et al., 2005; Harvey y Crundwell, 1996; Rawlings y Johnson 2007), además de que subespecies de *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* han sido reportadas como tolerantes a concentraciones elevadas de cobre (Watkin et al., 2009), pero su comportamiento como consorcio microbiano en respuesta al cobre no ha sido establecido.

Uno de los grandes desafíos es hacer constante la biolixiviación a escala industrial, y que las comunidades microbianas establecidas en las soluciones, obtengan resistencia al cobre. En este rumbo, esta investigación evaluó la resistencia de un consorcio microbiano expuesto a elevadas concentraciones de cobre como un modelo microbiológico de alta resistencia al cobre con potencial aplicación en la biolixiviación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Aislamiento, caracterización y propagación del consorcio microbiano.

El consorcio microbiano constituido por *Sulfobacillus* spp., y *Acidithiobacillus ferrooxidans*, se aisló desde un drenaje ácido de mina (pH : 3.0) en el distrito de Sayapullo, (La Libertad, Perú), cuyas coordenadas son $7^{\circ}35'34.46''$ S, $78^{\circ}29'00.46''$ O, elevación: 2206 m.s.n.m. Este consorcio se mantuvo activo por repiques constantes en medio 9K-Fe hasta obtener un inóculo de 1.8×10^8 células/ml, usando recuento en cámara de Neubauer.

2.2. Acondicionamiento y bioproceso

Cinco biorreactores (figura 1) tanque aireado agitado de 1.5 L (Miranda et al., 2006), contenían 250 mL del inóculo bacteriano (1×10^8 células / mL), 180 mL de medio 9K (10X) (Yates y Holmes (1987)), 75 mL de solución de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (10X), 270 mL de agua destilada estéril y 230 mL de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (utilizado para los biorreactores con sulfato de cobre y para el control fue reemplazado con agua destilada estéril) alcanzando un volumen total de 1 L. La solución de sulfato de cobre utilizada, fue preparada a partir de una solución madre (250 g / L) alcanzando una concentración de 880 mM de cobre (valor confirmado por espectrofotometría de absorción atómica), llevando a los 4 biorreactores a una concentración base de 200 mM de cobre, a partir de allí se adicionó sulfato de cobre en polvo, previos cálculos estequiométricos (59.20 g, 118.50 g y 177.82 g) para alcanzar las concentraciones deseadas de 400, 600 y 800 mM de cobre. El H_2SO_4 se utilizó para reducir el pH hasta 1.5. Los 6 biorreactores fueron incubados a $30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ con aireación de 0.05 vvm, 180 rpm por 96 horas. El ensayo se realizó por triplicado.

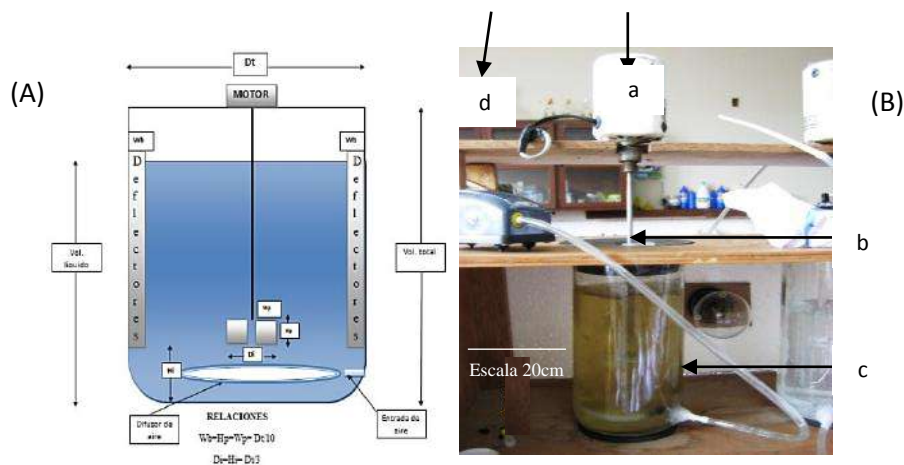


Figura 1. Biorreactor tanque aireado y agitado (Miranda et al., 2006), (A) diseño de biorreactor. (B) Biorreactor usado para bioproceso de resistencia al cobre, donde (a) motor a 180rpm, (b) eje en el que se encuentra adosada la turbina, (c) manguera 0.25mm diámetro, (d) bomba de aire (0.05vvm). Biorreactor diseñado para 1.5 L de capacidad.

2.3 Análisis y monitoreo del bioproceso.

Cada 8 horas hasta completar 96 horas se colectaron muestras de 1.0 ml por cada biorreactor y se analizó el número total de células en cámara de Neubauer (Madigan et al., 2019), se determinó la concentración de cobre al inicio y al final del bioproceso mediante espectrofotometría de absorción atómica (Allan, 1961).

Los datos del recuento celular se procesaron por análisis de varianza con un nivel de significancia de 95% y se determinó el grado de significancia entre el consorcio sin exposición (control) y el consorcio expuesto a concentraciones de 200, 400, 600 y 800 mM de cobre; además de determinar el grado de significancia entre el consorcio expuesto a 200, 400, 600 y 800 mM de cobre utilizando la prueba HSD de Tukey con el software SPSS v. 15.

2.4 Reactivación del consorcio y cultivo.

Al término del bioproceso, fueron tomados, 2.5 mL del contenido de cada biorreactor y se inoculó en un matraz de 500 mL, conteniendo 100 mL del medio 9K-Fe (Schrader y Holmes, 1988), incubándose en agitación constante de 120 rpm por 18 días a temperatura ambiente. Al término de este tiempo se concentraron por centrifugación a 8000 rpm, las biomásas celulares de 10 mL de cada consorcio, de estos concentrados fueron tomados 20 μL y adicionados sobre la superficie del medio 9K – Fe / Cu 1 000 mM / agarosa en placas de Petri siguiendo el protocolo de Yates y Holmes (1987).

2.5 Extracción de ADN genómico de los microorganismos resistentes al cobre.

Un inóculo de 100 mL (1×10^8 células / mL) obtenido del biorreactor de 800 mM de cobre, al término de los 18 días de reactivación, se sometió al sistema de filtración al vacío usando un filtro de 0.2 μm , dicho inóculo se lavó con 10 mL de agua HPLC libre de nucleasas a pH 2. La suspensión bacteriana resultante del lavado se colocó en tubos microtubos (1.5 ml) y se centrifugó a 10,000 rpm por 5 minutos. Este proceso se repitió dos veces y la biomasa bacteriana final se usó para la extracción del ADN total. Para ello, se utilizó el kit de extracción PowerSoil DNA Isolation Kit, MoBio Lac. Inc siguiendo las instrucciones del proveedor.

2.6 Amplificación del gen ARNr 16S.

El ADN total se usó como templado para amplificar por PCR la región del gen que codifica para el ARNr 16S, para ello se utilizó los oligonucleótidos 27-F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3') y el 1492-R (5' TACGGYTACCTTGTACGACTT 3') (Lane, 1991). La reacción de PCR tuvo, 8 μL de Power Mix; 2 μL ADN genómico a una concentración de 50 ng/ μL . El Power Mix se formuló por 0.5 μL Green Buffer 5X, 13.5 μL de agua bidestilada estéril, 3.2 μL MgCl_2 (50 mM), 0.6 μL de 27-F (10 mM), 0.6 μL de 1492-R (10 mM), 0.5 μL dNTPs (10 mM); y 0.02 μL de Taq Polimerasa (2.5 U). Las condiciones del PCR fueron: una desnaturalización a 95°C durante 5.00 minutos, una hibridación a 57°C durante 45 segundos, una extensión a 72°C durante 45 segundos, lo cual se repitió durante 36 ciclos, además de una amplificación final a 72 °C durante 5 minutos para finalmente almacenarse a 4 °C. El producto de PCR fue resuelto en un gel de agarosa al 1%, 100V por 30 minutos. Como marcador de peso molecular se utilizó 1 kb plus DNA Ladder (Promega®) y como revelador bromuro de etidio.

2.7 PCR Multiplex para microorganismos biolixiviantes.

Se realizó un PCR multiplex (De Wulf-Durand et al., 1997) utilizando los oligonucleótidos 170-F (5'-CAATCCCGCATACGTTCC-3') y 606-R (5'-AAACCGCTACGTATCGCAC-3') para detectar a *Sulfobacillus* sp., además de 458-F (5'-GGGTGCTAATAWCGCCTGCTG-3') y 1492-R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') para detectar a *A. ferrooxidans*. Para el PCR multiplex, se preparó el master mix, conteniendo: 603 μL de agua bidestilada estéril, 50 μL MgCl (50 mM), 250 μL buffer green 5X. El contenido del Master mix se dividió en dos microtubos de 1.5 mL de capacidad. El Mix taq contenía 250 uL de master mix más 7 uL de Taq ADN polimerasa. Por último el power mix contenía 653 uL de master mix y se le añadió 25 uL de dNTPs (10 Mm), además de 20 uL de cada oligonucleótido. La distribución en los tubos de PCR fue de 18.5 μL de power mix, 1.5 μL de ADN templado (50 ng/ μL) y 5.0 μL de Mix Taq.

Las condiciones del PCR multiplex fueron: Una desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 minutos, una amplificación a 72 °C durante 1 minuto, subsecuentemente, se realizó una amplificación final a 72 °C durante 7 minutos, para finalmente almacenarse a 4 °C. El producto de PCR fue resuelto en un gel de agarosa al 1 %, 100 V por 30 minutos. Como marcador de peso molecular se utilizó 1 kb plus DNA Ladder (Promega®). Los geles se revelaron con GelRed® Nucleic Acid Gel Stain (BIOTIUM).

3. RESULTADOS

3.1 Efecto del cobre sobre el crecimiento microbiano

En las primeras 8 horas post-inoculación se observó una disminución del número de células en los grupos con presencia de cobre. A partir de allí, hasta el final del bioproceso, el número de células varió en un rango de 7.87×10^7 hasta 6.65×10^7 (200 mM), de 6.51×10^7 hasta 5.40×10^7 (400 mM), 5.46×10^7 hasta 4.60×10^7 (600 mM), 4.43×10^7 hasta 3.50×10^7 (800 mM). El grupo sin exposición al cobre aumentó su concentración celular durante las 96 horas (figura 2). El análisis de varianza ANOVA permitió determinar que existieron diferencias significativas entre el crecimiento del consorcio sin exposición al cobre y el consorcio expuesto a las concentraciones de 200, 400, 600 y 800 mM de cobre ($P < 0.05$). Para determinar si existe diferencia significativa entre los grupos expuestos al cobre se aplicó el análisis Tukey, determinándose que existe diferencia entre los grupos expuestos a 200 y 400 mM de cobre con los grupos 600 y 800 mM de cobre ($p < 0,05$); además se determinó que la velocidad específica de crecimiento del consorcio sin exposición al cobre fue $1.82 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$.

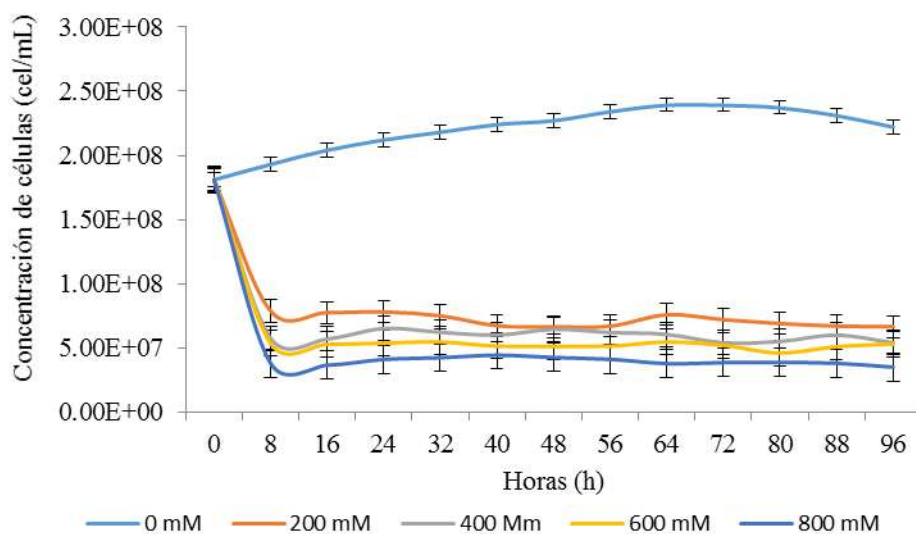


Figura 2. Crecimiento de un consorcio microbiano resistente al cobre conformado por *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Sulfobacillus* spp, expuesto a diferentes concentraciones de sulfato de cobre, durante 96 horas de incubación a 30°C +/- 2°C, en medio 9K Fe a pH 1,6, en condiciones de laboratorio.

3.2 Bioproceso y análisis microbiológicos.

En la figura 3, se muestran las imágenes de los biorreactores en el bioproceso y las características morfológicas de los microorganismos durante la exposición al cobre usando la tinción de Gram. Se observan bacterias con forma de bacilo y cocabacilos. La mayoría de células son Gram negativas, siendo visible en los grupos de 600 y 800 mM de cobre. Esta observación se realizó de los cultivos propagados terminada la experiencia.

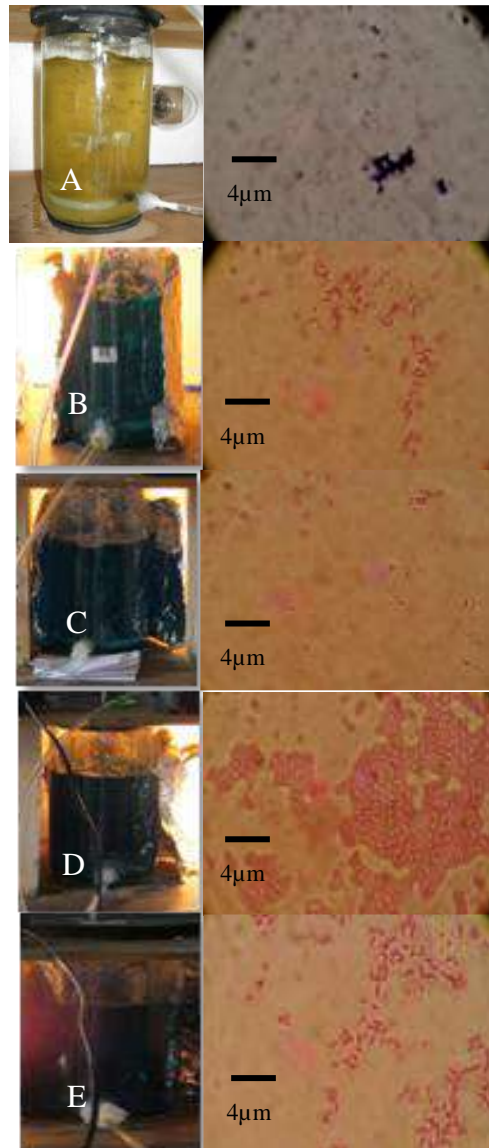


Figura 3. Observación del bioproceso y análisis microbiológico en diferentes concentraciones de cobre. Todos los biorreactores tanque aireado y agitado contienen medio 9K-Fe a pH 1,6 agitados a 180 RPM, donde cada Biorreactor contiene el consorcio microbiano (A): sin cobre, (B): con 200 mM de cobre (12,7 g / L Cu), (C): con 400 mM de cobre (25,4 g / L de Cu), (D): con 600 mM de cobre (38,1 g / L de Cu), (E): con 800 mM de cobre (50,8 g / L de Cu). En las microfotografías de la columna derecha se observa células bacterias teñidas con tinción de Gram, correspondientes a cada biorreactor (A-E)

3.3 Electroforesis en geles de agarosa.

En la figura 4A, se muestra la amplificación de las secuencias del gen ARNr 16S para el dominio bacteria (1,500 pb). Este resultado indica la presencia de microorganismos del dominio bacteria, en los cuatro grupos del consorcio expuesto al cobre. En la figura 4B, se muestran tres bandas que corresponden a los amplificadores de los oligonucleótidos para *A. ferrooxidans* y *Sulfobacillus* spp., con pesos moleculares de 1,000 pb y 500 pb, respectivamente. En el carril 2 y 3 se detectó la presencia de *A. ferrooxidans* y en el carril 3 solo *Sulfobacillus* sp.

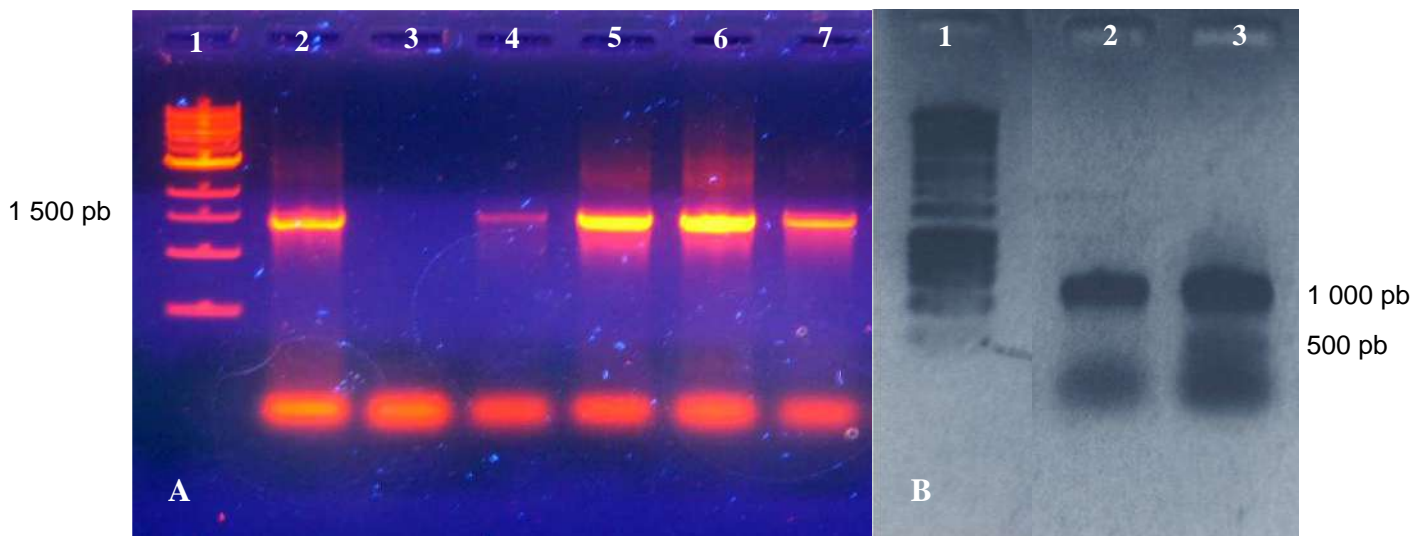


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa al 1%, para confirmar la presencia de bacterias extremoacidófilas. A: Productos de PCR para el dominio bacteria teñidos con Gel red (Biotium), utilizando oligonucleótidos 27-F, 1492-R; donde el carril 1 corresponde al marcador de peso molecular 1kb; carril 2, ADN de *A. ferrooxidans* (control positivo); carril 3 agua bidestilada estéril (control negativo); en los carriles 4, 5, 6 y 7 corresponden al consorcio expuesto a 200, 400, 600 y 800 mM de cobre. B: Productos de PCR multiplex teñidos con bromuro de etidio, donde el carril 1 es el marcador de peso molecular 1kb; en el carril 2 y 3 se observa la amplificación del gen ARNr de *A. ferrooxidans* y en el carril 3 se observa la amplificación de ARNr de *Sulfobacillus sp.*

3.4 Resistencia extrema al cobre (1,000 mM) en microorganismos extremoacidófilos

En la figura 5 se muestra el cultivo in vitro del consorcio que desarrolló en presencia de 1,000 mM de cobre en diferentes tiempos de crecimiento. La colonia mixta de bacterias Gram positivas y Gram negativas es convexa de color café claro y más oscuro en el centro, de borde redondeado. Además se muestra que la morfología celular bacteriana es preferentemente bacilar y cocobacilar.

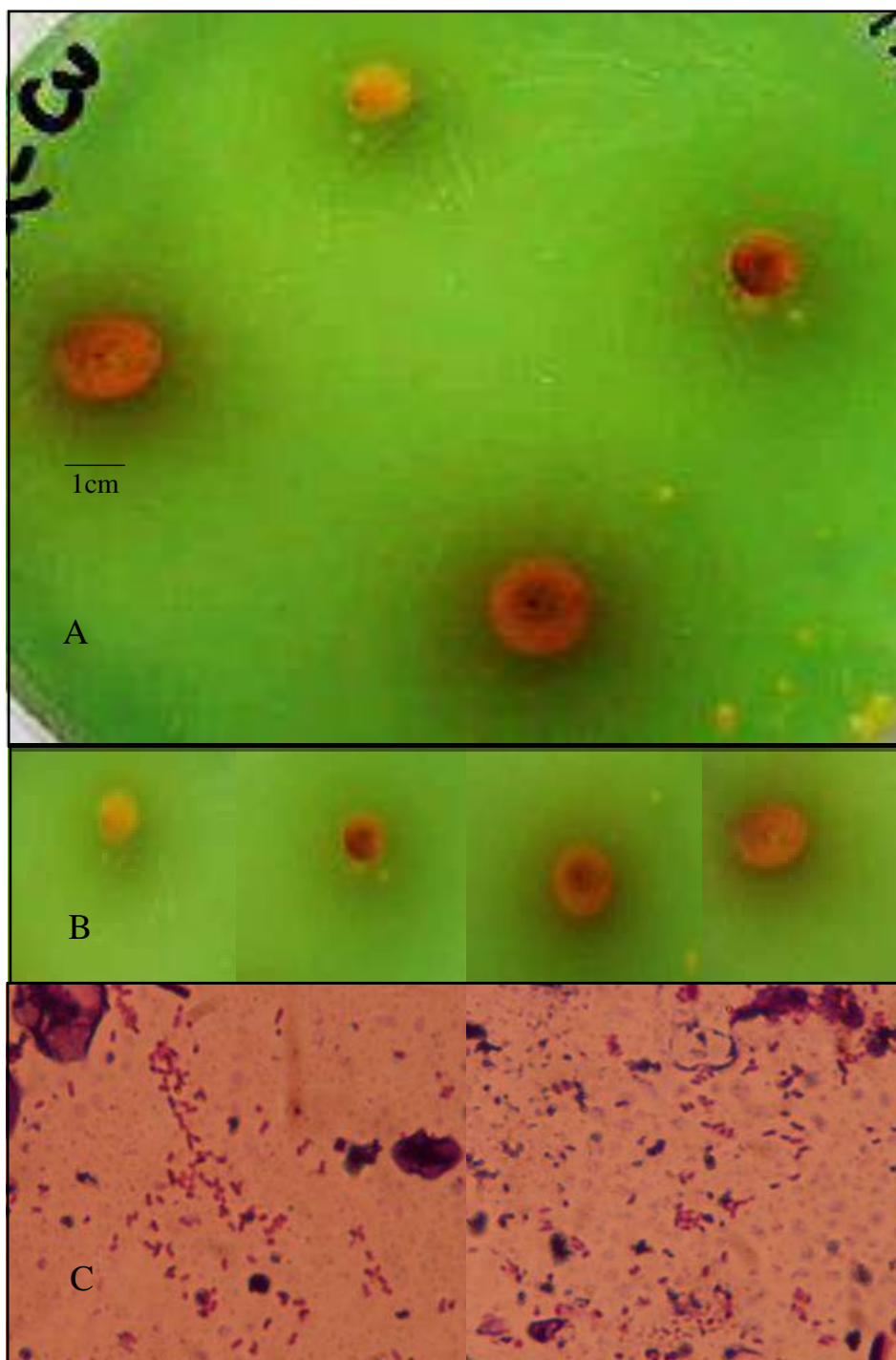


Figura 5. Análisis microbiológico del consorcio. A: Colonias resistentes a 1000 mM de cobre al cabo de 16 días de incubación, usando la técnica de siembra de microgota. B: vista panorámica de las colonias de color café oscuro en el centro y naranja oscuro en el borde; además se observa una zona oscura alrededor de la colonia. C: Análisis microscópico del consorcio, se observan a inmersión bacterias Gram positivas y Gram negativas.

4. DISCUSIÓN

La resistencia de los microorganismos al cobre, puede deberse a la activación de genes específicos mediante la regulación positiva que ejerce el cobre, para la traducción de proteínas transportadores como ATPasas tipo P (Dupont et al., 2010) y proteínas relacionadas a la resistencia, nodulación y división celular (RND) que pueden bombear el cobre desde el citoplasma al periplasma y luego hacia espacio extracelular (Li et al., 2015). Una característica notoria del consorcio bacteriano, es que la presencia de bacterias Gram negativas, explica uno de los mecanismos involucrados en la resistencia extrema al cobre, debido a la presencia de una membrana externa con mayor número de proteínas (RND) favoreciendo los sistemas de expulsión del cobre. Este mecanismo no está presente en las bacterias Gram positivas (Saier, 2003); además, existe evidencia que las bacterias utilizan polisacáridos como medida de protección frente a las altas concentraciones de metales pesados (Jachlewski et al., 2015).

La concentración de células en el consorcio, se ve disminuida por el efecto del cobre en las primeras 8 horas (Figura 2) y a partir de allí el consorcio comienza a mantenerse en una concentración celular constante. Esta acción del cobre sobre el crecimiento bacteriano fue investigada por Neciosup et al. (2015) al evaluar el crecimiento de bacterias patógenas intrahospitalarias en superficies de acero y cobre, siendo el cobre letal para *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, bacterias que son las principales causantes de infecciones intrahospitalarias y generalmente resistentes a antibióticos. Sin embargo las bacterias presentes en el consorcio crecen en ambientes ácidos con presencia de metales pesados y tienen mecanismos moleculares intrínsecos de resistencia que le permiten tolerar y mantenerse viables a pesar del estrés oxidativo que sufre la membrana celular, las proteínas y el ácido nucleico (San Miguel y Martín, 2009; Castillo et al., 2017).

La velocidad de crecimiento del consorcio sin exposición al cobre ($1.82 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$) en relación a la experiencia de Cabrera et al. (2005) fue menor tanto para el cultivo puro de *Thiobacillus ferrooxidans* (8.6×10^{-2} células/mL) y el cultivo mixto de *Thiobacillus ferrooxidans* e *Acidiphilium* sp (8.7×10^{-2} células/mL). Esta diferencia podría deberse a que nuestro trabajo utilizó 5 veces mayor volumen que la realizada por Cabrera et al. (2005) y que la toma de muestra en el biorreactor (1 L) podría no ser homogénea siendo una debilidad de la técnica de recuento celular usando la cámara de Neubauer, con volúmenes a mayor escala. Además este autor señala que la velocidad de crecimiento en presencia de cobre con una sola especie (*Thiobacillus ferrooxidans*) se ve más afectada que cuando se encuentra asociada (*Thiobacillus ferrooxidans* y *Acidiphilium* sp), por lo que la resistencia a mayores concentraciones de cobre estaría asociada a los mecanismos de interacción entre los integrantes del consorcio y sería una de las explicaciones por las cuales el consorcio es resistente a 800 mM de cobre en biorreactor de 1 L y a 1000 mM de cobre in vitro. Con relación a los grupos expuestos al cobre, existe un descenso en el número de células de forma gradual, sin embargo, se evidencia la resistencia del consorcio al mantener un número elevado de células durante 96 horas de bioproceso.

Después de reactivar el consorcio, se observaron microorganismos con morfología bacilar y cocobacilar, luego se realizó una tinción de Gram observándose presencia de bacterias Gram negativas en mayor proporción (figura 3). El análisis de PCR para el ARNr 16S específico para el dominio bacteria, es positivo en todos los grupos expuestos al cobre (figura 4), por ese motivo se afirma que todas las bacterias presentes en el consorcio en la etapa de reactivación, son resistentes a las diferentes concentraciones de cobre expuestas; además, en la figura 5, se muestra el resultado de la electroforesis de los productos de PCR multiplex detectando la presencia de, *A. ferrooxidans* y *Sulfobacillus* sp.

Estos resultados toman mayor solidez al enfocarse en *A. ferrooxidans*, la bacteria más estudiada en biominería ya que presenta por lo menos 10 genes relacionados con la homeostasis del cobre (Nies et al., 2003); además, la fase de latencia encontrada en nuestro trabajo (figura 2), puede ser explicada por la experiencia de Natarajan et al. (1994), cuando expuso a *A. ferrooxidans* a 314 mM de cobre, señalándose que las células podrían realizar algunos reajustes de material celular asociada con la membrana celular; sin embargo es preciso señalar que *A. ferrooxidans* adquiere resistencia cuando es expuesta consecutivamente al cobre (Navarro, 2009).

Según la literatura se conoce que el género *Sulfobacillus* tiene una especie *S. thermosulfidooxidans* que presenta resistencia al cobre hasta 786 mM (Watkin et al., 2009); sin embargo en esta investigación la cepa *Sulfobacillus* spp., presente en el consorcio es resistente hasta 1000 mM de cobre. Dentro de las especies

de este género están *S. thermosulfidooxidans*, que es más activa a la oxidación de del Fe^{+2} y de sulfuros minerales, en comparación con *S. acidophilus*, que es más eficiente con la oxidación del azufre (Rodríguez et al., 2001), bajo esta perspectiva habrían pocas posibilidades que la especie de *Sulfobacillus* presente en el consorcio sea justamente ésta última. Cabe indicar que Demergasso et al. (2005), señaló que estas dos bacterias forman parte de la diversidad microbiana que se encuentran en la naturaleza en diferentes etapas de los procesos de biolixiviación, sumado a su alta resistencia al cobre hace que sea muy probable identificarlos luego de nuestra experiencia. Por lo tanto uno de los aportes de nuestro trabajo es confirmar que las bacterias *A. ferrooxidans* y *Sulfobacillus* spp., son resistentes al cobre entre 800 a 1,000 mM (figuras 4 y 5).

Se demostró que el PCR multiplex puede ser utilizado para la detección de microorganismos biolixivantes, que generalmente se encuentran en medios extremos como aguas ácidas, relaves mineros, con elevadas concentraciones de metales pesados y también señalar que en el proceso de evaluación de este consorcio las bacterias estuvieron en soluciones elevadas de cobre, por ese motivo la técnica de PCR multiplex y el proceso de purificar ADN bacteriano libre de cobre para el PCR es reproducible para ser usada con microorganismos extremoacidófilos (Figura 4). Por tanto, la técnica de PCR multiplex en esta investigación debe ser aplicada como indicador de la presencia de bacterias resistentes al cobre, lo cual constituye una herramienta importante para evaluar bioprocesos en la industria minera, ambientes extremos como pasivos ambientales, drenajes ácidos así como durante los procesos de biolixiviación.

La generación de un cultivo mixto en medio 9K con hierro y cobre al 1,000 mM, en estado sólido, brinda un modelo para la detección, comparación y estudio de consorcios microbianos biolixivantes resistentes al cobre, así como para el estudio in situ de las relaciones ecológicas entre dos o más procariontes frente a metales pesados. Una aplicación biotecnológica que surge como consecuencia de este cultivo mixto en estado sólido es la obtención de biomasa con características de resistencia al cobre y con metabolismo activo del hierro para su aplicación en tareas de biolixiviación. La ventaja de tener un cultivo en estado sólido es que se evita la formulación y preparación de grandes cantidades de medio líquido, reduciéndose los costos de insumos como agua, ácido sulfúrico, hierro y otras sales, así como, los costos de energía para el suministro de oxígeno y el mantenimiento de la temperatura, teniendo como consecuencia las reducción de los espacios útiles en el laboratorio y los costos de biomasa útil.

Para finalizar esta investigación, se demostró que los integrantes del consorcio conformado por *A. ferrooxidans* y *Sulfobacillus* sp, pueden permanecer viables a concentraciones de 800 mM de cobre en biorreactor de 1 L y 1,000 mM de cobre en medio de cultivo sólido, estos resultados nos permiten generar un modelo para el aprovechamiento de biotecnológico sobre estos microorganismos y poder seleccionar bacterias de acuerdo a su resistencia al cobre (figura 6). Además al contar con un grupo de bacterias adaptadas a elevadas concentraciones de cobre, se desprende su aprovechamiento a gran escala; es decir, su utilización en grandes volúmenes para el riego constante de soluciones ácidas en las pilas de biolixiviación, lográndose recuperar estos microorganismos a partir de las soluciones de PLS y Refino para luego volverlos a propagar de forma constante (figura 7).

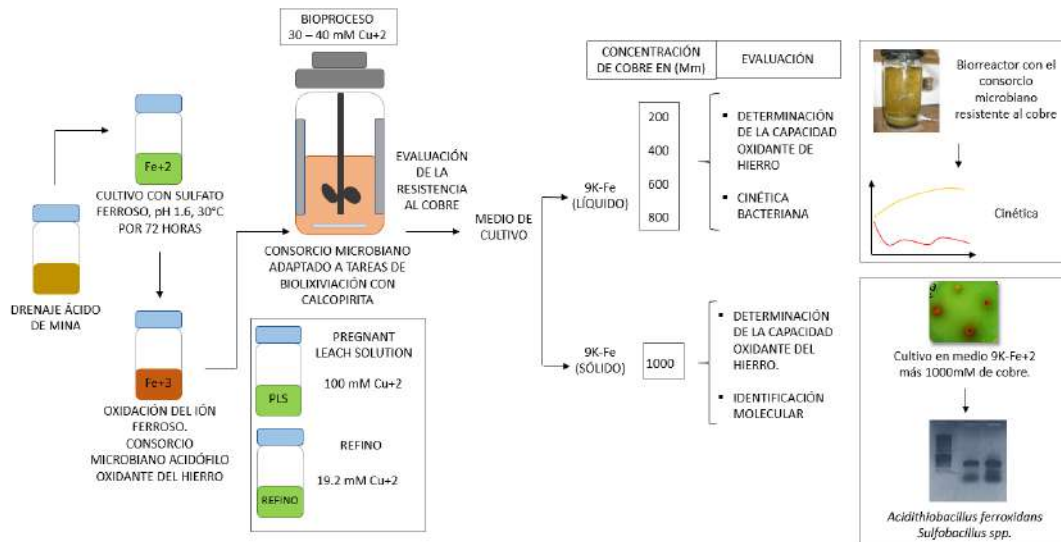


Figura 6. Modelo de aislamiento de bacterias acidófilas altamente resistente al cobre

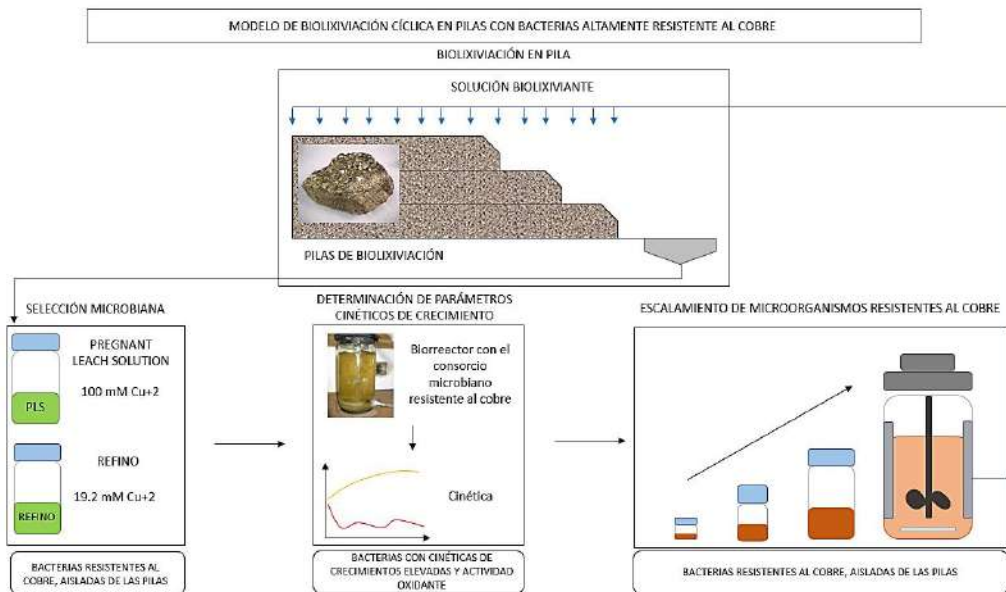


Figura 7. Modelo de Biolixiviación cíclica en pilas usando bacterias altamente resistentes al cobre

5. CONCLUSIONES

El consorcio conformado por *A. ferrooxidans* y *Sulfolobus* sp, es resistente a altas concentraciones de cobre (1,000 mM) y constituye un modelo para estudios de alta resistencia al cobre puesto que puede ser usado en procesos de biolixiviación con contenidos superiores a 1000 mM de cobre, además se determina que estas especies pueden ser un bioindicador de altas concentraciones de cobre en drenajes ácidos de minas, PLS y relaves en operaciones industriales mineras donde se procese minerales sulfuros de cobre.

6. FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Fondo de Investigación para Tesis de Pregrado-UA 2015 MEM; ATI15-02/ ATI15-03 y Proyecto Semillero 5302 MEM de la Universidad de Antofagasta-Chile y fuentes propias de los autores.

7. AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que contribuyeron de una u otra forma al desarrollo de este trabajo en los laboratorios de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo-Perú y al Laboratorio de Biominería de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad de Antofagasta.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Madigan M., Brender K., Buckley D., Sattley W., y Stahl D. Brock Biology of Microorganisms. (2019). Edit. Pearson. Southern Illinois University Carbondate. 15ava Edición.
2. Medina S., Torres M., Durán Y., Ramírez R., Herrera J., y Ramírez P. (2012). Degradación de tiocianato por hongos aislados de ambientes mineros y evaluación de su capacidad degradativa. *Revista Peruana de Biología*. 19(1), 81-88.
3. Watling H. R. (2006). The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides a review. *Hydrometallurgy*. 84 (1-2), 81-108. DOI: 10.1016/j.hydromet.2006.05.001
4. Latorre M., Cortés M. P., Trivisany D., Di Genova A., Budinich M., Reyes-Jara A. y Cambiazo V. (2016). The bioleaching potential of a bacterial consortium. *Bioresource technology*. 218, 659-666. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.07.012
5. Morales F. A. (2016). Evaluación técnico-económica de la implementación de un nuevo plan de riego de los sectores de lixiviación en la operación Mantoverde-Anglo American. Memoria para obtener el título de Ing Civil Químico. Datos tomados de Anglo American. Datos Clave Operación Mantoverde (www.angloamerican-chile.cl). Santiago de Chile. Chile.
6. Jia Y., Sun H., Chen D., Gao H., y Ruan R. (2016). Characterization of microbial community in industrial bioleaching heap of copper sulfide ore at Monywa mine, Myanmar. *Hydrometallurgy* 164, 355-361. DOI: 10.1016/j.hydromet.2016.07.007
7. Neciosup E., Vergara M., Pairazamán O., Apablaza M., y Esparza M. (2015). Cobre antimicrobiano contra patógenos intrahospitalarios en Perú. In *Anales de la Facultad de Medicina*. 76. 1. 9-14. DOI: 10.15381/anales.v76i1.11069
8. Xie X., Xiao S., He Z., Liu J., y Qiu G. (2007). Microbial populations in acid mineral bioleaching systems of Tong Shankou Copper Mine, China. *Journal of applied microbiology*. 103(4), 1227-1238. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03382.x
9. Watling H. R., Collinson D. M., Li J., Mutch L. A., Perrot F. A., Rea S. M., y Watkin E. L. J. (2014). Bioleaching of a low-grade copper ore, linking leach chemistry and microbiology. *Minerals Engineering*, 56, 35-44. DOI: 10.1016/j.mineng.2013.10.023
10. Demergasso C. S., Castillo D., y Casamayor E. O. (2005). Molecular characterization of microbial populations in a low-grade copper ore bioleaching test heap. *Hydrometallurgy*. 80(4), 241-253. DOI: 10.1016/j.hydromet.2005.07.013
11. Harvey P. I., y Crundwell F. K. (1996). The effect of As (III) on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans* in an electrolytic cell under controlled redox potentials. *Minerals Engineering*, 9(10), 1059-1068. DOI: 10.1016/0892-6875(96)00098-2
12. Rawlings D. E., y Johnson D. B. (2007). The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia. *Microbiology*. 153(2), 315-324. DOI: 10.1099/mic.0.2006/001206-0
13. Watkin E. L. J., Keeling S. E., Perrot F. A., Shiers D. W., Palmer M. L., y Watling H. R. (2009). Metals tolerance in moderately thermophilic isolates from a spent copper sulfide heap, closely related to *Acidithiobacillus caldus*, *Acidimicrobium ferrooxidans* and *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 36(3), 461. DOI: 10.1007/s10295-008-0508-5
14. Miranda H., Robles H., Villanueva L., y Rodríguez C. (2006). *Biorreactores, Diseños y Aplicaciones*. Sociedad Peruana de Biotecnología, Trujillo, Perú.
15. Allan J. E. (1961). The use of organic solvents in atomic absorption. *Spectrophotometry*. *Spectrochimica Acta*. 17(4), 467-473. DOI: 10.1016/0371-1951(61)80099-4
16. Schrader J. A., y Holmes D. S. (1988). Phenotypic switching of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of bacteriology*, 170(9), 3915-3923. DOI: 10.1128/jb.170.9.3915-3923.1988
17. Yates J. R., y Holmes D. S. (1987). Two families of repeated DNA sequences in *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of bacteriology*, 169(5), 1861-1870. DOI: 10.1128/jb.169.5.1861-1870.1987
18. Lane D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. 115-175.
19. De Wulf-Durand P., Bryant L. J., y Sly L. I. (1997). PCR-mediated detection of acidophilic, bioleaching-associated bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 63(7), 2944-2948.

20. Dupont C. L., Butcher A., Valas R. E., Bourne P. E., y Caetano-Anollés G. (2010). History of biological metal utilization inferred through phylogenomic analysis of protein structures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(23), 10567-10572. DOI: 10.1073/pnas.0912491107
21. Li X. Z., Plésiat P., y Nikaido H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clinical microbiology reviews*, 28(2), 337-418. DOI: 10.1128/CMR.00117-14
22. Saier Jr, M. H. (2003). Tracing pathways of transport protein evolution. *Molecular microbiology*. 48(5), 1145-1156. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03499.x
23. Jachlewski S., Jachlewski W. D., Linne U., Bräsen C., Wingender J., y Siebers B. (2015). Isolation of extracellular polymeric substances from biofilms of the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus acidocaldarius*. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 3, 123. DOI: 10.3389/fbioe.2015.00123
24. San-Miguel A., y Martin-Gil F. J. (2009). Importancia de las especies reactivas al oxígeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*, 106(3), 106-113. DOI: 10.1016/S0304-4858(09)74661-X
25. Castillo-Castañeda P. C., Gaxiola-Robles R., Labrada-Martagón V., Vargas B. A., Méndez-Rodríguez L. C., y Zenteno-Savín T. (2017) Oxidative damage to proteins related to metals and antioxidant defenses in breastmilk. *Nutrición hospitalaria*, 34(1), 59-64. DOI: 10.20960/nh.976
26. Cabrera G., Gomez J. M., y Cantero D. (2005). Kinetic study of ferrous sulphate oxidation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the presence of heavy metal ions. *Enzyme and Microbial Technology*. 36(2-3), 301-306. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2004.09.008
27. Nies D. H. (2003). Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *FEMS microbiology reviews*. 27(2-3), 313-339. DOI: 10.1016/S0168-6445(03)00048-2
28. Natarajan K. A., Sudeesha. K., y Rao, G. R. (1994). Stability of copper tolerance in *Thiobacillus ferrooxidans*. *Antonie van Leeuwenhoek*. 66(4), 303-306. DOI: 10.1007/BF00882764
29. Navarro C. A., Orellana L. H., Mauriaca C., y Jerez C. A. (2009) Transcriptional and functional studies of *Acidithiobacillus ferrooxidans* genes related to survival in the presence of copper. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(19), 6102-6109. DOI: 10.1128/AEM.00308-09
30. Rodríguez Y., Blázquez M. L., Ballester A., González F., y Muñoz J. A. (2001). La biolixiviación al comienzo del siglo XXI. *Revista de metalurgia*. 37(5), 616-627. DOI: 10.3989/revmetalm.2001.v37.i5.528

Artículo Original

**La pesca artesanal de *Isacia conceptionis* “cabinza”,
desembarcada en Puerto Casma, Ancash, 2010 – 2015**

**Artisanal fishing of *Isacia conceptionis* “cabinza”, landed at Casma Port,
Ancash, 2010-2015**

*Bilmia Veneros Urbina¹ y Elena Icochea Barbarán¹

¹Departamento de Pesquería. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo.
Trujillo. Perú

*Autor para correspondencia: *bilmia_@hotmail.com*

Recibido: 19 de Mayo, 2018. Aceptado: 28 de Julio, 2018

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo determinar las principales características de la pesca artesanal de *Isacia conceptionis* “cabinza” en puerto Casma, Chimbote, del 2010 al 2015. La base de datos fue obtenida de los anuarios estadísticos del Ministerio de la Producción y del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) y se realizaron viajes a puerto Casma para obtener información sobre las zonas de pesca y embarcaciones. Se identificó que las zonas de pesca fueron 33, siendo las más importantes por su desembarque Isla Blanca, Isla Tortugas, La Lobería, Cajero, Mongón, El Frío y el Arco. Las embarcaciones dedicadas a la extracción de esta especie fueron lanchas, botes y chalanas, siendo los más frecuentes los botes. Los artes y aparejos de pesca utilizados estuvieron conformados por redes cortina, cerco y pinta. Así mismo se determinó que los mayores volúmenes de desembarques se obtuvieron en las estaciones de primavera y verano y los desembarques muestran una tendencia a disminuir, incrementándose significativamente en el año 2015.

Palabras claves: Ancash, *Isacia conceptionis*, Pesquería, Puerto Casma

ABSTRACT

The objective of the research was to determine the main characteristics of the artisanal fishing of *Isacia conceptionis* "cabinza" at Casma Port, Chimbote, from 2010 to 2015. The database was obtained from the statistical yearbooks of the Ministry of Production and the Institute of Sea of Peru (IMARPE) and trips were made to Casma Port to obtain information on fishing areas and vessels. Thirty three fishing zones were identified, and focusing on the unloadings, the most important ones were Isla Blanca, Isla Tortugas, La Lobería, Cashier, Mongón, El frío and El Arco. The vessels dedicated to the extraction of this species were boats and barges, with the boats being the most common. The fishing gear and tackle used consisted of curtain, fencing and pinta networks. Likewise, it was determined that the highest volumes of unloadings were obtained in spring and summer and these unloadings show a decreasing trend, increasing significantly in 2015.

Keywords: Ancash, Casma Port, fishery, *Isacia conceptionis*

1. INTRODUCCIÓN

La pesca artesanal es una actividad extractiva, que utiliza técnicas tradicionales y con poco desarrollo tecnológico, con embarcaciones pequeñas y operan en la zona costera. La FAO (2003) menciona que los recursos que sustentan la pesquería artesanal son diversos, diversidad que se ve reflejada en aproximadamente 220 especies de las cuales el 80% son peces, 17% invertebrados, 2% algas y 1% de otros recursos. Así mismo la FAO (2010) indica que la pesquería artesanal se desarrolla alrededor de 200 caletas pesqueras en el litoral peruano.

Salazar (2001) divide al litoral peruano en tres regiones, norte, centro y sur, de ellas indica que la zona norte comprende desde Tumbes hasta Ancash, y es esta zona la que presenta mayor número de puertos y una gran diversidad de especies entre las que podemos encontrar a lisa, suco, cachema, cabinza, etc. Ritcher (2007) indica que la alta biodiversidad ictiofaunística del mar peruano ha permitido el desarrollo de diversas pesquerías a lo largo del litoral y además que los pescadores artesanales utilicen como base de operaciones caletas y puertos, siendo estos 181 puntos.

Isacia conceptionis "cabinza" es uno de los recursos que sustenta la pesquería artesanal, en Puerto Casma, Ancash. Chirichigno y Vélez (1998) indican que esta especie pertenece a la familia Haemulidae y se distribuye desde Islas Lobos de Afuera en el Perú hasta Talcahuano en Chile. Ángel y Ojeda (2001) reportan para Chile que vive en un ambiente bentopelágico, sobre fondos de arena o roca, a poca profundidad (entre 0 y 50 metros), abundando en zonas donde pueda ocultarse entre las rocas, alimentándose fundamentalmente de crustáceos, gusanos, poliquetos y de algas, desovando en primavera y verano.

El conocimiento de una pesquería de una especie sometida a extracción es de vital importancia porque permite determinar como la presión de pesca está influyendo en el recurso, aspecto muy importante para su regulación y evitar así su sobreexplotación, así mismo conocer esta pesquería nos va a permitir hacer sostenible la pesquería de este recurso a través del tiempo, permitiendo una óptima gestión de la pesquería de este recurso. La finalidad de esta investigación es aportar al conocimiento de la pesquería artesanal de esta especie, determinando las zonas de pesca, sus desembarques por arte de pesca, embarcaciones y sus variaciones a través del tiempo.

2. MATERIAL Y METODOS

La zona de muestreo fue puerto Casma, ubicado en 78°22'57" Longitud Oeste y 9°27'49" Latitud Sur (Fig. 1). La información sobre los desembarques procede de los anuarios estadísticos del Ministerio de la Producción y del Instituto del Mar del Perú (IMARPE). Se realizaron viajes a puerto Casma para obtener información sobre las zonas de pesca y embarcaciones. La información fue procesada utilizando una hoja de cálculo del programa computacional Excel, analizándose los desembarques anuales y estacionales del recurso, los desembarques por arte de pesca y por embarcación a través del periodo 2010 – 2015.



Fig. 1. Ubicación de Puerto Casma, provincia de Casma, departamento de Ancash. (<https://www.google.com/search?rlz=1C1CHBF>).

3. RESULTADOS

Las zonas de pesca de pesca de puerto Casma durante el quinquenio 2010-2015 fueron 33, siendo más importantes por sus desembarques Isla Blanca con 53 301 kg, seguido de Isla Tortugas, La Lobería, Cajero, Mongón, El frío y el Arco. Las zonas con menos desembarques fueron el Pedregal, Islote la Viuda, la Pampa, Salitre e Isla la viuda con valores que fluctuaron entre 25 y 2 kg (Fig. 2).

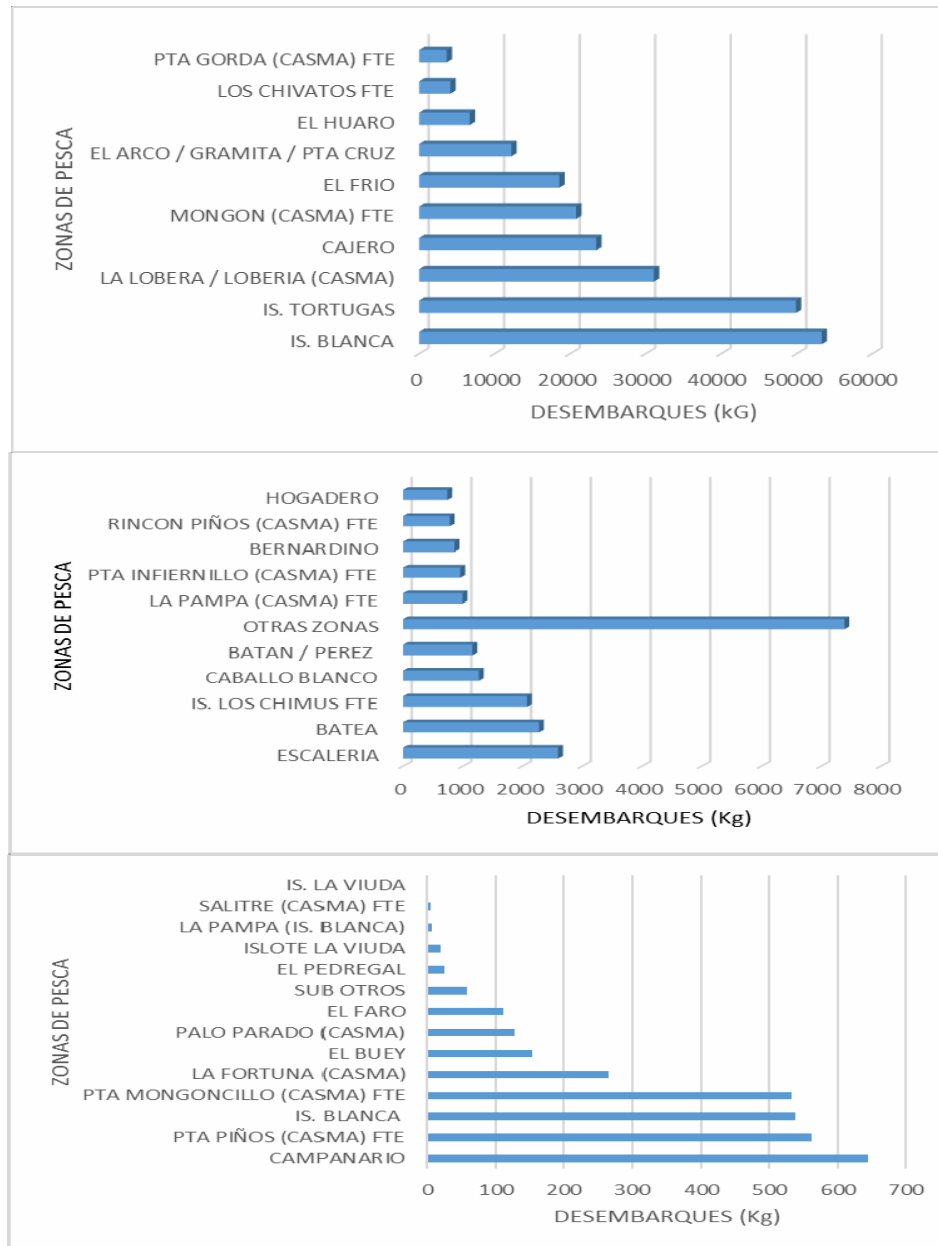


Fig. 2. Desembarques por zona de pesca de *Isacia conceptionis* “cabinza” en puerto Casma, provincia de Casma, Región Ancash, 2010 – 2015

Las principales embarcaciones que operaron en puerto Casma, para el periodo de estudio, fueron lanchas con una capacidad de bodega comprendida entre 6 a 12, los botes entre 1 a 5, y las chalanas entre 0,7 a 0,8 toneladas, de las cuales los botes fueron los que tuvieron mayores desembarques, los cuales variaron entre 13 862 y 40 777 kilogramos, seguido de las lanchas que desembarcaron entre 233 y 32 099 kg y las chalanas cuyo aporte fue entre 24 y 90 kg (Tabla 1).

Las artes de pesca que aportaron mayores desembarques fueron las redes de cerco y las cortinas o agalleras con valores que estuvieron entre los 180 710 y 6 157 kg respectivamente, para los botes, las lanchas aportaron con 51 766 Kg con la red de cerco y 3 Kg con red cortina y las chalanas con la red cortina aportaron 353 kg (Tabla 1).

El aparejo de pesca de pesca utilizado en la pesquería de esta especie fue la línea de mano, con la cual ejecutan la denominada pesca a la pinta, cuya actividad lo realizaron solo los botes y las chalanas, con un desembarque total para el periodo de 1 409 y 6 kg respectivamente (Tabla 1).

Los desembarques anuales de esta especie muestran una disminución entre el año 2010 y 2011; luego hasta el año 2013 se observa un ligero aumento, no significativo en los desembarques, sin embargo, en el 2014 los desembarques disminuyen significativamente hasta 14 147 Kg, seguido de un proceso de recuperación de los desembarques de este recurso los cuales llegaron a los 75 872 Kg, superando al año 2010 que fue de 50 336 Kg. (Fig. 3).

Los botes fueron las embarcaciones más frecuentes en la pesquería de este recurso, con un número de 353 para el año 2010 y 194 para el año 2014, seguido de las lanchas que tuvieron entre 6 a 28 viajes y las chalanas entre 4 y 12 viajes, observándose una disminución de su frecuencia de pesca, desde el año 2010 al 2014, incrementándose para el año 2015 (Fig. 4).

En el 2010, 2014 y 2015 en la estación de primavera se obtuvieron los mayores desembarques, con 23 918, 7 032 y 47 870 Kg respectivamente, mientras que, en los años 2011, 2012 y 2013 fue la estación de verano la que aportó con los mayores desembarques con valores entre 17 186, 19 570 y 14 163 kg, mientras que los menores desembarques se obtuvieron en las estaciones de otoño e invierno (Fig. 5).

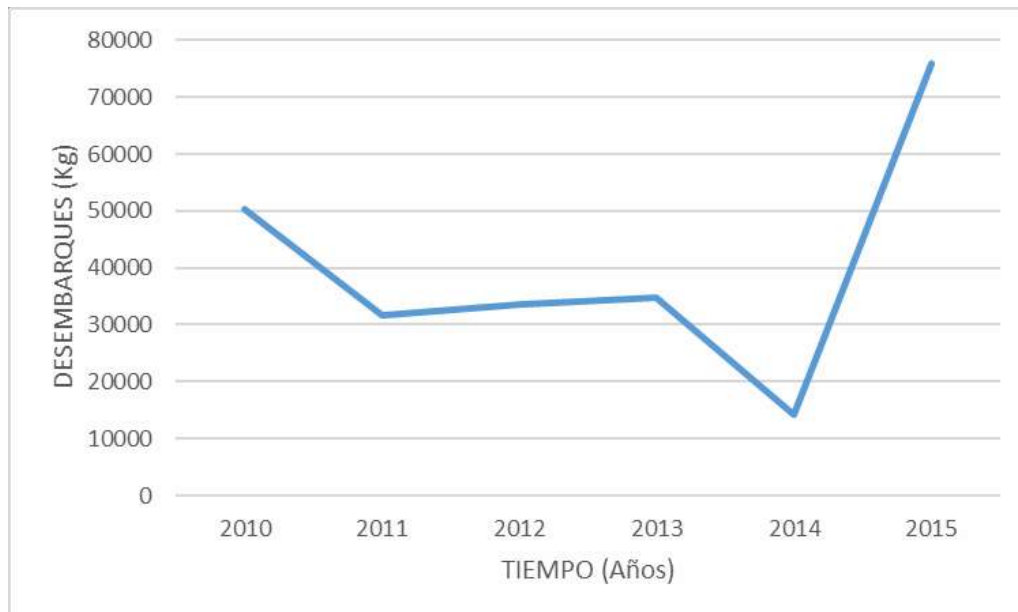


Fig. 3. Variación anual de los desembarques de *Isacia conceptionis* "cabinza" en puerto Casma, provincia de Casma, departamento de Ancash, 2010 – 2015.

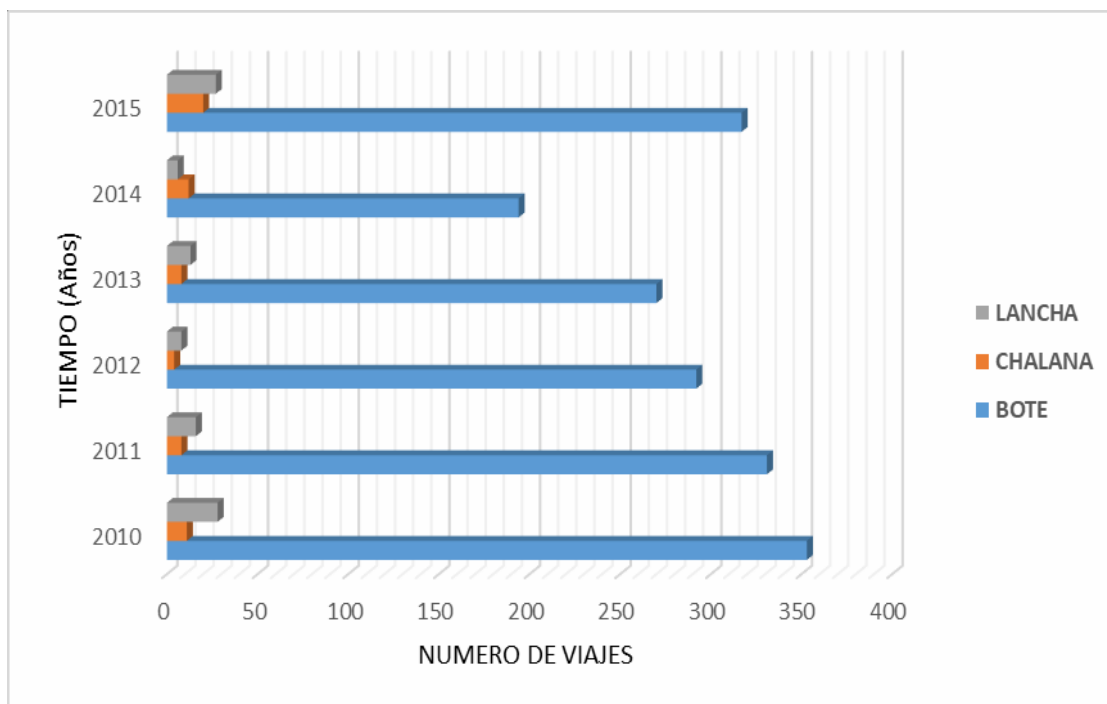


Fig. 4. Número de viajes por embarcación de *Isacia conceptionis* “cabinza” en puerto Casma, provincia de Casma, departamento de Ancash, 2010 – 2015.

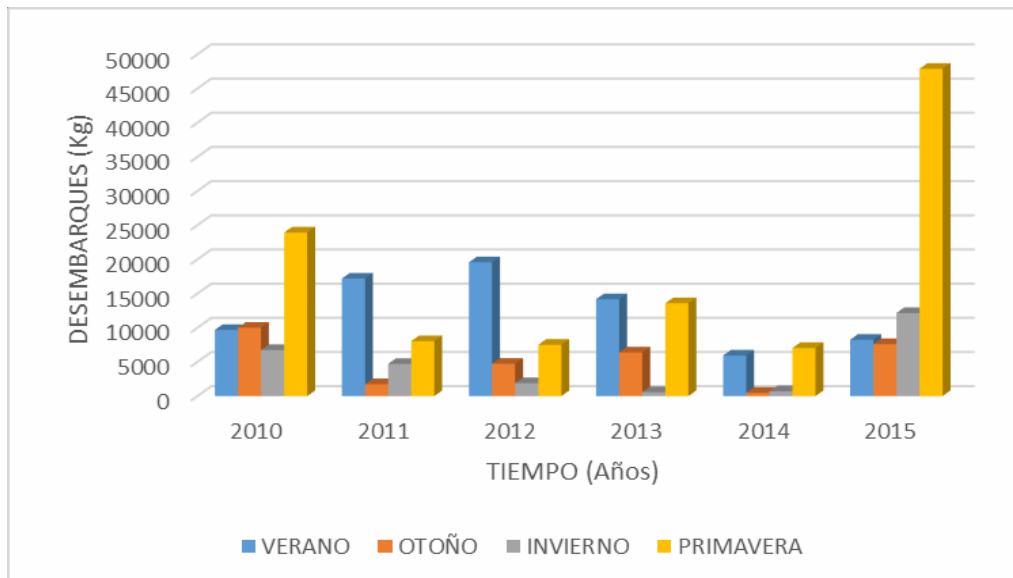


Fig. 5. Variación estacional de los desembarques de *Isacia conceptionis* “cabinza” en puerto Casma, provincia de Casma, departamento de Ancash, 2010 – 2015.

Los desembarques totales por estación durante los años 2010 al 2015 muestran que los mayores desembarques se dieron en las estaciones de primavera y verano, seguido del otoño e invierno con 74 773, 30 913, 26 793 y 107 933 Kg de desembarque respectivamente (Fig. 6).

En la estación de verano se observa que los desembarques a partir del 2010 tienden a incrementarse hasta el 2012, luego descienden hasta el 2014, en la estación de invierno la tendencia indica un decremento de los desembarques hasta el 2014, algo similar ocurre en el otoño, con ligero incremento en el 2012 hasta el 2013, luego al igual que las otras estaciones tiende a disminuir al año 2014, en la primavera se observa una disminución en los desembarques hasta el 2014 con un incremento en el año 2013, sin embargo a partir del año 2014 al 2015 en todas las estaciones se observa un incremento en el desembarque, siendo más significativo en la estación de primavera (Fig. 7).

Tabla 1: Desembarques de *Isacia conceptionis* “cabinza”, por embarcación, artes y aparejos de pesca en puerto Casma, provincia de Casma, departamento de Ancash, 2010 – 2015.

TIEMPO	BOTE			TOTAL BOTE	CHALANA		TOTAL CHALANA	LANCHA		TOTAL LANCHAS	TOTAL
	CERCO	CORTINA / AGALLERA	PINTA		CORTINA/ AGALLERA	PINTA		CERCO	CORTINA / AGALLERA		
2010	38594	1069	1114	40777	76	2	78	9481	0	9481	50336
2011	24898	846	192	25936	47	4	51	5674	0	5674	31661
2012	30797	674	6	31477	24	0	24	2204	0	2204	33705
2013	31574	982	3	32559	64	0	64	2078	0	2078	34701
2014	12603	1259	0	13862	52	0	52	230	3	223	14147
2015	42252	1327	94	43673	90	0	90	32099	0	32099	75862
TOTALES	180718	6157	1409	188284	353	6	359	51766	3	51759	240412

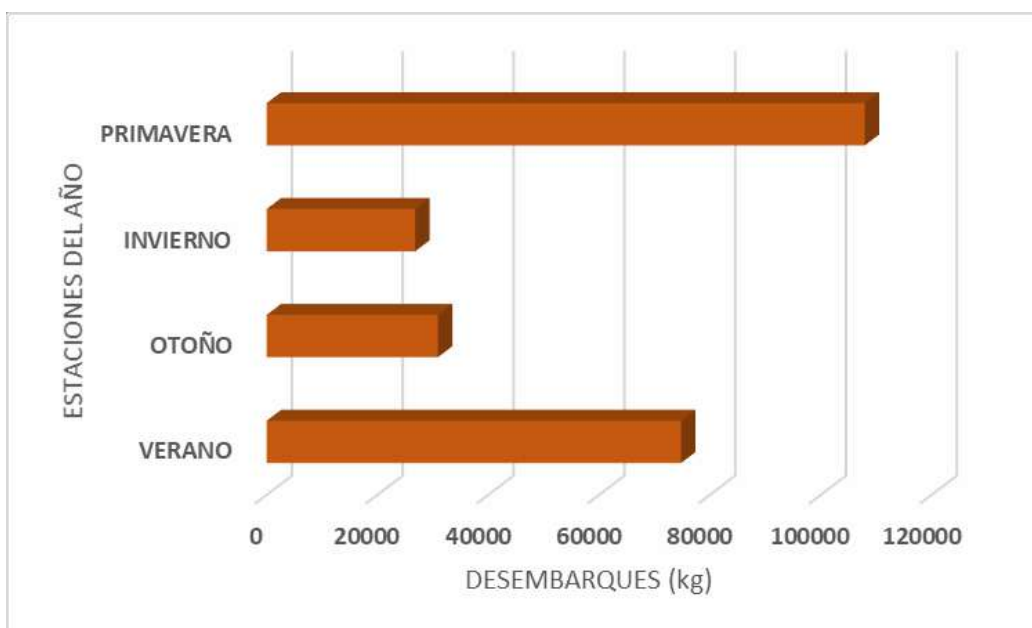


Fig. 6. Desembarques totales por estación de *Isacia conceptionis* "cabinza" en puerto Casma, provincia de Casma, departamento de Ancash, 2010 – 2015.

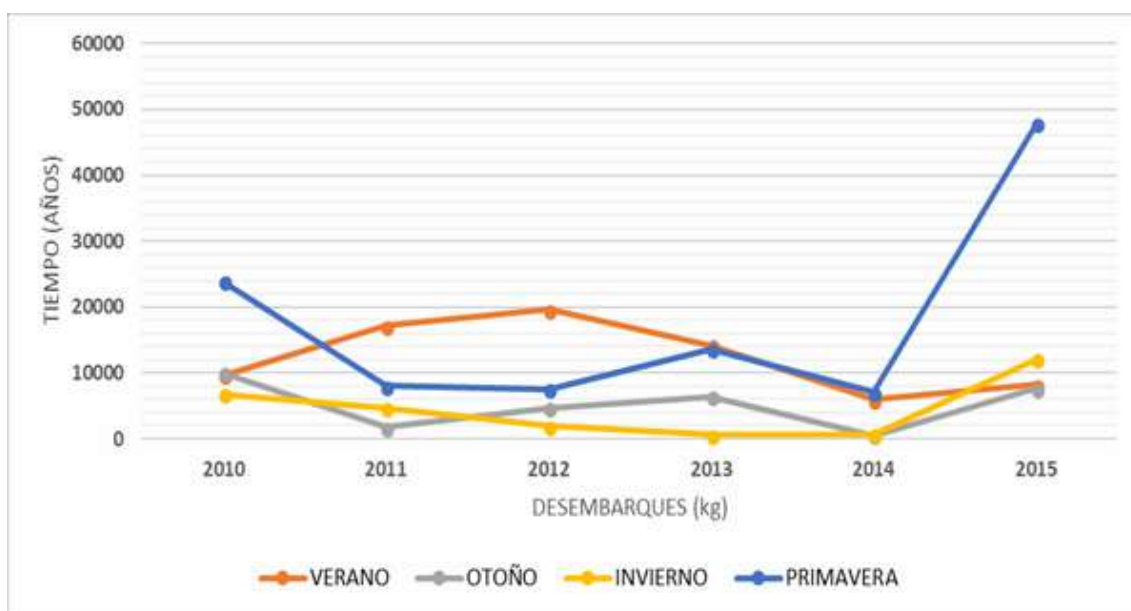


Fig. 7. Desembarques anuales estacionales de *Isacia conceptionis* "cabinza" en puerto Casma, provincia de Casma, departamento de Ancash, 2010 – 2015.

4. DISCUSIÓN

La pesquería artesanal es una actividad que se realiza a lo largo del litoral peruano, González (2001) señala que esta actividad se caracteriza por la diversidad de flotas, de especies y de pescadores, así mismo señala que la pesquería de *Isacia conceptionis* “cabinza” se realiza básicamente por la flota artesanal y para abastecer el consumo humano directo, esto coincide con lo reportado, pues la especie en puerto Casma es capturado por embarcaciones artesanales como lanchas, botes y chalanas y la captura es destinada para el consumo humano directo.

González (2001) indica que la pesquería principal de este recurso se encuentra en Callao, Pisco e Ilo, sin embargo, Berrú et al, (2005) señalan que de 40 especies de peces comerciales identificados en puerto Casma, esta especie ocupa el sexto lugar por sus desembarques con 25 534 Kg, y si tenemos en cuenta que a través de los años los desembarques han ido incrementándose hasta 72 862 Kg en el 2015, esto nos indica que es un recurso que sustenta la pesquería artesanal en este puerto.

Las zonas de pesca con mayores desembarques en puerto Casma, según Berrú et al, (2005), fueron Bernardino, Bahía Casma, Lobería, Cajero, Punta Piñas Isla Blanca, Infiernillo, el Arco, Batán y Pérez, esto difiere en parte porque para el periodo 2010 – 2015 se determinó que las zonas con mayores desembarques fueron Isla Blanca, Isla Tortugas, manteniéndose Lobería, Cajero, y el Arco, esto se debe a la disponibilidad del recurso en el ambiente y probablemente a que en lo señalado por Berrú et al, (2005) la captura de este recurso solo se hacía con botes y chalanas y no con lanchas como se reporta en esta investigación.

Las embarcaciones que capturan actualmente este recurso en puerto Casma son las lanchas, botes y chalanas, sin embargo, Berrú et al, (2005) manifiestan que la captura se realizaba con chalanas y botes, lo cual nos indica la incorporación de lanchas a esta pesquería, sin embargo, sus aportes en los desembarques son menores que los botes, pese a tener mayor poder de pesca que éstos, lo cual se debe a que no son muy frecuentes en la actividad pesquera.

Las faenas de pesca en puerto Casma se realiza con redes de cerco, cortina y pinta, esto coincide con lo reportado con González (2001) pero indica, además, que también se emplea las redes de arrastre, sin embargo, se coincide en parte con Berrú et al, (2005) quienes mencionan que para capturar esta especie utilizan la red cortina y el bolichito. Así mismo IMARPE (2000) indica que la red cortina, denominada también agallera, es uno de los artes de pesca más usado en el litoral peruano.

Salazar et al, (2014) indican que, entre los artes de pesca más utilizados por los pescadores artesanales, según el censo 2012, realizado por el INEI, son las redes de enmalle o cortina en un 31, 1% y que particularmente los pescadores que utilizan redes de enmalle para la captura de recursos costeros, operan dentro de la franja costera de las 2 millas náuticas.

Los desembarques muestran una tendencia a disminuir o aumentar a través del tiempo, esto coincide con lo reportado por González (2001) que el análisis histórico de las capturas de esta especie indica una tendencia fluctuante con características de incremento o disminución antes, durante o después de cada evento cálido o frío en función a la intensidad de estos eventos.

Los mayores desembarques obtenidos en primavera y verano nos indica que esta especie prefiere las aguas cálidas, esto es corroborado con González (2001) que señala que los volúmenes de extracción más altos se registraron justamente durante la ocurrencia de los eventos El Niño, lo que favorece el incremento de núcleos poblacionales accesible a la pesca artesanal con cerco y cortina, así mismo indica que al analizar la estacionalidad de las capturas determino que la estación de primavera presenta la mayor captura de esta especie, seguida de la estación de verano.

5. CONCLUSIONES

Las zonas de pesca en puerto Casma fueron 33, siendo las más importantes por su desembarque Isla Blanca con 53 301 Kg, seguido de Isla Tortugas, La Lobería, Cajero, Mongón, El frío y el Arco.

Las embarcaciones dedicadas a la extracción de *Isacia conceptionis* "cabinza" fueron lanchas, botes y chalanas, siendo los más frecuentes los botes.

Los artes y aparejos de pesca utilizados estuvieron conformados por redes cortina, cerco y pinta.

Los mayores desembarques se obtuvieron en las estaciones de primavera y verano.

Los desembarques muestran una tendencia a disminuir incrementándose significativamente en el año 2015.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ángel, A. y Ojeda, F.P., 2001. "Structure and trophic organization of subtidal fish assemblages on the northern Chilean coast: the effect of habitat complexity". Marine Ecology Progress Series 217: 81-91.
2. Berrú, P., A. Tresierra, V. García, C. Cervantes y N. Domínguez. 2005. 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). Informe Parcial. Laboratorio Costero de Chimbote. Instituto del Mar del Perú. Disponible en: <http://epic.awi.de/28590/1/Ber2005g.pdf>
3. Chirichigno, N. y M. Vélez. 1998. Clave para identificar los peces marinos del Perú. 2da edic. Instituto del Mar del Perú. Publicación Especial. 496 pp.
4. FAO. 2003. [En línea]. Resumen informativo sobre la pesca por países. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [Accesado 20/10/2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/fi/oldsite/FCP/es/PER/prolife.htm>.
5. FAO. 2010. [En línea]. Perfiles sobre la pesca y la acuicultura por países. Visión general del sector pesquero nacional del Perú. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [Accesado 18/11/2016]. Disponible en: ftp://ftp.fao.org/FI/DOCUMENT/fcp/es/FI_CP_PE.pdf.
6. González, A. 2001. Contribución al conocimiento pesquero y biológico de cinco peces costeros de importancia comercial en el Perú: cabinza, lisa, lorna, machete y pejerrey. Periodo 1996 – 2000. Instituto del Mar del Perú. Informe Progresivo N°136. 3 – 46. Enero.2001.
7. IMARPE, 2000. En línea. Informe de seguimiento de pesquerías. [Accesado 15/04/2018] Disponible en: <http://www.imarpe.gob.pe/Pagina%20Web%20Chimbote/informe%20seguimiento%20de%20pesquería%202000.htm>.
8. IMARPE. 2009. Anuario científico y tecnológico IMARPE. Vol 9, enero – diciembre, 2006. Instituto del Mar del Perú (ISSN 1813 – 2013). Callao – Perú.
9. Richter, F. 2007. Estado situacional y Proyecciones de Pesca Artesanal del Perú. PRODUCE. <http://www.produce.gob.pe>.
10. Salazar, M. 2001. Programa de capacitación y desarrollo de la investigación pesquera con participación directa del pescador artesanal. <http://www.imarpe.gob.pe>.
11. Salazar, C., G. Chacón, F. Ganoza, J. Alarcón y W. Marín. 2014. Informe Final Evaluación del Tamaño de Malla en las Redes de Enmalle (Cortina) de las Principales Pesquerías Costeras del Litoral Peruano. Accesado el 18 de junio del 2018. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=informe+final+evaluacion+del+tama%c3%91o+de+malla&oq=informe+final++evaluacion+del+tama%c3%91o+de+malla&aqs=chrome..69i57j33.30356j0j4&sourceid=chrome&ie=utf-8>
12. Tresierra, A.; Z. Culquichicón y B. Veneros. 2014 Manual de Biología Pesquera. Edit Nuevo Norte. 345 pp

Artículo Original

Contaminación parasítica de hortalizas de consumo humano expandidas en mercados de Trujillo, Perú

Parasitic contamination of vegetables for human consumption sold in markets of Trujillo, Perú

Diana Benites-Salcedo¹, Cristhina Castillo-Valdivieso¹ y *César Jara-Campos²

¹Bach. Ciencias Biológicas. ²Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.

*Autor para correspondencia: cjara@unitru.edu.pe

Recibido: 20 de Abril, 2019 Aceptado: 22 de Julio, 2019

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos mantienen su vigencia como entidades nosológicas en salud pública en diferentes partes del mundo; sin embargo, las especies de agente infectante, entre ellos los parásitos, varían respecto del lugar y época del estudio. El objetivo de la presente investigación fue determinar la contaminación parasítica de hortalizas de consumo humano que se expenden en los mercados Mayorista, Hermelinda y Central de la ciudad de Trujillo, Perú, entre julio y setiembre del 2018. Se evaluaron 120 muestras correspondientes a cuatro especies de hortalizas, *Lactuca sativa* "lechuga" (30), *Apium graveolens* "apio" (30), *Allium fistulosum* "cebolla china" (30) y *Coriandrum sativum* "culantro" (30), obtenidas en los puestos en forma no aleatoria. Las muestras fueron lavadas con agua destilada y el producto se filtró y sedimentó por 24 h. El sedimento se procesó mediante la técnica de Sheather y se analizó microscópicamente. El 56,7 % de las muestras presentaron contaminación con una o más especies de parásitos intestinales, y la lechuga (36.8%) fue la hortaliza con mayor contaminación parasítica, así como los mercados Mayorista (72.5%) y La Hermelinda (62.5%). Los parásitos identificados con sus respectivas frecuencias fueron: *Blastocystis* sp. 41,2%; *Giardia* sp. 22,1%; *Toxocara* sp. 13,2%; *Ascaris lumbricoides*. 11,8%, y *Entamoeba coli*. 10,2%. Se concluye que la lechuga, el apio, el culantro y la cebolla china que se expenden en los principales mercados de abastos de Trujillo presentan elevada contaminación parasítica (56.7%) con una o más especies de protozoarios y helmintos intestinales, sindicados como causantes de cuadros clínicos en el hospedero humano.

Palabras clave: Alimentos, contaminación, enteroparásitos, hortalizas.

ABSTRACT

Foodborne diseases maintain their validity as nosological entities in public health in different parts of the world; however, the species of infecting agent, among them the parasites, transmitted vary with respect to the place and time of study. The objective of the present investigation was to determine the parasitic contamination of vegetables of human consumption that are sold in the markets, Mayorista, Hermelinda and Central of the city of Trujillo (Peru), between July and September of 2018. It was evaluated 120 samples corresponding to four vegetable species, *Lactuca sativa* "lettuce" (30), *Apium graveolens* "celery" (30), *Allium fistulosum* "chinese onion" (30) and *Coriandrum sativum* "culantro" (30), obtained in the stalls (non-randomized sample). The samples were washing with distilled water, and left in spontaneous sedimentation for 24 hours. The sediment was processed by Sheather technique and analyzed microscopically. 56.67% of the samples presented contamination with one or more species of intestinal parasites and the lettuce was the vegetable with the highest parasitic contamination. The parasites identified with their respective frequencies were: *Blastocystis* sp. 41.18%; *Giardia* sp. 22.05%; *Toxocara* sp. 13.24%; *Ascaris lumbricoides*. 17.77%; and *Entamoeba coli*. 10.23%. It is concluded that the lettuce, celery, cilantro and Chinese onion that are sold in the main markets of Trujillo supply have parasitic contamination with one or more species protozoan and/or helminthes parasites indicated as causing clinical symptoms in the human host.

Keywords: contamination, enteroparasites, foods, vegetables.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos mantienen su vigencia como entidades nosológicas perjudiciales siendo la mayor causa de morbilidad a nivel mundial (Mohamed et al, 2016). Dentro de los alimentos que forman parte de una dieta saludable se encuentran las hortalizas que se contaminan con agentes infecciosos en todo el proceso, desde la plantación hasta el consumo; se sabe que quistes de protozoarios, huevos y larvas de helmintos pueden ser adquiridos por consumo de estos vegetales, crudos o con deficiente cocción y salubridad (Bekele et al, 2017), y que, incluso, se han producido brotes de infecciones por parásitos intestinales epidemiológicamente asociados al consumo de hortalizas tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (Rea et al, 2004; Devera et al, 2006; Camargo y Campuzano, 2006; Muñoz y Laura, 20087; García et al, 2011; Tram y Dalsgard, 2014; Anuar et al, 2014; Da Silva et al, 2014; Polo et al, 2016; Loganathan et al, 2016; Mehrnejat et al, 2018).

Según Espejo-Ramos (2014) y Quispe-Juli (2016) en el Perú, las infecciones por protozoarios y helmintos intestinales son de elevada frecuencia tal como lo demuestran trabajos recientes, aspecto que se relaciona con los bajos niveles de vida, malos hábitos higiénico alimentarios y poca disponibilidad de infraestructura sanitaria adecuada; al mismo tiempo, la venta de hortalizas de consumo humano son expandidas con serias deficiencias higiénicas, tales como, en puestos improvisados, expuestos a vectores y otros contaminantes y los vendedores no utilizan guantes ni bolsas de primer uso. Sin embargo, son pocos los estudios realizados sobre contaminación parasítica de estos alimentos; se sabe que en Ica, se analizaron 165 especímenes de verduras de 11 especies diferentes y se encontraron contaminadas el 93,9% con elevadas frecuencias de *Entamoeba coli* y *Giardia lamblia* (Villanueva y Silva, 1990); en Lima, se determinó que el 12.4% de lechugas investigadas presentaban alguna especie de parásito intestinal (Tananta et al, 2004; Palacios, 2010) y en Tacna, también se investigó en lechuga expandida en comedores populares, restaurantes, cebicherías, pollerías y sandwicherías y se hallaron formas parasitarias en 46,6% de las cuales *E. coli*, con 56.4%, presentó la mayor prevalencia (Castro, 2011). En Trujillo se carece de información de esta naturaleza, el único antecedente da cuenta del hallazgo de *Fasciola hepatica* en el 18.1% de lechugas de mercados del distrito La Esperanza, y de *Ascaris lumbricoides* en el 18.2% de culantro y *G. lamblia* en el 15.0% de cebollitas chinas de mercados del distrito El Porvenir (Pérez-Codon et al, 2008).

Teniendo en cuenta que las bondades alimenticias de las hortalizas están plenamente establecidas y que la venta de estos vegetales es higiénicamente deficiente en Trujillo, resulta importante realizar estudios que permitan recolectar datos epidemiológicos sobre la presencia de parásitos en hortalizas. En este informe se presentan los resultados de una investigación dirigida a determinar el porcentaje de especímenes de *Lactuca sativa* “lechuga”, *Coriandrum sativum* “culantro”, *Apium graveolens* “apio” y *A. fistulosum* “cebolla china” que se expenden en los mercados Mayorista, Hermelinda y Central de la ciudad de Trujillo, Perú contaminados con formas parasitarias de protozoarios y helmintos intestinales del hombre, entre julio y setiembre del 2018.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio:

La investigación se llevó a cabo en la ciudad de Trujillo, capital de la provincia del mismo nombre, en la Región La Libertad (Perú), con una extensión de 1769 Km² (8°06'43" LS, 79°01'44"LO). Trujillo Metropolitano, el núcleo, tiene una población de 962,329 habitantes cuya actividad económica es diversa. Esta metrópoli presenta, en promedio, una altitud de 34 msnm y se halla ubicada al margen derecho del río Moche que irriga el valle Santa Catalina, al borde del Océano Pacífico (www.inei.gob.pe/estadísticas/censos). Trujillo, como otras metrópolis presenta diversos centros de expendio de alimentos y verduras, de ellos, los que presentan los mayores volúmenes de venta son el “Mercado Central” (ubicado en el centro), el mercado “Mayorista” (ubicado en la zona sur) y el mercado “La Hermelinda” (ubicado en la zona norte) (Fig. 1).

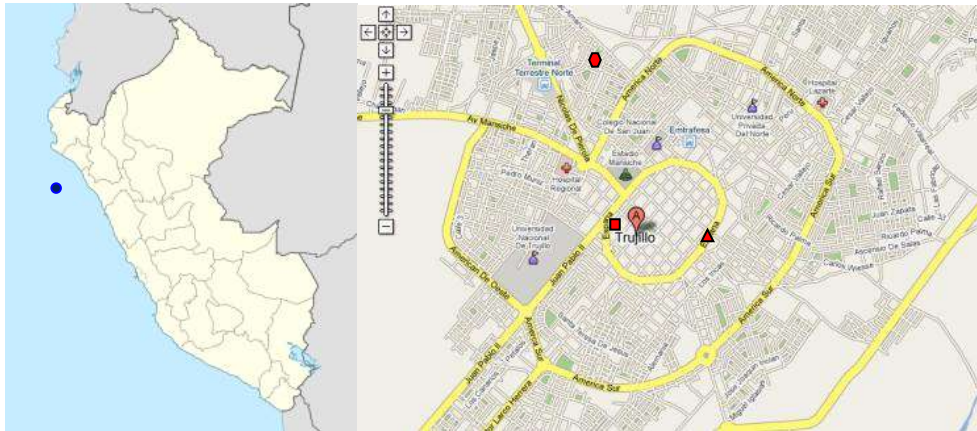


Fig. 1. Ubicación de la zona de estudio. Izquierda, ubicación de Trujillo en el Perú (); derecha, ubicación del mercado Central (●), mercado Mayorista (■) y mercado La Hermelinda (▲) en la ciudad de Trujillo

2.3. Obtención de vegetales:

El material biológico estuvo constituido por 120 muestras: 30 de cada una de las cuatro especies de hortalizas: *L. sativa* “lechuga”, *A. fistulosum* “cebolla china”, *C. sativum* “culantro” y *A. graveolens* “apio”, que son de gran consumo en forma cruda, tanto en la mesa popular como en restaurantes y vendidas diariamente en todos los mercados. Estas hortalizas proceden de áreas cultivadas de los distritos de Simbal, Laredo y Poroto (distritos agrícolas aledaños a Trujillo, en la misma provincia) y fueron recolectadas en los puestos de venta (sección verduras) de los mercados Mayorista, Hermelinda y Central de la ciudad de Trujillo, entre julio y setiembre del 2018. Cada muestra consistente en dos ejemplares de lechuga, dos atados de cebolla china, dos atados de culantro y dos “varas” de apio, fue colocada en una bolsa plástica transparente de primer uso, las cuales fueron numeradas y clasificadas con nombre de la especie, fecha y lugar obtenido (Tram y Dalsgaard, 2014; Mohamed et al, 2016; Bekele et al, 2017; Mehrnejat, 2018).

2.4. Evaluación de vegetales:

El material biológico colectado fue transportado en cooler conteniendo paquetes de hielo en la base para mantener el frío, al laboratorio de Helmintología Parasitaria de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, para su respectivo análisis. Este consistió en clasificar para la investigación a las que estuvieron intactas, lozanas y sin muestras de estar contaminadas por hongos (Camargo y Campuzano, 2006; Polo et al, 2016).

Las muestras clasificadas fueron colocadas en bandejas de plástico para pesar 200 g: para el caso de la lechuga de las hojas y para las demás tanto hojas como tallo, estas cantidades fueron colocadas, individualmente, en probetas de 1 L conteniendo 500 mL de solución salina fisiológica isotónica estéril durante 15 min. Luego, se agitó vigorosamente durante 10 min y se dejó sedimentar durante toda la noche hasta el día siguiente. En seguida, se eliminó a los vegetales, se decantó el líquido hasta retener 50 mL que fue filtrado a través de una gasa doblada en cuatro con un poro entre 400 y 600 micrómetros, sobre tubos serigráficos de punta cónica de 50 mL y se dejó en reposo durante 4 h para su concentración por sedimentación espontánea (Palacios, 2010; García et al, 2011; Loganathan et al, 2016).

2.5. Determinación de quistes de protozoarios y huevos de helmintos intestinales

El sedimento de la parte cónica del tubo serigráfico (aproximadamente 2 mL) fue trasladado utilizando pipetas de vidrio estériles a tubos de centrifuga para ser procesadas mediante la técnica de Ritchie, según lo propuesto por el Instituto Nacional de Salud del Perú; del sedimento del tubo de centrifuga se extrajo una muestra para cada una de dos láminas por tubo para su análisis microscópico en busca de formas

parasitarias (Beltran et al, 2003; Sena et al, 2010). La identificación de las formas parasitarias se hizo en base a la morfología y contenido de los quistes de protozoarios y huevos de helmintos, con ayuda del Manual propuesto por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2000).

2.6. Análisis Estadístico

Se aplicó un análisis estadístico descriptivo para la construcción de las frecuencias, luego, se aplicó el análisis Ji cuadrado (con una probabilidad de 95%) para determinar la asociación entre los resultados obtenidos de los porcentajes de contaminación parasitaria y los mercados de expendio de estas, utilizando un programa SPSS.v20 para Windows.

3. RESULTADOS

Se encontró que el 56,7% fueron positivas a una o más especies de protozoarios y/o helmintos intestinales del hombre, asimismo, que las hortalizas procedentes del mercado Mayorista (72,5%-29/40) y mercado La Hermelinda (67,5%-25/40) presentaron mayor contaminación parasítica ($p=0.019$) que las obtenidas en el Central (35,0% - 14/40). De ambos grupos de parásitos, los protozoarios (75,4%) presentaron las mayores frecuencias parasitarias.

Blastocystis sp. (41,2%) fue la especie de protozoario que presentó la mayor prevalencia y *Toxocara* sp. (13,2%) el helminto; esta misma tendencia se apreció cuando se examinaron las frecuencias parasitarias en los mercados del Mayorista, Hermelinda y Central estudiadas (Tabla 1). La lechuga fue la hortaliza que presentó mayor porcentaje de contaminación parasitaria (36,8%), seguida del apio (27.9%) y el culantro (26.5%) y la cebolla china (22.1%) el menor porcentaje.

Tabla 1. Contaminación parasítica por especie de protozoario y helmintos intestinal en tres mercados de abastos de la ciudad de la ciudad de Trujillo (La Libertad, Perú). Periodo julio-setiembre 2018.

Mercado	Mayorista	La Hermelina	Central
Parasito	29/40	(25/40)	(14/40)
Protozoario			
<i>Blastocystis</i> sp.	37.9	48.0	35.7
<i>Giardia</i> sp.	20.7	24.0	21.4
<i>Entamoeba coli</i> .	17.2	04.0	14.3
Helminto			
<i>Toxocara</i> sp.	13.8	08.0	14.3
<i>Ascaris lumbricoides</i>	20.7	08.0	00.0

(/): Número de muestras positivas/total por mercado

4. DISCUSIÓN

La transmisión de enfermedades infecciosas a través del consumo de alimentos adquiere cada vez mayor importancia para la salud (Anuar et al, 2014). Esta afirmación ha sido corroborada en la presente investigación en la cual se detectó un alto porcentaje (56,7%) de hortalizas contaminadas con una o más especies de protozoarios y helmintos intestinales, parásitos del hombre, la mayoría de ellas consideradas causantes de cuadros digestivos patológicos (Anuar et al, 2014). Estos resultados son semejantes a los proporcionados por otras investigaciones en tres ciudades del Perú: Ica, Lima y Tacna, donde hallaron también altos porcentajes de contaminación parasítica, en algunas de ellas superiores al 85% (Villanueva y Silva, 1990; Espejo-Ramos, 2014; Quispe-Juli, 2016). Esto podría deberse a que muchas de las hortalizas son de dudosa procedencia y no se les aplica buenas prácticas agrícolas como el riego con aguas servidas, uso de materia fecal animal como abono, condiciones higiénicas deficientes de los trabajadores o letrinas próximas al lugar de cultivo, todo esto puede ser agravado por una manipulación inadecuada por parte de los comerciantes; exponiendo a los consumidores a contraer diferentes enfermedades, sobre todo a los niños, ancianos y a personas inmunosuprimidas. Al mismo tiempo, en otros países también se han registrado elevadas frecuencias de contaminación parasitaria de vegetales frescos, dentro de ellos las hortalizas para consumo humano (Devera et al, 2006; García et al, 2011; Mehrnrjat et al, 2016).

El número de especies de protozoarios parásitos intestinales del hombre es similar al número de especies de helmintos; sin embargo, su característica de ser organismos unicelulares, con ciclos simples sin necesidad de huéspedes intermediarios, con rápida reproducción y con formas resistentes en el medio externo (los quistes) los convierte en organismos más numerosos y abundantes en todos los ambientes, incluyendo los

alimentos (Perez-Codon et al, 2008; Gonzales et al, 2015). Si a esto se agrega su tamaño pequeño que los hace fácilmente transmisibles por diversos mecanismos, es de esperar que las verduras de consumo humano con deficiencias higiénicas en su manejo, presenten mayor frecuencia de contaminación por protozoarios que por helmintos. Esto fue lo que se encontró en la presente investigación, resultados que difieren a los obtenidos en Pasto, Colombia (Muñoz y Laura, 2011) y en Trujillo, Perú (Perez-Codon et al, 2008), donde se detectaron mayor número de especies de enteroparásitos (aunque siempre mayor número de protozoarios): ocho de protozoarios: *Blastocystis* sp., *Endolimax nana*, *E. coli*, *E. histolytica*, *I. bütschlii*, *G. lamblia*/*G. intestinalis*, *B. coli*, *Chilomastix mesnili* y tres helmintos: *A. lumbricoides*, *Ancylostoma* sp. y *Strongyloides* sp.

Blastocystis sp. es el protozoario con la más alta frecuencia de parasitación en la población infantil en la última década (Quispe-Juli, 2016). Esto quiere decir que, si la fuente de contaminación de las verduras de consumo humano son las heces fecales del hombre y animales, es de esperar que el protozoario más frecuente también esté ampliamente distribuido. En efecto, en los tres mercados estudiados *Blastocystis* sp. se presenta con el mayor porcentaje que los demás, con la excepción de lo observado en el mercado Mayorista donde *A. lumbricoides* aparece con el mayor porcentaje (21%). La presencia del helminto *A. lumbricoides* en el mercado Mayorista, podría explicarse principalmente por el largo periodo de duración de los huevos fecundados (varios años), el elevado número producido/parásito y las pobres condiciones socioeconómicas que facilitan su diseminación (Rea et al, 2004; Muñoz y Laura, 2008; Mehrnejat et al, 2018).

Los mercados Mayorista y La Hermelinda presentan características similares de contaminación parasitaria, esta situación probablemente se debe a que ambos son abastecidos con productos de similar calidad y procedencia, mientras que el mercado Central la carga parasitaria es menor debido a que los comerciantes venden hortalizas lavadas, además cada puesto de venta se encuentra dentro del establecimiento, evitándose de esta forma una mayor contaminación. Podría asegurarse, entonces, que la contaminación de las verduras puede mantenerse o incluso incrementar no solamente en el proceso de su producción, sino también al momento de su comercialización, ya que, por una inadecuada manipulación de los alimentos, o malas prácticas de higiene en general se favorece la infección enteroparasitaria por la ruta fecal-oral (Castro, 2011; González et al, 2015).

Además del protozoario *Blastocystis* sp. se encontró elevados porcentajes de quistes de *Giardia* sp. en las muestras de hortalizas expandidas en los mercados del Mayorista, Hermelinda y Central de Trujillo. *Giardia* sp. es un parásito que frecuentemente se encuentra contaminando los alimentos, vegetales como las hortalizas, reservorios de aguas, etc y además es muy común encontrarlo en lugares de climas cálidos. Este ocasiona diarrea y malabsorción intestinal en niños y adultos (González et al, 2015). Puede pensarse que su elevada frecuencia se debe a inadecuadas prácticas agrícolas en la provincia de Trujillo y por lo mismo debería realizarse esfuerzos para erradicar o minimizar el uso de aguas residuales para riego, así como también la manipulación del producto en los centros de expendio (Espejo-Ramos, 2014; Quispe-Juli, 2016). Este protozoario ha sido registrado en casi todas las investigaciones efectuadas en hortalizas para consumo humano, tanto en países orientales (Anuar et al, 2014; Polo et al, 2016; Mohamed et al, 2016) como sudamericanos (Rea et al, 2004; Camargo y Campuzano, 2006; García et al, 2011; Da Silva et al, 2014) con porcentajes variables de contaminación parasítica. En Trujillo, Perez-Codon et al (2008) encontraron que la cebolla china procedente del distrito El Porvenir presentó una frecuencia similar a lo hallado en la presente investigación (15%). Se sabe que *Giardia* está muy ligado al ambiente humano, pues parasita no solo al hombre sino a animales domésticos, como el perro, del cual se puede adquirir; entonces, al ser una zoonosis la fuente de contaminación de las hortalizas no solo son heces humanas sino también de otros animales como el perro que frecuenta las zonas de cultivo y defeca cerca a los surcos de cultivo de este vegetal y otras verduras (Camargo y Campuzano, 2006; Polo et al, 2016).

El protozoario comensal *Entamoeba coli* también se encontró en porcentajes un poco elevados en las hortalizas analizadas, aunque es inocuo para el ser humano, su presencia puede interpretarse como un indicativo de que no se están lavando y/o almacenando estos productos, o de que existe contaminación por heces humanas durante el cultivo, almacenamiento, acopio, manipulación y/o transporte de las frutas y hortalizas (Rea et al, 2004; Da Silva et al, 2014). Es necesario tener en cuenta que existen dos especies de

Entamoeba asociadas al hospedador humano: una patógena, *E. histolytica*, y otra comensal, *E. coli* distinguibles entre sí por el número de núcleos en el quiste, que es la forma observada en los vegetales; de ambas, la última especie es la más frecuente (Espejo-Ramos, 2014; Quispe-Juli et al, 2016).

Como se puede apreciar, en esta investigación se halló porcentajes de hasta 14% de huevos de *Toxocara* sp. en las muestras de hortalizas. Los huevos de este helminto como los de otros geohelminos parásitos maduran en el ambiente externo, aspecto biológico que facilita la profilaxis para el hombre de esta infección parasitaria. Se debería prevenir la defecación de perros y gatos en suelos de cultivo, evitar su presencia en mercados donde se comercializa vegetales (Anuar et al, 2014; Tram y Dalsgaard, 2014; Mohamed et al, 2016; Mehrnejat et al, 2018). Este helminto, de distribución mundial y muy relacionado al ambiente humano ha sido hallado en alimentos en diferentes partes del mundo; por ejemplo, en Pasto (Colombia) se hallaron porcentajes de contaminación parasítica del orden del 28.6%, similar porcentaje al determinado en esta investigación (Polo et al, 2016), en otras investigaciones se han registrado porcentajes mayores (Tram y Dalsgaard, 2014; Mohamed et al, 2016) y menores (Da Silva, et al, 2014; Anuar et al, 2014).

Ascaris lumbricoides, el nematodo más conocido a nivel mundial y dependiente del hospedero humano (el otro hospedero es el cerdo) también ha sido registrado en diferentes partes del mundo; por ejemplo, en Sudan con 2,9% (Mohamed et al, 2016), en Etiopia con un porcentaje más elevado: 20,8% (Bekele et al, 2017). En Trujillo se encontró en culantro, con un 18,2% (Perez-Codon et al, 2008), porcentaje parecido al detectado en la presente investigación en el mercado Mayorista. Es probable que el elevado potencial biótico de este helminto (una sola hembra es capaz de colocar 200 mil huevos al día, embrionados o no) hecho que permite la contaminación del suelo con gran cantidad y de allí a los vegetales; además, se sabe que al igual que los huevos de *Toxocara*, son altamente pegadizos a diferentes sustratos, de los cuales las hortalizas probablemente sean las favoritas.

La lechuga es la verdura de consumo humano más frecuente, pues se le observa en cualquier tipo de ensaladas acompañando a potajes de consumo en los almuerzos de todas las clases sociales y, obligatoriamente, en los preparados de mayor consumo en costa y sierra, el pollo a la brasa y el cebiche; sin embargo, el hecho de presentar hojas redondeadas y sobre todo rugosas, y por ser de tallo corto, la hace fácil a la migración y penetración de estructuras parasitarias a través del agua de riego (Tananta et al, 2004) y, de hecho, en la presente investigación es la verdura con la más alta frecuencia de contaminación parasitaria (37%). Este resultado es similar al obtenido en Ica (Villanueva y Silva, 1990), Lima (Tananta et al, 2004; Palacios, 2010) y Tacna (Castro, 2011) y en cebollita china del distrito El Porvenir (Perez-Codon et al, 2008). Sin embargo, a diferencia de la presente investigación, en otras se han registrado a otros helmintos, uno de ellos es, *Fasciola hepatica* helminto importante porque es causante de enfermedad crónica y conducente a disfunciones hepáticas graves. En este sentido, Perez-Codon et al (2008) encontraron elevado porcentaje (18,1%) en lechuga procedente del distrito La Esperanza (Trujillo).

5. CONCLUSIONES

Se concluye que la lechuga, *Lactuca sativa*, el apio, *Apium graveolens*, el culantro, *Coriandrum sativum* y la cebolla china, *Apium fistulosum*, que se expenden en los principales mercados de abastos de Trujillo presentan elevada contaminación parasítica (56.7%) con una o más especies de protozoarios y helmintos intestinales, sindicados como causantes de cuadros clínicos en el hospedero humano.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anuar T, Salleh F, Moktar N. 2014. Soil-Transmitted Helminth infections and associated risk factors in Three Orang Asli Tribes in Peninsular Malaysia. *Scient Report*, 4:4101. DOI: 10.1038 /srep04101.
2. Bekele F, Tefera T, Beresaw G, Yohannes T. 2017. Parasitic contamination of raw vegetables and fruits collected from selected local markets in Arba Minch town, Southern Ethiopia. *Infection Disease of Poverty*. 6:19. DOI 10.1186/S40149-016-0226-6
3. Beltrán M, Tello R, Náquira C. 2003. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Instituto Nacional de Salud. Lima. Perú. Serie de Norma Técnicas N° 37
4. Camargo N, Campuzano S. 2006. Estudio piloto de detección de parásitos en frutas y hortalizas en los mercados públicos y privados de la ciudad de Bogotá D.C. *Nov publ cient*, 4(5):152-176.
5. Castro H. 2011. Contaminación de Lactuca sativa "lechuga" con formas evolutivas de parásitos intestinales que se expenden como alimento en los establecimientos de consumo público del Distrito de Ciudad Nueva Tacna, Tacna. *Ciencia y Desarrollo UNJBG*, 24(5):56-62.
6. Da Silva W, Goncalvez R, Maria M. 2014. Parasitological evaluation in lettuces (*Lactuca sativa*) marketed in Serra Talhada, Pernambuco, Brazil. *Vig Sanit Debate*, 2(3): 51-57.
7. Devera R, Blanco Y, González H, García L. 2006. Parásitos intestinales en lechugas comercializadas en mercados populares y supermercados de la ciudad de Bolívar, estado Bolívar, Venezuela. *Rev Soc Microbiol*, 26(2): 100-107.
8. Espejo-Ramos RP. 2014. Parásitos intestinales en estudiantes de nivel primario de Huancayo al 2014. *Apun Cien Soc*. 4(1):78-86
9. García L, Navas M, Camargo L, Vásquez H, Castro A, Hernández M. Salinas. 2011. Contaminación por enteroparásitos en hortalizas expandidas en mercados de la ciudad de Mérida, Venezuela. *RVCTA*, 20(1): 124-127.
10. Gonzales S, Girardelli A, Cecchini D. 2015. Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. *OMS*, 92-98.
11. Loganathan R, Agoes R, Desy I. 2016. Vegetables contamination by parasitic helminth eggs in Malaysia and Indonesia. *Althea Medic J*, 3(2): 190-194.
12. Mehrnejat N, Kadkhodaie S, Farrokhzadeh H, Ali H, Pourgheysari H, Seif S. 2018. Evaluation of parasitic contamination in consuming vegetables in a city of Iran in 2011. *Int J Environ Health Engineer*, 4(2): 96-132.
13. Mohamed MA, Siddig EE, Elaagip AH, Edris AMM, Nasr AA. 2016. Parasitic contamination of fresh vegetables sold at central markets in Khartoum state, Sudan. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 15:17. DOI 10.1186/s12941-016-0133-S
14. Muñoz V, Laura N. 2008. Alta contaminación por enteroparásitos de hortalizas comercializadas en los mercados de la ciudad La Paz, Bolivia. *Rev Biofarvo*, 16(1): 1-8.
15. Palacios F. 2010. Nivel de contaminación enteroparasitaria de lechugas (*Lactuca sativa*) irrigada con aguas del río Rímac para consumo humano en la zona de Carapongo. *Rev Cient Salud*, 3(3): 48- 54.
16. Pérez-Codon G, Rosales M, Valdez R, Vargas F y Córdova O. 2008. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 25(1):48-144.
17. Polo GA, Benavides CJ, Astaiza JM, Vallejo DA, Betancourt P. 2016. Determinación de enteroparásitos en *Lactuca sativa* en fincas dedicadas a su producción en Pasto, Colombia. *Biomédica*. 36:525-34
18. Quispe-Juli CU, Chiara-Coila YS, Moreno-Loayza O. 2016. Elevada prevalencia de *Blastocystis* spp. en niños de una escuela periurbana. *An Fac Med*. 77(4):393-396
19. Rea M, Fleitas A, Borda E. 2004. Existencia de parásitos intestinales en hortalizas que se comercializan en la ciudad de Corrientes, Argentina. *Rev Comun Cient Tecn*, 28(1): 159-160.
20. Sena B, Nogueira R, Carvalho E, Ferreira F, Bressea T. 2010. Análisis comparativo de los métodos para la detección de los parásitos en las hortalizas para el consumo humano. *Rev Cub Med Trop*, 62(1): 21-27.
21. Tananta I, Chávez A, Casas E, Suárez F, Serrano E. 2004. Presencia de entero-parásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos en el Cercado de Lima. *Rev Investig Vet Peru*, 15 (2); 157-62.

22. Tram N, Dalsgaard A. 2014. Water used to moisten vegetables is a source of *Escherichia coli* and protozoan parasite contamination at markets in Hanoi, Vietnam. *J Water Health*, 12(4): 896- 900.
23. Villanueva C, Silva M. 1990. Protozoarios y helmintos en hortalizas comestibles que se expenden en los mercados de la ciudad de Ica. *Rev Peru Parasitol*, 35: 84-88.
24. World Health Organization (WHO). Bench Aids for the diagnosis of intestinal parasites. Geneva. 2000.

Artículo de Opinión

**¿Cuándo apareció el sistema nervioso?
Enfoque evolutivo en metazoos no vertebrados**

**When did the nervous system emerge?
Evolutionary focus on non-vertebrate metazoans**

Anthony Leon ¹

**¹ SARS International Centre for Marine Molecular Biology.
Thormøhlens Gate 55, 5008 Bergen. Noruega.
Autor para correspondencia: Anthony.Leon@uib.no**

Recibido: 1 de mayo, 2019 Aceptado: 19 de junio, 2019

RESUMEN

El inicio de la era genómica y la invención de técnicas moleculares vanguardistas han revolucionado la genética en el transcurso de las últimas décadas. Estos avances científicos han permitido revelar mecanismos desconocidos que controlan la diferenciación celular y el desarrollo de estructuras novedosas y originales en diversos organismos a lo largo de su historia evolutiva. Una de dichas estructuras es el sistema nervioso, el cual está presente en todos los animales excepto en esponjas y placozoos. La aparición de esta estructura significó un gran salto evolutivo dentro del filo Metazoo, y su amplia diversificación en cada grupo animal ha sido materia de debate en los últimos años. En este artículo, se discuten los posibles orígenes del sistema nervioso.

Palabras clave: Bilaterales, células neurales, ctenóforos, metazoos, sistema nervioso.

ABSTRACT

The beginning of the new genomic era and the emergence of cutting-edge molecular tools have revolutionized genetics over the past decades. These scientific breakthroughs have allowed to reveal unknown developmental mechanisms in cell differentiation and the emergence of novel structures in several organisms throughout their evolutionary history. One of such structures is the nervous system, which is present in all animals excepting sponges and placozoans. The emergence of this structure meant a great evolutionary leap inside the Metazoan phylum, and its wide diversification in each animal clade has been a subject of debate during the last years. In this article, the putative origins of the nervous system are discussed.

Keywords: Bilaterians, ctenophores, metazoans, nervous system, neural cells.

1. EL ÚLTIMO ANCESTRO COMÚN DE LOS ANIMALES

La expansión de datos genómicos en diversos grupos animales ha permitido construir topologías filogenéticas robustas que apoyan la hipótesis de un origen común de todas las especies animales modernas a partir de un último ancestro común (LCA - "last common ancestor"). De hecho, se cree que los primeros animales han evolucionado hace al menos 600 millones de años y que el LCA de los animales fue multicelular. Dicho estado de multicelularidad podría haber aparecido como una simple organización clonal a partir de organismos unicelulares. Sin embargo, estos primeros organismos con complejidad multicelular tuvieron que haber pasado por drásticos cambios en su composición genética para dar lugar a la aparición de tipos celulares específicos que les facilitaran adaptarse al medio ambiente (Brunet & King, 2017).

Algunos de estos cambios condujeron al surgimiento de células sensoriales en organismos primitivos que permitieron la exploración y conquista de sus respectivos hábitats. En este contexto, no se puede negar que no solo la adquisición de dichas células sensoriales, sino también la formación de sistemas sensoriales complejos constituye un logro clave en la historia evolutiva de los animales (Wray Gregory A., 2015). Sin embargo, eso nos trae algunas preguntas: ¿Cuándo aparecieron las primeras células y circuitos sensoriales? y ¿Cómo se organizaron dichos circuitos en la mayoría de eu-metazoos?

Para responder esto, diversos estudios han ayudado a comprender la historia evolutiva del sistema nervioso a partir de células sensoriales/neurales. De hecho, podemos seguirle la pista al origen de las primeras células neurales hasta antes de la separación entre cnidarios y bilaterales, e incluso postular que el repertorio genético necesario para la formación y desarrollo de dichas células podrían haber estado presente en organismos anteriores a estos filos (Wray Gregory A., 2015). A pesar de esto, se sabe aún muy poco sobre la aparición y evolución de las primeras células neurales en animales no-bilaterales.

2. APARICIÓN DE LAS PRIMERAS CÉLULAS SENSORIALES

La adquisición de células neurales es un evento crucial en la evolución de los metazoos, y posiblemente tuvo su origen con la aparición y divergencia de las primeras células sensoriales que permitieron a los animales encontrar comida, reproducirse o evadir hábitats poco convenientes.

Se conoce que las células animales sensoriales más simples se encuentran en las larvas de los poríferos (esponjas), las cuales no solo son sensibles a la luz, sino también a otros estímulos. Las esponjas constituyen un grupo animal primitivo, si se les compara con los eu-metazoos, ya que no poseen sistema nervioso. Sin embargo, ellas cuentan con otros sistemas sensoriales como es el caso de la demosponja *Amphimedon queenslandica*, cuya larva presenta un tipo específico de célula epitelial (célula matraz) que es capaz de convertir los estímulos externos en señales internas que inducen el asentamiento y metamorfosis durante su desarrollo (Nakanishi *et al.*, 2015). Aparte de esto, estas células también exhiben expresión de marcadores pro-neurales como *AmqbHLH* y miembros de la vía de señalización Delta-Notch. Dichas características se asemejan a lo que se observa en neuronas sensoriales presentes en larvas de cnidarios y bilaterales (Nakanishi *et al.*, 2015; Richards *et al.*, 2008; Liebeskind *et al.*, 2016), y sugieren un origen común entre las células sensoriales de los poríferos y las células neurales de los eu-metazoos.

A diferencia de los poríferos, los cnidarios han sido históricamente considerados como los metazoos más tempranos en haber desarrollado un sistema nervioso. Ellos poseen un sistema nervioso difuso que consiste en redes nerviosas extendidas principalmente en el epitelio. Sin embargo, algunos de ellos como las medusas han desarrollado sistemas sensoriales que muestran regionalización neural. Algunos autores han propuesto que los aros neurales presentes en estas medusas constituyen un tipo de sistema nervioso central. Dicha observación sugiere que la aparición de un sistema nervioso central rudimentario pudo incluso suceder antes de la separación con los bilaterales (Garm *et al.*, 2007). Adicionalmente, el repertorio genético que controla la formación del sistema nervioso tanto en cnidarios como en bilaterales es sumamente conservado, sugiriendo que dicho repertorio ya estaba presente en el ancestro común de cnidarios y bilaterales (Watanabe *et al.*, 2009).

3. POSICIÓN FILOGENÉTICA DE LOS CTENÓFOROS

Así como los cnidarios, los ctenóforos también poseen una red epitelial de nervios. Debido a la similitud morfológica entre ambos grupos, fueron clásicamente ubicados dentro de un mismo filo llamado Celenterada por más de un siglo. Sin embargo, estos grupos son muy diferentes a nivel genómico y, hoy en día, la posición filogenética de los ctenóforos aún se encuentra en debate. De hecho, las publicaciones antiguas optaban por localizarlos junto a los cnidarios y bilaterales en un solo grupo, mientras que las más recientes sugieren que los ctenóforos constituyen el grupo animal más antiguo (incluso precedente a los poríferos) y, en consecuencia, hermano de todo el resto de los metazoos. Dicha revelación expone dos posibilidades: el sistema nervioso existía en el último ancestro común de los animales y se perdió en los poríferos y placozoos; o los ctenóforos junto al ancestro de cnidarios y bilaterales adquirieron sistemas nerviosos de manera independiente (Figura 1- estrella azul y verde respectivamente) (Liebeskind *et al.*, 2016; Ryan, 2014; Moroz, 2015).

La posibilidad que los ctenóforos hayan desarrollado un sistema nervioso de manera convergente a los bilaterales y cnidarios constituye un escenario evolutivo no parsimonioso. De hecho, al comparar los genomas de especies representativas de los filos porífera y placozoo (que no poseen sistemas nerviosos) junto a los ctenóforos, se puede concluir que la mayoría de los componentes moleculares del sistema nervioso están conservados en todos estos animales (tales como canales iónicos dependientes de voltaje y proteínas especializadas SNARE, que median la función vesicular sináptica). Incluso *Trichoplax adhaerens*, el único miembro del filo placozoo presenta genes que codifican neurotransmisores y proteínas sinápticas. En conclusión, estos datos sugieren que el sistema nervioso apareció una vez, y luego se simplificó anatómicamente en los poríferos y placozoos (Jorgensen, 2014).

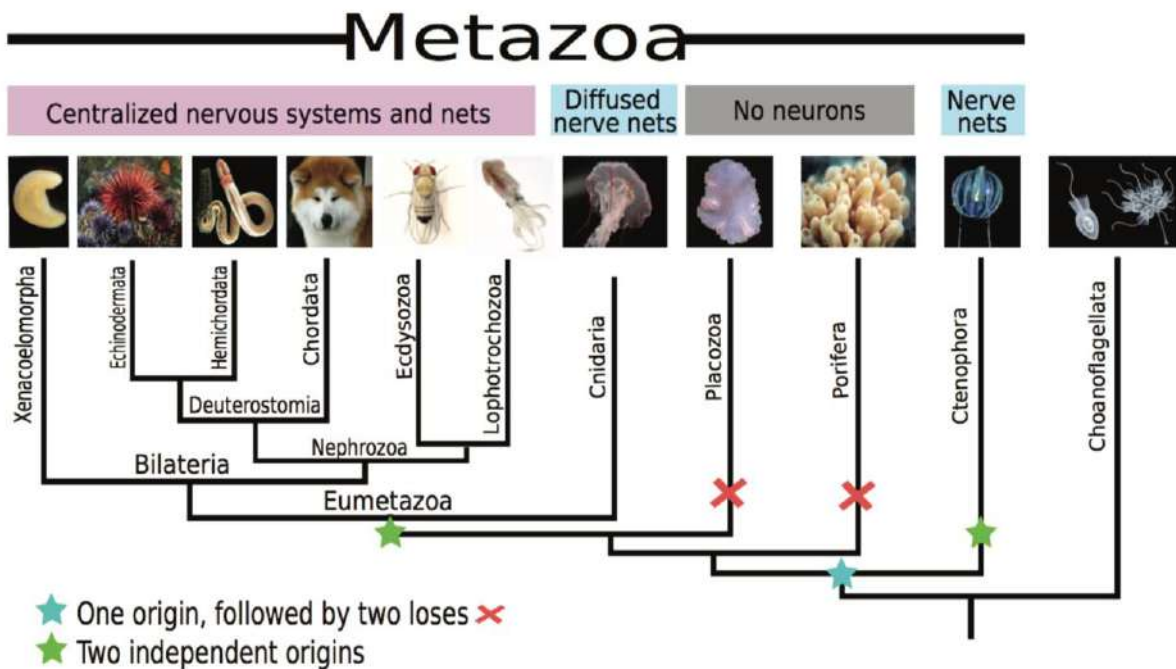


Figura 1. Origen del sistema nervioso. Representación filogenética simplificada del filo Metazoo. Las estrellas muestran las dos hipótesis sobre el origen del sistema nervioso considerando a los Ctenóforos como grupo animal más antiguo. (Modificado a partir de Liebeskind *et al.*, 2016; y Moroz, 2015)

El debate sobre el origen del sistema nervioso continuara, considerando que nuevos proyectos de secuenciamiento incrementaran la cantidad de datos genómicos en especies de diversos filos a fin de obtener una mejor comprensión sobre la aparición de esta estructura en los animales.

4. CENTRALIZACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO

A diferencia del difuso escenario evolutivo en metazoos tempranos (cnidarios y ctenóforos), es ampliamente aceptado que el ancestro común de los bilaterales ya presentaba un sistema nervioso. De hecho, se cree que dicho sistema estaba condensado (centralizado o central) en una cuerda media ventral, la cual sería una característica ancestral de todos los bilaterales. En este contexto, Alain Ghysen señaló que “el sistema nervioso central estaría compuesto por una combinación de circuitos elementales verificados, muchos de los cuales ya habrían estado desarrollados en nuestros ancestros urbilaterales” (Ghysen, 2003). Sin embargo, nuevos estudios sugieren que la organización de un sistema nervioso centralizado ha evolucionado múltiples veces dentro de los bilaterales, y no solo una vez. Se ha revelado que algunos grupos, como los xenacoelomorfos y espiralados, no comparten la misma base genética que orquesta el desarrollo del sistema nervioso central (a diferencia de la mayoría de bilaterales). Por tal motivo, es posible que las similitudes morfológicas en el desarrollo de todos los sistemas nerviosos centralizados podría ser el resultado de varios eventos evolutivos convergentes (Martín-Durán *et al.*, 2018; Albertin & Ragsdale, 2018).

Incluso si este evento pudo haber sucedido independientemente en varios grupos animales, no se puede negar que la adquisición de un sistema nervioso central involucro la formación de regiones neuroanatómicas dependientes de mecanismos genéticos conservados a lo largo de la evolución de los animales bilaterales. Por ejemplo, el plan organizacional de los cordados está establecido por un modelado anteroposterior/dorsoventral, y caracterizado por la expresión de marcadores genéticos conservados (Albuixech-Crespo *et al.*, 2017). No obstante, grupos cercanos a los cordados, como los equinodermos y hemicordados, muestran profundas diferencias en comparación a los primeros, haciendo difícil predecir la estructura del sistema nervioso del ancestro común de los deuterostomados (Holland, 2015).

De hecho, el sistema nervioso en equinodermos adultos es distante morfológicamente al de los cordados ya que las neuronas se encuentran dispersas formando una red organizada en nódulos e interconectada a nudos adyacentes y nervios radiales. Además, estas cuerdas nerviosas no expresan genes *Hox* durante su desarrollo, lo que se asume ser una característica compartida dentro del filo Chordata (Arenas-Mena *et al.*, 2000; Burke *et al.*, 2006). Por otro lado, en los hemicordados -a pesar de compartir afinidades morfológicas con los cordados- no existe evidencia robusta que confirme si una de sus cuerdas neurales (sea la dorsal o ventral) es homóloga a la cuerda neural dorsal de los cordados, o si ambas evolucionaron independientemente (Lowe *et al.*, 2003; Holland *et al.*, 2013). Toda esta información contribuye a complicar el paisaje evolutivo del origen del sistema nervioso central en los bilaterales.

A lo largo de la evolución, los animales se han diversificado a partir de ancestros comunes. Sin embargo, gran parte del repertorio genético dedicado a la formación de células neurales es esencialmente el mismo en la mayoría de dichas especies. Gracias a nuevas tecnologías, se ha logrado acceder a información genómica en modelos no-convencionales y complementar lo conocido previamente en vertebrados. Estos estudios comparativos no solo han permitido identificar los principales actores que impulsan la identidad neural en células animales, sino también ha profundizado nuestro conocimiento sobre el origen del sistema nervioso y su desarrollo en cada grupo animal moderno.

5. CONCLUSIÓN

La aparición y evolución del sistema nervioso constituye una gran incógnita dentro de la biología evolutiva del desarrollo y, a pesar del incremento de avances científicos en las últimas décadas, aun esconde misterios por resolver. Consensualmente se postulaba que los primeros metazoos solo poseían células sensoriales que les permitían sobrevivir a su hábitat, sin embargo, la relocalización de los ctenóforos en la base del filo Metazoo sugiere que el ancestro de todos los animales ya poseía un sistema nervioso. Esta nueva construcción filogenética también apoya la simplificación morfológica de los grupos Porífera y Placozoo, así como la subsecuente pérdida del sistema nervioso en ambos grupos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albertin, C. B., & Ragsdale, C. W. (2018). More than one way to a central nervous system. *Nature*, 553(7686), 34. Retrieved July 5, 2019, from <http://www.nature.com/articles/d41586-017-08195-4>
2. Albuixech-Crespo, B., López-Blanch, L., Burguera, D., Maeso, I., Sánchez-Arrones, L., Moreno-Bravo, J. A., Somorjai, I., et al. (2017). Molecular regionalization of the developing amphioxus neural tube challenges major partitions of the vertebrate brain. *PLOS Biology*, 15(4), e2001573. Retrieved July 5, 2019, from <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2001573>
3. Arenas-Mena, C., Cameron, A. R., & Davidson, E. H. (2000). Spatial expression of Hox cluster genes in the ontogeny of a sea urchin. *Development*, 127(21), 4631–4643. Retrieved July 5, 2019, from <https://dev.biologists.org/content/127/21/4631>
4. Brunet, T., & King, N. (2017). The Origin of Animal Multicellularity and Cell Differentiation. *Developmental Cell*, 43(2), 124–140. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.09.016>.
5. Burke, R. D., Angerer, L. M., Elphick, M. R., Humphrey, G. W., Yaguchi, S., Kiyama, T., Liang, S., et al. (2006). A genomic view of the sea urchin nervous system. *Developmental Biology*, 300(1), 434–460. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.08.007>.
6. Garm, A., Poussart, Y., Parkefelt, L., Ekström, P., & Nilsson, D.-E. (2007). The ring nerve of the box jellyfish *Tripedalia cystophora*. *Cell and Tissue Research*, 329(1), 147–157. <https://doi.org/10.1007/s00441-007-0393-7>.
7. Ghysen, A. (2003). The origin and evolution of the nervous system. *The International Journal of Developmental Biology*, 47(7–8), 555–562. <https://doi.org/10.1387/ijdb.14756331>.
8. Holland, L. Z. (2015). The origin and evolution of chordate nervous systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1684). Retrieved July 5, 2019, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4650125/>
9. Holland, L. Z., Carvalho, J. E., Escrava, H., Laudet, V., Schubert, M., Shimeld, S. M., & Yu, J.-K. (2013). Evolution of bilaterian central nervous systems: A single origin? *EvoDevo*, 4(1), 27. Retrieved July 5, 2019, from <https://doi.org/10.1186/2041-9139-4-27>
10. Jorgensen, E. M. (2014). Animal Evolution: Looking for the First Nervous System. *Current Biology*, 24(14), R655–R658. Retrieved July 5, 2019, from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982214007520>
11. Liebeskind, B. J., Hillis, D. M., Zakon, H. H., & Hofmann, H. A. (2016). Complex Homology and the Evolution of Nervous Systems. *Trends in ecology & evolution*, 31(2), 127–135. Retrieved July 5, 2019, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4765321/>
12. Lowe, C. J., Wu, M., Salic, A., Evans, L., Lander, E., Stange-Thomann, N., Gruber, C. E., et al. (2003). Anteroposterior patterning in hemichordates and the origins of the chordate nervous system. *Cell*, 113(7), 853–865. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00469-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00469-0).
13. Martín-Durán, J. M., Pang, K., Børve, A., Lê, H. S., Furu, A., Cannon, J. T., Jondelius, U., et al. (2018). Convergent evolution of bilaterian nerve cords. *Nature*, 553(7686), 45–50. Retrieved July 5, 2019, from <https://www.nature.com/articles/nature25030>

14. Moroz, L. L. (2015). Convergent evolution of neural systems in ctenophores. *Journal of Experimental Biology*, 218(4), 598–611. Retrieved July 5, 2019, from <https://jeb.biologists.org/content/218/4/598>
15. Nakanishi, N., Stoupin, D., Degnan, S. M., & Degnan, B. M. (2015). Sensory Flask Cells in Sponge Larvae Regulate Metamorphosis via Calcium Signaling. *Integrative and Comparative Biology*, 55(6), 1018–1027. <https://doi.org/10.1093/icb/icv014>.
16. Richards, G. S., Simionato, E., Perron, M., Adamska, M., Vervoort, M., & Degnan, B. M. (2008). Sponge genes provide new insight into the evolutionary origin of the neurogenic circuit. *Current biology: CB*, 18(15), 1156–1161. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.074>.
17. Ryan, J. F. (2014). Did the ctenophore nervous system evolve independently? *Zoology*, 117(4), 225–226. Retrieved July 5, 2019, from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944200614000555>
18. Watanabe, H., Fujisawa, T., & Holstein, T. W. (2009). Cnidarians and the evolutionary origin of the nervous system. *Development, Growth & Differentiation*, 51(3), 167–183. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2009.01103.x>.
19. Wray Gregory A. (2015). Molecular clocks and the early evolution of metazoan nervous systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1684), 20150046. Retrieved July 5, 2019, from <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rstb.2015.0046>

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 (gzavaleta@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: gzavaleta@unitru.edu.pe