

REBIOL

REVISTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA



Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de Trujillo

ISSN: 2313-3171(En Línea)

Volumen: 39

Número: 2

Julio - Diciembre, 2019

REBIOL

Volumen N° 39, Número 2, Julio - Diciembre, 2019

ARTÍCULOS ORIGINALES/ORIGINAL PAPERS

- Diagnóstico ecológico del humedal Chochoc / **Ecological diagnosis of humedal Chochoc**.....3
- Determinación de la dosis letal media de los extractos de *Paullinia clavigera* var *bullata* simpson y *Solanum mammosum* L. para controlar áfidos en condiciones de laboratorio / **Determination of the letal average dose of the extracts of *Paullinia clavigera* var *bullata* simpson and *Solanum mammosum* L. to control aides in laboratory** 19
- Efecto de la 6- Bencilaminopurina y del medio de cultivo MS (1962) en el establecimiento in vitro de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth / **Effect of 6- Benzylaminopurine and the culture medium MS (1962) on the in vitro establishment of *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth**30
- Aislamiento y evaluación de la actividad celulolítica de bacterias rizosféricas del Distrito de Bagua, Amazonas / **Isolation and evaluation of cellulolytic activity of rhizobacteria from Bagua District, Amazonas**41
- Efecto sinérgico del Ácido giberélico y del Ácido indolacético en la propagación in vitro de *Solanum tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color” / **Synergistic effect of Gibberellic acid and indoleacetic acid in the in vitro propagation of *Solanum tuberosum* L. “native potato of colored pulp”** 49

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- Historia evolutiva de los genes Sox durante del proceso de duplicación génica / **Evolutionary history of the Sox genes throughout gene duplication**58

Foto de la portada: Área de Conservación Privada Lomas del Cerro Campana – UNT, (estación seca – febrero 2019). Trujillo.. La Libertad. Foto tomada por De La Vega Pando Luis Alberto y Polo Corro José Luis .

DIAGNÓSTICO ECOLÓGICO DEL HUMEDAL CHOCHOC

ECOLOGICAL DIAGNOSIS OF HUMEDAL CHOCHOC

María Pilar Ruiz-Santillán¹, Emiliana Huamán Rodríguez ², Freddy Mejía Coico²

¹Instituto de Investigación Universidad Católica de Trujillo, Benedicto XVI

²Docente Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo

*Autor para correspondencia: m.ruiz@uct.edu.pe

Recibido: 10 de Setiembre, 2019. Aceptado: 28 de Noviembre, 2019.

RESUMEN

Introducción: A nivel mundial los ecosistemas más amenazados son los humedales, por tal razón la evaluación de su estado ambiental contribuirá a reconocer su importancia. **Objetivo:** Evaluación del estado del humedal Choc Choc mediante Matriz de Influencia Directa (MDI). **Materiales y Métodos:** Para el diagnóstico fueron seleccionadas dos lagunas (A y B), ubicadas en el sector Chorobal, Distrito Moche Región La Libertad Perú. El sistema humedal se dividió en tres sub sistemas: factores influyentes, problemas generados e impactos ambientales; que fue evaluado mediante matriz de influencia directa (MDI). Para corroborar la situación se midió la calidad del agua, se realizó inventario de la avifauna y se evaluó la flora dentro de las lagunas durante los meses de mayo – agosto 2018, mediante método del transecto. **Resultados:** Problemas generados: desaparición de especies pioneras, erosión del suelo, desecación del humedal y contaminación hídrica. De las 42 especies de aves registradas durante el inventario, el 78,57% son residentes y el 21,43% migratorias boreales. Mediante los análisis de agua se constató que esta no cumple los criterios de calidad y se confirmó la pérdida de biodiversidad. **Conclusiones:** El impacto de las acciones antrópicas en el humedal son severas.

Palabras clave: Factores influyentes; contaminación hídrica; desecación del humedal; Matriz de Influencia Directa

ABSTRACT

Introduction: Globally the most threatened ecosystems are wetlands, for this reason the evaluation of their environmental status will help to recognize their importance. **Goal:** Evaluation of the ChocChoc wetland through Direct Influence Matrix (MDI) **Materials and Methods:** For the diagnosis, two lagoons (A and B) were selected, located in the Chorobal sector, Moche district, La Libertad region, Peru. The wetland system was divided into three sub systems: influencing factors, generated problems and environmental impacts; which was evaluated by direct influence matrix (MDI). To corroborate the situation, the water quality was measured, inventory of the bird fauna was made and the flora was evaluated within the lagoon during the months of May - August 2018, using the transect method. **Results:** Problems generated: disappearance of pioneer species, soil erosion, and desiccation of the wetland and water pollution. Of the 42 bird species recorded during the inventory, 78.57% are residents and 21.43% boreal migratory. The water analysis confirmed that it does not meet the quality criteria and the loss of biodiversity was confirmed. **Conclusions:** The impact of the anthropic actions on the wetland are severe.

Keywords: Influential factors; Water pollution; desiccation of the wetland; direct influence matrix

1. INTRODUCCIÓN

La Convención Ramsar, define a los humedales como: una amplia variedad de hábitats tales como pantanos, turberas, llanuras de inundación, ríos y lagos y áreas costeras tales como las marismas, manglares y praderas de pastos marinos, pero también arrecifes de coral y otras áreas marinas cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros, así como humedales artificiales tales como estanque de tratamiento de aguas residuales y embalses (Secretaría Convención Ramsar, 2006)

Los humedales intactos que no han sido degradados desempeñan un papel clave como amortiguadores en el ciclo hidrológico y como sumideros de carbono orgánico, albergan gran parte de la biodiversidad del mundo y brindan múltiples servicios a la humanidad. Sin embargo, la presión en forma de recuperación de tierras, la explotación intensa de los recursos, los cambios en la hidrología y la contaminación amenazan los humedales en todos los continentes (Junk et al., 2012).

Los humedales naturales existentes en la actualidad cubren sólo una fracción de su área original y han ido disminuyendo progresivamente durante siglos en la mayor parte del mundo. Al respecto, la Convención Ramsar, realiza un seguimiento del estado y las tendencias de los humedales a nivel mundial, y sostiene que su disminución en hábitats continentales, costeros y marinos va en incremento, en consecuencia, las poblaciones dependientes de estos ecosistemas están disminuyendo y muchas de ellas son susceptibles de extinguirse en un futuro próximo (Secretaría Convención Ramsar, 2018)

En consecuencia, gran parte de los bienes y servicios que los humedales proporcionan están siendo degradados o se están usando de manera no sostenible, debido al manejo inadecuado de los recursos y la falta de políticas apropiadas de desarrollo local. Por otra parte, la interacción entre los sistemas ecológicos y humano es muy compleja, y el nivel del conocimiento disponible sobre la articulación entre ambos hace difícil predecir los umbrales reales a partir de los cuales pueden ocurrir desajustes funcionales y comiencen los procesos de degradación ecológica ocasionalmente irreversibles con afectaciones al bienestar humano y la estabilidad social (Fernández et al. 2013)

Green & Figuerola (2003) manifiestan que “se mantiene la idea de que las aves acuáticas funcionan como indicadores de los cambios ambientales en los humedales, esta premisa se fundamenta en que debido a su posición en la escala trófica, estos organismos se verán afectados por una gran variedad de factores. En escalas mayores se detectan descensos en algunas poblaciones de aves acuáticas que parecen explicarse por la pérdida de hábitat generado por la desecación y degradación de humedales” (p. 47). Esta situación pone en evidencia la importancia de estos ecosistemas para albergar especies, algunas consideradas amenazadas (Vizcarra et al, 2009).

Choc Choc, es un humedal costero, con una estructura característica que está a punto de perderse, la vegetación, avifauna, suelo, agua, que sostienen este ecosistema único, están desapareciendo por acciones que no tienen en cuenta el daño que están causando no solo a la naturaleza sino también a la humanidad. Nuestro país fue el primero en Latinoamérica, en desarrollar un conjunto de acciones a largo plazo, que fue plasmado en un documento denominado Estrategia Nacional para la Conservación de Humedales 1996 que establece políticas de uso sostenible y protección, promoción de la investigación y difusión de la importancia y beneficios de los humedales (Ministerio del Ambiente, 2015).

Asimismo, los gobiernos provincial y distrital cuentan con documentos que reglamentan la conservación de los humedales, pero dictar una norma no corregirá automáticamente el problema que ésta trata de resolver, es necesaria la fiscalización, ejecución de leyes y asignación de recursos por parte de las autoridades (Mateo, 2010); para salvaguardar los ecosistemas. Además, los ciudadanos siempre están buscando mecanismos ingeniosos para evadir reglas;

debido a la corrupción a todo nivel, que predomina en nuestro país. El propósito de la investigación fue analizar el “sistema humedal Choc Choc” y sus subsistemas factores influyentes, problemas generados e impactos ambientales; mediante la matriz de influencia directa (MDI), creado por Godet, 2001 (citado por Arango & Cuevas, 2013).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El humedal Choc Choc se localiza entre las coordenadas UTM: 9095300N, 9094700N y 720800E, 721200E, próximo a la autopista: Vía Panamericana - Puerto Salaverry y al norte del Asentamiento Humano "Miramar", en el distrito de Moche, provincia de Trujillo, departamento La Libertad (Región La Libertad), a una altitud promedio de 3.5 msnm.; en la región ecológica: Desierto Semi-Cálido Tropical (Ñique, 2005).

La aplicación del método se llevó a cabo a través de la definición del sistema denominado “humedal Choc Choc”, de los subsistemas: factores influyentes, problemas generados e impactos ambientales, así como la evaluación de la matriz de influencia directa creado por Godet, 2001 (citado por Arango & Cuevas, 2013). El método describe un sistema identificando las relaciones de influencia (en lugar de relaciones causa – efecto) entre los elementos integrantes del mismo (Senhadji - Navarro, 2017)

El llenado de la matriz es un procedimiento cualitativo, y para cada pareja de variables se realiza la siguiente pregunta; ¿existe una relación de influencia directa entre el factor influyente y el problema generado? si esta relación de influencia no existe (0), débil (1), mediana (2), fuerte (3) (Arango & Cuevas, 2013).

Empleando el método del transecto en línea (Bibby et al., 2000); se evaluó la avifauna, durante los meses de mayo a agosto del 2018, realizándose 8 avistamientos con visitas quincenales, en los horarios de 7:30 a 9:30 am de 11 am a 1 pm y de 2:30 a 4:30 pm; las especies fueron observadas visualmente con ayuda de binoculares marca Eagle Optics Denali 10 x 42 mm y fotografiadas con cámara digital Canon EOS 60D, con zoom de 400 mm. Para la determinación de las especies se utilizó la Guía Aves de Perú (Schulenberg et al., 2010), la Lista de Aves del Perú (Plenge, 2012) y el Atlas de las Aves playeras del Perú (Ministerio del Ambiente, 2014). Asimismo se midieron parámetros físicos: temperatura y sólidos disueltos totales y parámetros químicos: pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto (OD), demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y salinidad empleando el equipo Multiparametro HI 9829 HANNA.

La evaluación de las comunidades vegetales se realizó por medio de 7 transectos lineales (Matteucci & Colma, 1982) de 100 puntos de evaluación cada uno, Se ubicaron del borde de las lagunas hacia afuera y desde el borde de las lagunas hacia adentro. El muestreo se realizó en el sector sur, este y norte de la laguna A, el sector oeste no se evaluó completamente debido a la invasión de esa zona por viviendas y corrales para animales domésticos. Sin embargo en la laguna B, se consiguió evaluar toda el área en la primera salida de campo; en la segunda nos dimos con la sorpresa que todo el sector este había sido rellenado con material de construcción y demolición, perdiéndose los transectos trazados la siguiente evaluación se realizó en el sector norte, sur y oeste.



Fig. 1. Fuente: Google Earth, 2018. Ubicación de las Lagunas del Humedal Choc Choc
 Laguna A: Coordenadas UTM: 9094669.8N, 9094393.2N y 720708.3E, 720707E
 Laguna B: Coordenadas UTM: 9094362.7N, 9094209N y 720676.2E, 720675.4E

3. RESULTADOS

El área donde se encuentran las lagunas A y B se encuentra registrada como propiedad privada, de acuerdo con la información recogida, un poblador manifestó que el espacio que ocupa el humedal pertenecía a INRENA (Instituto Nacional de Recursos Naturales) ex-organismo del estado peruano, incluso poseía un permiso para la extracción de “totora”, él realizó el trámite en la oficina pero ningún trabajador se acercó a verificar.

La laguna A; hacia el oeste y al norte está rodeada de viviendas precarias y corrales de animales domésticos, según referencia de los pobladores fueron las autoridades del municipio de Miramar, quienes los reubicaron en el lugar, desde hace más de veinte años. Lamentablemente, el sitio alberga especies de aves residentes y migrantes boreales, que ven amenazado su hábitat, por la presencia de residuos sólidos. Entre tanto, al este se puede observar un sistema de desagüe con bomba, canal de aguas residuales, camino rural, residuos de construcción y demolición, ganadería (vacunos, ovinos), animales domésticos (aves de corral y perros).

Por otro lado, hacia el lado norte de la laguna B se observan chacras donde se siembra maíz y la gramínea *Imperata brasiliensis*, que los agricultores utilizan para alimentar al ganado vacuno, hacia el oeste se encuentran seis lagunas de oxidación que despiden olor nauseabundo, están separadas del humedal por una cortina de *Acacia macracantha*, por esta zona no se observa residuos sólidos; pero si se encuentran heces de humanos y ganado ovino; hacia el sur se encuentra espejo de agua, hacia el este, acumulación de residuos de construcción y demolición que utilizan para desecar el humedal.

En cuanto a la flora identificada dentro de las lagunas, podemos mencionar que principalmente está conformada por *Typha angustifolia* “inea” en mayor porcentaje y por *Schoenoplectus californicus* “totora” que sirven de alimento y zona de anidación a la avifauna. Los principales hábitat identificados son: el “ineal”, que se ubica en el centro de las lagunas zona que se encuentra permanentemente inundada y en los bordes el “total”. En los contornos se encuentran los “gramadales” (grama salada) que se ven afectados por el pastoreo del ganado ovino y bovino y los cuerpos de agua que representan un 5% en la laguna A y un 30% en la laguna B (ver tabla 1).

Tabla 1. Especies dominantes dentro de las lagunas A y B ubicadas en el humedal Choc Choc.

Humedal Choc Choc	<i>Typha angustifolia</i>	<i>Schoenoplectus californicus</i>	espejo de agua
Laguna A	89%	6%	5%
Laguna B	57%	13%	30%

Asimismo, durante los meses de mayo a agosto del 2018, fueron registradas 42 especies de aves, correspondientes a 21 familias; de las cuales 33 son residentes y 9 migratorias boreales. De acuerdo al número de especies por familia, la familia Ardeidae tienen la mayor representatividad (14,28% del total), las especies pertenecientes a cuatro familias representan el 38,08% del total de las especies registradas en la investigación: Rallidae, Charadriidae, Scolopacidae y Laridae. Seis especies se encontraron en el 100% de los avistamientos: *Gallinula chloropus*, *Pygochelidon cyanoleuca*, *Zenaida meloda*, *Mimus longicaudatus*, *Egretta thula*, *Himantopus mexicanus*. Tres especies se encontraron en el 25% de los avistamientos: *Cathartes aura*, *Porphyrio martinica*, *Forpus coelestis*.

En cuanto a la calidad del agua de las lagunas, en base a la medición realizada en campo para el agua superficial, comparada con los Estándares de Calidad Ambiental (Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM) para agua; observando la Tabla 2 podemos confirmar que los parámetros de oxígeno disuelto, conductancia específica, sólidos totales y demanda bioquímica de oxígeno se encuentran muy alterados.

Tabla 2. Evaluación de la calidad del agua de las lagunas A y B del humedal Choc Choc.

Parámetros	Unidades de medida	resultados del análisis	ECA E1: lagunas
pH	unidad de pH	7,81	6,5 – 9,0
Oxígeno Disuelto (OD)	%	0,0	>5
Conductancia específica	mS/cm	2979	1000
Sólidos suspendidos totales	mg/L	18,3	<25
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg O ₂ /L	31,17	5

Subsistema Factores influyentes**Tabla 3.** Relación de variables con su descripción asociadas al subsistema Factores Influyentes.

Subsistema	Nombre	Descripción
Factores Influyentes	Actividad agrícola	Prácticas realizadas con la finalidad de secar las lagunas y ganar tierras para después venderlas (tráfico de terrenos)
	Ganadería	Pastoreo intensivo dentro humedal (ovino, bovino) y corrales de porcinos y aves dentro y en los alrededores de las lagunas.
	Materia orgánica en descomposición	En los alrededores de las lagunas, se encuentran heces de humanos y animales; además de residuos orgánicos
	Procesos de urbanización	Construcción de viviendas precarias y corrales para los animales domésticos alrededor y dentro de las lagunas
	Relleno	Proceso de agregar toneladas de residuos de construcción y demolición con la finalidad de secar las lagunas para construir almacenes, casas y corrales.
	Sedimentación	Acumulación por deposición de los sedimentos transportados por las aguas residuales.
	Vertimiento de aguas residuales	Aguas residuales procedentes de una bomba de desagüe que se disponen sobre un canal construido muy cercano a las lagunas, al colmatarse el canal las inunda y/o se filtra por el subsuelo.
	Vertimiento de residuos sólidos	Disposición de residuos generados por los pobladores de los alrededores de las lagunas y por personas que llegan de Miramar para arrojar desechos en el lugar.
Afectación a la estructura del suelo	Alteración de la estructura del suelo por la acumulación de residuos de construcción y demolición, basura (restos orgánicos e inorgánicos), pastoreo.	

Fuente: Adaptado de (Senhadji- Navarro et al., 2017).

Subsistema Problemas Generados

Tabla 4. Relación de variables con su descripción asociadas al subsistema Problemas Generados

Subsistema	Nombre	Descripción
Problemas generados	Contaminación hídrica	Estado actual del agua de las lagunas debido a las actividades antrópicas (ver Tabla 2)
	Desecación del humedal	Los pobladores que viven en los alrededores utilizan motobomba para extraer agua de las lagunas con el fin de desecarlas.
	Desaparición de especies pioneras	Pérdida de las primeras especies que albergaron el humedal.
	Erosión del suelo	Desgaste en la superficie del suelo que rodea las lagunas por pastoreo, arrojamiento de residuos de construcción y demolición, basura.
	Procesos de eutrofización	Enriquecimiento en nutrientes de ambas lagunas
	Proliferación de especies oportunistas	Incremento de la especie oportunista <i>Typha angustifolia</i> que abarca un gran porcentaje de las lagunas (ver Tabla 1)
	Alteración de los ciclos biológicos	Cambios en los elementos químicos en el compartimiento biótico y abiótico de las lagunas por acciones antrópicas
	Anoxia en las lagunas	Ausencia total de oxígeno en ambas lagunas (ver Tabla 2)
Fragmentación del hábitat	Ambas lagunas se van reduciendo poco a poco convirtiéndose en parches.	

Fuente: Adaptado de (Senhadji-Navarro et al. 2017)

Como se puede observar los procesos urbanísticos generan problemas de desecación del humedal, desaparición de especies pioneras, fragmentación del hábitat, que conduce a pérdida de biodiversidad y pérdida de flora y fauna. Otro factor importante es el vertido de residuos sólidos que causa problemas de contaminación hídrica, desecación del humedal, desaparición de especies pioneras, erosión del suelo, proliferación de especies oportunistas. Finalmente los problemas más frecuentes son: desaparición de especies pioneras, erosión del suelo, desecación del humedal y contaminación hídrica (Ver Tabla 4).

Uno de los principales factores que afectan las lagunas del humedal Choc Choc es la actividad agrícola (Ver Tabla 6) que causa problema de desecación, desaparición de especies pioneras, proliferación de especies oportunistas e introducidas, alteración de los ciclos biológicos, fragmentación del hábitat. Los impactos que causan estos problemas se encuentran la pérdida de flora y fauna, biodiversidad y espejo de agua (Ver Tabla 5).

Impactos Ambientales

Tabla 5. Relación de variables con su descripción asociadas al subsistema Impactos Ambientales

Subsistema	Impactos Ambientales	Descripción
	Mala calidad del agua	Según análisis realizados en el agua de las lagunas todos los parámetros se encuentran alterados.(ver tabla 6)
Impactos Ambientales	Pérdida de flora	Producto del deterioro <i>Typha angustifolia</i> es la especie dominante dentro de ambas lagunas (89% en A y 54% en B). (ver tabla 1)
	Pérdida de Biodiversidad	Pérdida de la diversidad biológica de las lagunas, Ñique (2005), reportó 23 especies de flora en Choc Choc; en el 2018 encontramos ochos especies
	Pérdida del espejo de agua de las lagunas	Pérdida del área total que ocupan las lagunas (ver tabla 1)

Fuente: Adaptado de (Senhadji-Navarro et al. 2017)

Tabla 6. Matriz Estructural de las variables de Factores Influyentes y Problemas Generados.

	CH	DH	DEP	ES	PE	PEO	ACB	A	FH	total
Actividad Agrícola	3	3	3	2	3	1	2	3	3	23
Ganadería	2	0	1	3	1	0	1	0	0	8
Mat Orgánica en Descomposición	1	0	1	1	0	0	1	0	0	4
Procesos de Urbanización	2	3	3	3	1	0	2	0	3	17
Relleno	2	3	3	3	0	0	2	0	3	16
Sedimentación	3	3	3	0	3	2	2	3	0	19
Vertido Aguas Residuales	3	0	3	2	3	3	2	3	0	19
Vertido Residuos Sol	3	3	3	3	2	3	2	2	0	21
Afectación Est Su	0	1	2	3	0	2	2	0	3	13
Total	18	18	23	20	15	11	16	13	12	

CH: Contaminación Hídrica; DS: desecación del Humedal; DEP: Desaparición de especies pioneras; Erosión del Suelo; ES; PE: Procesos de Eutrofización; PEO: Proliferación de Especies Oportunistas; Alteración de los ciclos Biológicos; AH: Anoxia en las aguas de las lagunas; Fragmentación del Hábitat. Valoración: No existe influencia (0); débil (1); mediana (2); fuerte (3)

4. DISCUSIÓN

Dependiendo de la región del 30 al 90% de los humedales del mundo ya han sido destruidos o fuertemente modificados en muchos países sin signos de disminución (Junk et al., 2012); y es la región de Latinoamérica y el Caribe la que ha experimentado la mayor reducción de sus humedales naturales a nivel mundial entre 1970 y 2015, con un declive de 59% de su superficie y las mayores amenazas serían “la contaminación y la conversión de humedales en tierras agrícolas y de uso urbano” (Leighton, 2019). Los resultados obtenidos en esta investigación, coinciden con las causas reportadas anteriormente ya que los factores de influencia críticos en las lagunas A y B son la actividad agrícola, vertimiento de aguas residuales, vertimiento de residuos sólidos y la afectación de la estructura del suelo.

Los humedales actúan como “almacenes” de los sedimentos y nutrientes (nitratos y fosfatos), provenientes de efluentes de aguas residuales, que son consumidos por las plantas y almacenados en sus hojas, tallos y raíces, contribuyendo así a mejorar la calidad del agua. Sin embargo, la capacidad de los humedales para tratar sedimentos y nutrientes es limitada y cuando el agua se enriquecen artificialmente con aguas residuales como en el caso del humedal Choc Choc, ocurre un proceso llamado eutrofización. Provocando crecimientos masivos de algas que privan a las plantas y animales acuáticos de oxígeno y luz, llegando a aniquilar el ecosistema original del humedal. Si bien los humedales, tanto naturales como artificiales, pueden contribuir a reducir los efectos de la eutrofización, debe prestarse mayor atención al control de la contaminación en el origen (Secretaría de la convención Ramsar, s.f.).

Paredes (2010), señala que: evidenció la existencia de una sucesión progresiva de la destrucción del borde de los humedales, por la basura domiciliar que es arrojada allí, creando un incentivo para el resto de la población, que continua con la acumulación de residuos. Cuando el sector se establece como basural clandestino, no pasa mucho tiempo para que cascotes de concreto y restos de construcciones de vivienda sean arrojados para rellenar el lugar con desechos y cuando un sector se rellena por este proceso clandestino existen dos posibilidades: que sea invadido por especies exóticas vegetales y que se utilice para la construcción de manera legal o ilegal, entonces esta es la etapa final de la ocupación del humedal, lo que crea un nuevo límite provocando que el ecosistema desaparezca por completo. En las lagunas del humedal Choc Choc no solo se rellena con residuos de construcción y demolición el borde sino también el interior, causando destrucción de la flora, fauna terrestre y acuática.

La evaluación de la calidad del agua muestra que existe alteración de los hábitats acuáticos (Ver Tabla 2), según Abarca (s.f.), la alta concentración de materia orgánica afecta negativamente los niveles de oxígeno disuelto en el agua, y si cae por debajo de 5.0 mg/L la vida acuática corre riesgo, a niveles menores a 2.0 mg/L peces e invertebrados sufren mortandad porque el agua alcanzó virtualmente anoxia. Los resultados de la investigación (Oxígeno Disuelto igual 0), apoyan esta afirmación en las lagunas muestreadas no se observa peces, tampoco flora acuática debido a la falta de oxígeno.

Asimismo, Gattenlöhner (2004); señala que: las plantas acuáticas que viven dentro del agua y las plantas emergentes que se instalan en los bordes ofrecen información valiosa del estado de conservación de los ecosistemas acuáticos. En el caso del humedal Choc Choc, las plantas emergentes de mayor tamaño son las infeas (*Typha angustifolia*), este tipo de planta crece en zonas donde la permanencia del agua es mayor y no solo tolera la contaminación de las aguas sino que crecen más robustas y abundantes cuando los ecosistemas se contaminan (Gattenlöhner, 2004). La eutrofización produce de manera general un incremento de la biomasa y empobrecimiento de la diversidad biológica, la afirmación anterior explica las pocas especies de flora encontradas dentro de las lagunas, donde *Typha angustifolia* es la especie dominante ocupando 89% (Laguna A) y 57% (Laguna B) del área respectivamente

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) es uno de los indicadores más importantes en la medición de la contaminación en aguas residuales (Raffo y Ruiz, 2014) y según Abarca (s.f.), el

resultado DBO mayor de 30 mg/L, significa que el agua está contaminada con descargas de agua principalmente de origen municipal, los datos obtenidos (31,17 mg/L) de la muestra analizada corroboran la afirmación. La materia orgánica requiere oxígeno para ser degradada y a su vez el alto contenido orgánico favorece la proliferación de bacterias y hongos, como consecuencia el oxígeno utilizado para la oxidación de la materia orgánica, consume el oxígeno utilizado para el desarrollo de la flora y fauna acuática, algunos de los efectos en el ecosistema son: cambio en la calidad del agua, posible elevación del pH, desaparición de peces y plantas (Raffo y Ruiz, 2014).

Las familias Ardeidae, Scolopacidae y Laridae son las predominantes en el humedal Choc Choc, coincidiendo con lo reportado por Iannacone et al., (2010), en donde menciona que estas familias son características de los humedales costeros del Neotrópico. Se reportan 9 especies migratorias boreales y una migratoria altitudinal, este bajo número probablemente se deba a que esta investigación no se llevó a cabo en época de migración, y también a la pérdida del hábitat, que trae como consecuencia que las aves se desplacen a otros ambientes en busca de alimento y refugio.

La gran mayoría de especies de las familias Scolopacidae y Charadriidae dependen de una cadena de ambientes acuáticos altamente productivos para alimentarse y descansar, y de esta manera completan la migración anual (Pulido, 2010), además durante los avistamientos se observó a *Plegadys ridgwayi*; especie migratoria altitudinal. Los resultados reportan que el 78,57% son aves residentes, que tiene relación con preferencias y características de la vegetación circundante (Pronaturaleza, 2010). Es de necesidad vital proteger este ecosistema porque es el lugar de descanso de las aves migratorias y donde las especies residentes encuentran alimento y cobijo a pesar de encontrarse el ambiente muy deteriorado, es urgente iniciar su proceso de recuperación. Las autoridades del Municipio de Moche deben implementar una Agenda Local 21 con planes y acciones concretas para conseguir que este distrito tenga un desarrollo económico viable, socialmente beneficioso y ambientalmente responsable.

La importancia y a su vez fragilidad de los humedales no ha sido adecuadamente reconocida por parte de órganos de decisión, comunidades locales, sector empresarial y ciudadano, y por ello no se ha puesto suficiente énfasis en su conservación. Las deficientes políticas públicas de conservación y numerosas actividades antrópicas están contribuyendo al deterioro del humedal Choc Choc. En consecuencia, es necesario diseñar programas de conservación y manejo de estos ecosistemas costeros, su biodiversidad y de los servicios ecosistémicos que proporcionan a la sociedad.

5. CONCLUSIONES

Los factores influyentes inducidos por la acción humana en el entorno y dentro del ecosistema son: actividad agrícola, ganadería, materia orgánica en descomposición, procesos de urbanización, relleno, sedimentación, vertimiento de aguas residuales, vertimiento de residuos sólidos y afectación de la estructura del suelo.

Los problemas generados en el humedal como consecuencia de la acción de los factores antes mencionados son: contaminación hídrica, desecación del humedal, desaparición de especies pioneras, erosión del suelo, procesos de eutrofización, proliferación de especies oportunistas, alteración de los ciclos biológicos, anoxia en las lagunas, fragmentación del hábitat; todos los cambios generados son negativos porque ocasionan la pérdida de la biodiversidad y afectan la calidad de los hábitats.

Impactos ambientales causados en las lagunas del humedal Choc Choc: Mala calidad del agua, pérdida de flora, biodiversidad y espejo de agua.

Los parámetros utilizados para medir la calidad del agua de las lagunas comparado con los estándares de calidad son diferentes y demuestran el estado de degradación en el que se encuentra el humedal.

La avifauna se ve afectada a consecuencia de los problemas generados por la desecación del humedal y la disminución de los espejos de agua

6. AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luis Pollack Velásquez por el registro fotográfico de las aves. A Andy Gerónimo Chávez, Estudiante de la Universidad Católica de Trujillo por su apoyo durante las evaluaciones.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Secretaria de la Convención de Ramsar (2006). Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971), 4ª. Edición. Secretaria de la Convención de Ramsar, Gland (Suiza). Disponible en: https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/pdf/lib/lib_manual2006s.pdf.
2. Junk, W.J., An S., Finlayson, M., Gopal, B., Kvet, J., Mitchell, S.,.... Robarts, R. (December 2012). Current state of knowledge regarding the world's wetlands and their future under global climate change: A synthesis. *Aquatic Sciences* 75(1). Available in: DOI: 10.1007/s00027-012-0278-z.
3. Convención de Ramsar sobre los Humedales. (2018). Perspectiva Mundial sobre los humedales: Estado de los humedales del mundo y de los servicios que prestan a las personas 2018. Informe Secretaria de la Convención de Ramsar. Gland (Suiza). Disponible en: https://static1.squarespace.com/static/5b256c78e17ba335ea89fe1f/t/5b9ffde60e2e7277f629f8df/1537211926308/Ramsar+GWO_SPANISH_WEB.pdf
4. Fernández, L., Labrada, M., Barranco, G., Cárdenas, O., Martín, G., Couzan, Y.,..... Lemus, Y. (2013). Evaluación del estado y tendencias de los principales humedales de Cuba: Problemáticas ambientales e indicadores de presión, estado e impactos. [PDF file] Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Disponible en: <http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/3571/3/Evaluaci%C3%B3n%20de%20%20los%20cambios%20de%20estado%20en%20ecosistemas.pdf>.
5. Green, A. & Figuerola, J. (2003). Aves acuáticas como bioindicadores en los humedales. Instituto de Estudios Almerienses. [Archivo PDF]. Disponible en: http://www.ebd.csic.es/andy/Aves_como_Bioindicadores.pdf.
6. Vizcarra, J., Hidalgo, N. & Chino, E. (2009). Adiciones a la avifauna de los Humedales de Ite, costa sur de Perú. *Rev. Peru. Biol.* 16(2): 221-225. Recuperado desde: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v16n2/a17v16n2>.
7. Ministerio del Ambiente. (2015). Estrategia Nacional de Humedales. Editor Dirección Nacional de Diversidad Biológica. Lima: Inversiones Tronic S.R.L.
8. Mateo, L. (15 de marzo de 2010) Normatividad Ambiental en el Perú y en el Mundo [mensaje en un Blog] Gestipolis. Recuperado de: <https://www.gestipolis.com/normatividad-ambiental-peru-mundo/>.
9. Arango, X. & Cuevas, V. (2013). Método de Análisis Estructural: Matriz de Impactos Cruzados Multiplicación aplicada a una Clasificación (MICMAC). [Archivo PDF]. Universidad Autónoma de Nuevo León. Recuperado de: <http://eprints.uanl.mx/6167/1/24.%20capitulo%20Metodologia%20-%20MICMAC%20%28Direcci%C3%B3n%20del%20libro%20a%20la%20venta%20tpwww.tirant.commexlibro9788416062324%23%29.pdf>.

- 10.Ñique, M. (2005). Área de Conservación Regional “Humedales de Choc Choc”. (Propuesta para el Gobierno Regional La Libertad, Perú) [Documento Web]. Recuperado de: <http://www.oocities.org/humedalesperu/chochoc/ChocChoc.htm>.
- 11.Meteorología y Climatología de Navarra. (s.f.). Clasificación climática de Köppen. Gobierno de Navarra. [Documento Web] España. Recuperado de: <http://meteo.navarra.es/definiciones/koppen.cfm>.
- 12.Senhadji-Navarro K., Ruiz-Ochoa, M. & Rodríguez, J.P. (2017). Estado Ecológico de algunos humedales colombianos en los últimos 15 años: una evaluación prospectiva. *Colombia Forestal*, 20(2), 181-191.
- 13.Bibby, C., Burgess, N.D., Hill, D.A. & Mustoe, S.H. (2000). Bird Census Techniques. Second Edition. [File PDF]. *Ecoscope Applied Ecologist*. Recuperado de: <http://bailey.personapi.com/Public-Inquiries/M4-Newport/C%20%20Core%20Documents/11.%20Ecology%20and%20Nature%20Conservation/11.3.4%20-%20Bibby%20et%20al%202000%20Bird%20Census%20Techniques%20Extract.pdf>.
- 14.Schulenberg, T., Stotz D., Lane, D., O’Neill, J. & Parker, T. (2010) Aves de Perú. Serie Biodiversidad- CORBIDI. Lima Perú.
- 15.Plenge, M. (2012) Lista de las aves del Perú. UNOP (Unión de Ornitólogos del Perú), CANDES (Consultores Asociados en Naturaleza y Desarrollo S.A.C.), CORBIDI (Centro de Ornitología y Diversidad. Lima, Recuperado de: <https://sites.google.com/site/boletinunop/checklist>.
- 16.Ministerio del Ambiente (2014). Atlas de las aves playeras del Perú. Dirección General de Diversidad Biológica. [Archivo PDF]. Recuperado de: <http://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wp-content/uploads/sites/21/2014/02/Atlas-de-las-Aves-Playeras-del-Per%C3%BA-FINAL-WEB.compressed.pdf>.
- 17.Matteucci, S. & Colma, A. (1982). Metodología para el estudio de la vegetación. Organización de los Estados Americanos. Serie de Biología.
- 18.Google Imágenes (15 setiembre 2018). Imágenes 2018. Datos del mapa. Google Perú.
- 19.Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua y establecen disposiciones complementarias. Norma Legales Diario Oficial El Peruano. Lima. 07 de junio 2017. Recuperado de: <https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-004-2017-MINAM.pdf>.
- 20.Leighton, P. (01 febrero 2019) Latinoamérica lidera la pérdida de humedales a nivel global [mensaje en un blog] SciDevNet Acercar la ciencia al desarrollo mediante noticias y análisis. Recuperado de: <https://www.scidev.net/america-latina/medio-ambiente/noticias/latinoamerica-lidera-perdida-de-humedales-a-nivel-global.html>.
- 21.Secretaría de la Convención Ramsar (s.f). Retención y exportación de sedimentos y nutrientes. Humedales Servicios de los Ecosistemas. Ficha Informativa 4 [File PDF]. Recuperado de: https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/library/services_04_s.pdf.
- 22.Paredes, D.S. (2010). Determinación de amenazas en humedales urbanos: Estudio de tres humedales de Valdivia, Chile. (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Chile.
- 23.Abarca, F. (s.f.) Técnicas para evaluación y monitoreo del estado de los humedales y otros sistemas acuáticos. Publicaciones INECC Gobierno de México. [Archivo PDF]. Recuperado de: <http://www.publicaciones.inecc.gob.mx/libros/533/tecnicas.pdf>.
- 24.Gattenlöhner U., Hammerl-Resch M., Jantschke S.(2004). Restauración de Humedales - Manejo Sostenible de Humedales y Lagos Someros. [File PDF]. Recuperado de: http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=LIVING_LAKES_manual_ES.pdf.
- 25.Raffo, E. & Ruiz, E. (2014). Caracterización de las aguas residuales y la demanda bioquímica de oxígeno. *Industrial Data Vol.17 Núm.1* (2014). DOI: <https://doi.org/10.15381/idata.v17i1.12035>.
- 26.Iannacone, J., Atasi, M., Bocanegra, T., Camacho, M., Montes, A., Santos, S.,..... Alayo, M. (2010). Diversidad de aves en el humedal Pantanos de Villa, Lima, Perú: período 2004-2007. *Biota Neotrop.* 10(2): 295-304. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032010000200031>.

27. Pulido, V. (2010) Conservación de humedales y aves acuáticas en la costa peruana. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Disponible en: revistas.uigv.edu.pe/index.php/exegesis/article/download/156/165.
28. Pronaturaleza (2010). Humedales de la Costa Peruana. Documento base para la elaboración de una estrategia de conservación de los humedales de la costa peruana. 2010. ISBN: 978-612-45697-1-5. Disponible en: <http://191.98.188.189/Fulltext/13344.pdf>.

ANEXOS:



Fig. 2. *Imperata brasiliensis*, sembrada por los pobladores para alimentar al ganado vacuno, al fondo se puede observar la especie *Schoenoplectus* sp. "totora", y el espejo de agua en la Laguna A



Fig. 3. Espejo de agua en la laguna B



Fig. 4. *Phleocryptes melanops* "junquero" en su nido Laguna A



Fig. 5. *Gallinula galeata* "gallineta americana" Laguna A



Fig. 6. Patos y garzas Laguna B



Fig. 7. *Charadrius vociferus* "chorlito gritón" Laguna B

Artículo Original

**DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA DE LOS
EXTRACTOS DE *Paullinia clavigera* var *bullata* Simpson
y *Solanum mammosum* L. PARA CONTROLAR ÁFIDOS EN
CONDICIONES DE LABORATORIO**

**DETERMINATION OF THE LETAL AVERAGE DOSE OF THE EXTRACTS OF
Paullinia clavigera var *bullata* Simpson and *Solanum mammosum* L. TO
CONTROL AIDES IN LABORATORY**

Maycol Matos Rafael¹, Luz Balcázar Terrones², José Gil Bacilio³, Francisco Sales Dávila⁴

¹ Universidad Nacional Agraria de la Selva. (UNAS), Huánuco, Tingo María - Perú.

² Dirección de Investigación de Diversidad Biológica Terrestre Amazónica. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana / Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria de la Selva. (UNAS), Huánuco, Tingo María - Perú.

³ Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria de la Selva. (UNAS), Huánuco, Tingo María - Perú.

⁴ Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana IIAP – Huánuco, Tingo María - Perú.

*Autor para correspondencia: lbalcazar@iiap.gob.pe

Recibido: 22 de Octubre, 2019. Aceptado: 17 de Diciembre, 2019.

RESUMEN

Para determinar la dosis letal media (DL₅₀) en condiciones de laboratorio de los extractos de *Paullinia clavigera* y *Solanum mammosum* en la mortalidad de áfidos, se aplicaron los tratamientos: T₁ (a₁b₁=*S. mammosum* 25 %), T₂ (a₁b₂=*S. mammosum* 50 %), T₃ (a₁b₃=*S. mammosum* 75 %), T₄ (a₁b₄=*S. mammosum* 100 %), T₅ (a₂b₁=*P. clavigera* 25 %), T₆ (a₂b₂=*P. clavigera* 50 %), T₇ (a₂b₃=*P. clavigera* 75 %), T₈ (a₂b₄=*P. clavigera* 100 %) y T₉ (testigo); se utilizó el diseño completo al azar con arreglo factorial, de 2 x 4 + 1 testigo adicional, con cinco repeticiones. Para la dosis letal DL₅₀, los resultados de mortalidad se ajustaron a los modelos probit y cúbico. Se evaluó: mortalidad acumulada, número de población de áfidos vivos por tratamiento y tiempo de la aplicación biocida a la muerte de los áfidos. El factor dosis influyó significativamente en la mortalidad de áfidos en comparación con el factor biocida que resultó no significativo; cuando interactuaron los factores las respuestas a la mortalidad fueron diferentes, los tratamientos a₁b₄ (*S. mammosum* 100 %), a₂b₄ (*S. clavigera* 100 %) y a₂b₃ (*P. clavigera* 75 %), tuvieron mejor efecto biocida con porcentajes de mortalidad de áfidos del 100 %, 98 % y 98 % respectivamente. Se determinó que para matar el 50 % de los áfidos con extracto de *S. mammosum* se necesitó una dosis de 12.5 % y el DL₅₀ para el biocida *P. clavigera* fue 17.5 % de concentración.

Palabras clave: Biocida, sachá yoco, teta de vaca, áfido, *Solanum*.

ABSTRACT

To determine the mean lethal dose (LD₅₀) under laboratory conditions of the extracts of *Paullinia clavigera* and *Solanum mammosum* in aphid mortality, treatments were applied: T₁ (a₁b₁ = *S. mammosum* 25 %), T₂ (a₁b₂ = *S. mammosum* 50 %), T₃ (a₁b₃ = *S. mammosum* 75 %), T₄ (a₁b₄ = *S. mammosum* 100 %), T₅ (*P. clavigera* a₂b₁ = 25 %), T₆ (a₂b₂ = *P. clavigera* 50 %), T₇ (a₂b₃ = *P. clavigera* 75 %), T₈ (*P. clavigera* a₂b₄ = 100 %) and T₉ (control); complete randomized design was used with factorial arrangement, of 2 x 4 + 1 additional control, with five replicates each treatment and determining the DL₅₀, mortality results are consistent with the probit and cubic models. The parameters evaluated were: accumulative mortality of aphids, aphid population, number of alive for treatment and time the biocide application to the death of aphids. The doses factor had a significant influence on aphids mortality compared with the biocide factor was no significant. However, when factors interact mortality responses were different, so the treatments a₁b₄ (*S. mammosum* 100 %), a₂b₄ (*S. clavigera* 100 %) and a₂b₃ (*P. clavigera* 75 %), they had better biocida effect biocida with mortality rates aphids 100 %, 98 % y 98 % respectively. It was determined to kill 50 % aphids with the extract of *S. mammosum*, it was needed a dose of 12.5 % while the DL₅₀ for biocida *P. clavigera* was 17.5 % of concentration.

Keywords: Biocide, soapberry, nipple fruit, aphid, cocona.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas han evolucionado por más de 400 millones de años y para contrarrestar el ataque de los insectos han desarrollado mecanismos de protección como la repelencia y la acción insecticida (Cofre, 2011; Bonifaz,

2010). Diferentes mecanismos por los cuales, por un lado, atraen a insectos que son beneficiosos para ellas y por otro, se defienden frente al ataque producido por insectos fitófagos (García, 2004). Estos mecanismos de defensa que presentan las plantas pueden ser de tipo físico o químico, gracias a los cuales adquieren una serie de ventajas adaptativas (Boulter, 1993). Gran parte de las reacciones de defensa química se reflejan en una diversidad bioquímica que tiene muy pocos paralelos con otros grupos de organismos; la enorme diversidad fotoquímica y el largo tiempo de evolución de este metabolismo han resultado en interacciones de complejidad creciente. En el caso de las interacciones entre plantas e insectos, por ejemplo, ciertos compuestos con estructuras muy similares pueden ejercer actividades muy disimiles, desde insecticidas hasta repelentes e incluso atrayentes. Tamaña evolución de respuesta no solo resulta fascinante desde el punto de vista biológico, sino que también acarrea consecuencias económicas importantes (Vivanco *et al.*, 2005).

Se han identificado más de 100 000 metabolitos secundarios en plantas (Bhalla *et al.*, 2005). Con la aparición en la década de los cuarenta de los insecticidas sintéticos, se pensó que los insecticidas vegetales desaparecerían para siempre pero el problema de la contaminación del ambiente, los residuos en los alimentos y la resistencia por parte de los insectos han hecho que hoy en día vuelvan a ser tomados en cuenta (Bonifaz, 2010). Los fitoinsecticidas son una muy interesante alternativa de control de insectos, existen publicaciones que hacen un listado de plantas con propiedades insecticidas, documentando hasta 2 500 especies de 247 familias botánicas (Silva *et al.*, 2002).

La Amazonia peruana cuenta con una gran diversidad de especies vegetales, que, entre otros usos pueden ser utilizadas como biocidas. Estudios etnobotánicos en Ucayali, indican que el “sacha yoco” *Paullinia clavigera* var. *bullata* Simpson, Sapindaceae para ser investigados en el control de vectores primarios de la malaria, esencialmente (*Anopheles benarrochi*) y estudios sobre efecto insecticidas de “teta de vaca” *Solanum mammosum*, Solanaceae, en larvas de *Prodiplosis longifila*, en tomate; plantas seleccionadas como recursos botánicos con potencial biocida. Se cree que estas plantas biocidas podrían ejercer control sobre los áfidos que atacan al cultivo de cocona, debido a que tienen sustancias tóxicas como alcaloides, esteroides, cardiotónicos, saponinas, taninos (Pérez 2004; Otoyá, 2014) y triterpenos, flavonoides y quinonas (Iannacone *et al.*, 2000), con propiedades insecticidas que permite un buen control (Cañarte, 2000). El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la dosis letal media (DL₅₀) en condiciones de laboratorio de los extractos vegetales preparados con “sacha yoco” *Paullinia clavigera* var. *bullata* Simpson y “teta de vaca” *Solanum mammosum* Dunal para control de áfidos que atacan al cultivo de *Solanum sessiliflorum* Dunal.

2. MATERIALES y MÉTODOS

Crianza de afidios

Se ubicaron plantas de *Solanum sessiliflorum* Dunal, en el campo con poblaciones de *Aphis gossypii* Glove; fueron colectados individuos adultos, libres de parásitos, de una parcela de cocona de ocho meses de edad, instalada en el Centro Experimental IIAP Huánuco, ubicada en la provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco. Se escogieron ocho plantas libres de *A. gossypii* y de otros insectos, cuales se colocaron en una jaula cuadrada de 4 m² con 1.70 m de altura, cubierta de malla antifida con la finalidad de evitar el ingreso de otros insectos, a las cuales se las infectó con una población de 10 áfidos adultos. Después de 30 días fueron colectados 450 áfidos adultos en placas Petri y brotes de *S. sessiliflorum*, para la sobrevivencia de los individuos en laborator

Material vegetal

Las hojas de *P. clavigera* fueron colectadas en Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), distrito de Yarinacocha, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali, carretera Federico Basadre Km. 12.400. 8°24'18" S y 79°36'23" O. Los frutos de *S. mammosum* fueron colectados en Aucayacu, distrito de José Crespo y Castillo, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, Latitud: -8.93139, Longitud: -76.1132.

Extracto botánico

Para la obtención del extracto madre de *S. mammosum* se maceró 100 g de frutos frescos en un litro de etanol al 96% durante siete días en un frasco de vidrio ámbar, periodo en el cual se agitó diariamente el frasco por diez segundos. El filtrado se realizó para separar el extracto obtenido de los residuos de materia seca. La dilución se realizó con agua destilada. El extracto de *P. clavigera* fue preparado con 100 g de biomasa (hoja molida) en una balanza y en un litro de agua destilada. Se picaron y trituraron las hojas; para realizar el macerado con un litro de agua hervida por un lapso 30 minutos, seguidamente se filtró en una tela fina, se descartó la torta. La relación cuantitativa (p/v) fue de 1:10 (100 g de biomasa seca por litro de solvente). Se realizó el proceso antes de la aplicación a los tratamientos. Al filtrado se le agregó agua destilada suficiente, de los cuales se obtuvieron los tratamientos a diferentes concentraciones (Iannacone *et al.*, 2008). Las dosis de aplicación se prepararon por dilución de una solución madre inicial de 100 ml a la cual se le fue mezclando con agua para obtener la dosis experimental, es así que para obtener una dosis de 25 % de cualquiera de los biocidas se tuvo que mezclar la solución madre con 75 ml de agua, siguiendo este procedimiento las demás dosis (50 %, 75 % y 100 %).

Bioensayos

Para determinar la actividad insecticida, se hizo aplicaciones de los biocidas a una dosis 25%, 50%, 75% y 100%, estas se efectuaron después de haber distribuido 10 pulgones en cada placa Petri, constituyendo cada placa una unidad experimental, se utilizó un frasco aspersor, donde se tuvo en cuenta la uniformidad en la aplicación y agitación constante del extracto. Las evaluaciones se realizaron a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 horas después de la aplicación de los extractos. Para ello los resultados se expresaron en porcentajes de mortalidad acumulada, el cual nos sirvió para determinar la dosis letal media (DL₅₀) con los modelos probit y cúbico.

Metodología estadística

Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico Infostat. Se utilizó el DCA con arreglo factorial 2 x 4+1, con un testigo adicional, con cuatro tratamientos y seis repeticiones. Para determinar las comparaciones entre los tratamientos en estudio se utilizó la Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) y para la aplicación de los modelos matemáticos se utilizó el software Microsoft Excel.

3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

Mortalidad de los áfidos

Los resultados obtenidos de la prueba estadística ANOVA, para la mortandad de áfidos a cinco horas, después de la aplicación del extracto; el factor Biocida no presentó influencia significativa en la mortalidad de los áfidos; sin embargo, el factor Dosis sí mostró influencia significativa, como también su interacción de Biocida-Dosis, y Factores-testigo. Por tal motivo se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05, del cual se puede observar en la Tabla 1. Las dosis 75% y 100% no son significativamente diferentes, al igual que las dosis 50 % y 25%.

Tabla 1. Prueba de comparaciones de Tukey para las dosis aplicadas de los extractos biocidas.

Dosis	Medias		
100%	99	a	
75%	91	a	
50%	82		b
25%	77		b

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$)

b: significancia = 0.371

a: significancia = 0.057

El análisis de comparación múltiple entre el factor Biocida – Dosis, presentado en la Tabla 2, muestra que los tratamientos T4, T8 y T7, no son significativamente diferentes entre sí; sin embargo, difieren estadísticamente con los tratamientos T3, T6, T2 y T5 que son significativamente similares entre sí. Estos resultados para el factor biocida indican que *P. clavigera*, con un porcentaje de mortalidad hasta un 98 % a 75 % y 100 % de concentración del extracto vegetal puede tener efecto biocida. Celis *et al.* (2008), mencionan que los principales componentes que causan el efecto biocontrolador son metabolitos secundarios como terpenos, lignanos, alcaloides, esteroides, utilizado como mecanismo de defensa natural por la plantas frente al ataque microbiano o a la de predación de insectos o animales; Dixon (2001) y Ducrout (2005), indican que en *Paullinia clavigera*, presenta características fotoquímicas de los metabolitos secundarios con potencial biocida; al respecto Iannacone *et al.* (2000), mencionan, que la efectividad de los insecticidas vegetales es dependiente de la sustancia orgánica empleada para su extracción y aplicación. Según Iannacone y Pérez (2008), señalan que depende de los tipos de extractos; los extractos hexánicos obtenidos de *P. clavigera* son triterpenos, flavonoides, quinonas, de los extractos clorofórmicos se obtiene saponinas, esteroides, flavonoides, cumarinas y quinonas y de los extractos hidroalcohólicos saponinas, fenoles, flavonoides, cumarinas y quinonas; siendo los triterpenos responsables de la actividad tóxica. Cartaya y Reynaldo (2001) mencionan que algunos alcaloides son neurotóxicos a insectos y vertebrados herbívoros. Es así, como algunos metabolitos secundarios constituyen una parte importante de la respuesta de la defensa de las plantas sometidas al ataque por las plagas. Amadiola (2000), señala que las diferencias en la toxicidad de diferentes extractos pudieran deberse a la solubilidad de sus compuestos activos en los solventes o a la presencia de inhibidores activos en los solventes o de inhibidores de principios insecticidas. *S. mammosum* tiene un mayor porcentaje de mortalidad, se cree que es debido a su composición y modo de acción biocida ya que contiene taninos, saponoides, glicósidos cardiotónicos y saponinicos, esteroides, triterpenos y sesquiterpenlactona (Hernández *et al.*, 1997); además, en el fruto contiene alcaloides esteroidales como solamargina y tomatina, aseverando una correlación de la toxicidad con el tipo de aglicona enlazado en la estructura alcaloidal (Alzerreca *et al.*, 1981). *S. mammosum*, utilizado con disolventes como hexano, presentó diferencias de poca magnitud con el testigo para el control de *Radopholus similis*, baja mortalidad con el uso de metanol en intervalo de evaluación de 24, 48 y 72 horas; se consideró el disolvente con mayor potencial para compuesto nematocidas causando mortandad en todos los intervalos de evaluación de hasta un 76 % y concluyendo que lo compuestos extraídos, fueron coumarinas, flavonoides y sesquiterpenlactonas con efecto biocidas, de *S. mammosum* (López, 2010). Resultados obtenidos en otros estudios indican la presencia de carbohidratos, compuestos fenólicos, esteroides y alcaloides (Barahona y Guevara, 2007, Pino, Sánchez y Rojas 2013); entre los tipos de alcaloides encontrados en esta especie están los alcaloides esteroidales (solasodina) y glucoalcaloide (Solanina). Estos alcaloides de naturaleza tetracíclica cuaternarios o terciarios son antifúngicos (Castillo *et al.*, 2010); sin embargo, la solanina es un glucósido alcaloide muy tóxico que incluso en pequeñas cantidades, posee propiedades fúngicas y pesticidas, lo cual es una de las defensas naturales de la planta (Sepúlveda *et al.*, 2003).

Tabla 2. Comparación de medias (Duncan $\alpha = 0.05$) del porcentaje acumulado de mortalidad de áfidos a las 5 horas después de la aplicación de los tratamientos.

Código	Clave	Tratamiento (aplicación)	Mortalidad (%)	Significancia	
T ₄	a ₁ b ₄	<i>Solanum mammosum</i>	100%	100	a
T ₈	a ₂ b ₄	<i>Paullinia clavigera</i>	100%	98	a
T ₇	a ₂ b ₃	<i>Paullinia clavigera</i>	75%	98	a
T ₃	a ₁ b ₃	<i>Solanum mammosum</i>	75%	84	b
T ₆	a ₂ b ₂	<i>Paullinia clavigera</i>	50%	84	b
T ₂	a ₁ b ₂	<i>Solanum mammosum</i>	50%	80	b
T ₁	a ₁ b ₁	<i>Solanum mammosum</i>	25%	80	b
T ₅	a ₂ b ₁	<i>Paullinia clavigera</i>	25%	74	b

Evolución de la mortalidad de los áfidos

La tendencia de la mortalidad obtenida con los extractos de *Paullinia clavigera* y *Solanum mammosum* a 100 %, 75 %, 50 % y 25 % se presenta en la Figura 1, respectivamente. La regresión con mejor ajuste en todos los casos fue polinomial de segundo grado, debido a que los biocidas tienen porcentajes de mortalidad crecientes formando una curva de mortalidad, ajustes polinómicos similares fueron obtenidos por Lizana (2005), cuando probó la eficiencia biocida de *Melia azedarach* L. sobre *Anastrepha striata* Schiner. En esta figura se observa que las mortalidades de los áfidos con los extractos en sus diferentes concentraciones son similares, así mismo se ve que algunos tratamientos llegan a producir la muerte de los áfidos gradualmente hasta las cinco horas, donde se presentó mayor mortalidad, después de la aplicación de los tratamientos, posteriormente hasta las ocho horas evaluada el testigo no presentó mortalidad. Esta acción insecticida, se debería a una respuesta de defensa de los biocidas, tanto espacial como temporalmente para una contención rápida del patógeno, conocida como respuesta sistémica (Sepúlveda *et al.*, 2003). La mortalidad de áfidos con *S. mammosum* al 100% resulta mejor y evidente para todas las evaluaciones en comparación con las demás dosis de aplicación, mientras *P. clavigera* al 100 % resulta tener el mismo comportamiento con *P. clavigera* al 75 % al final de la evaluación. Por lo que se podría recomendar *P. clavigera* al 75 % para el control de áfidos, puesto que tiene el mismo efecto, sin embargo, un análisis económico de los tratamientos en prueba sería más conveniente en la hora de realizar una recomendación.

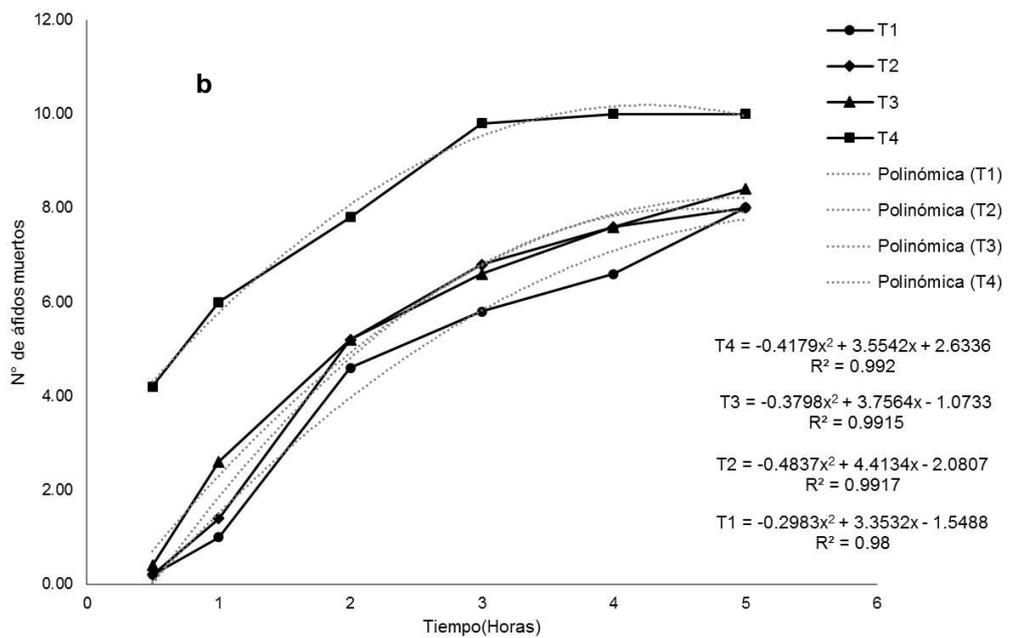
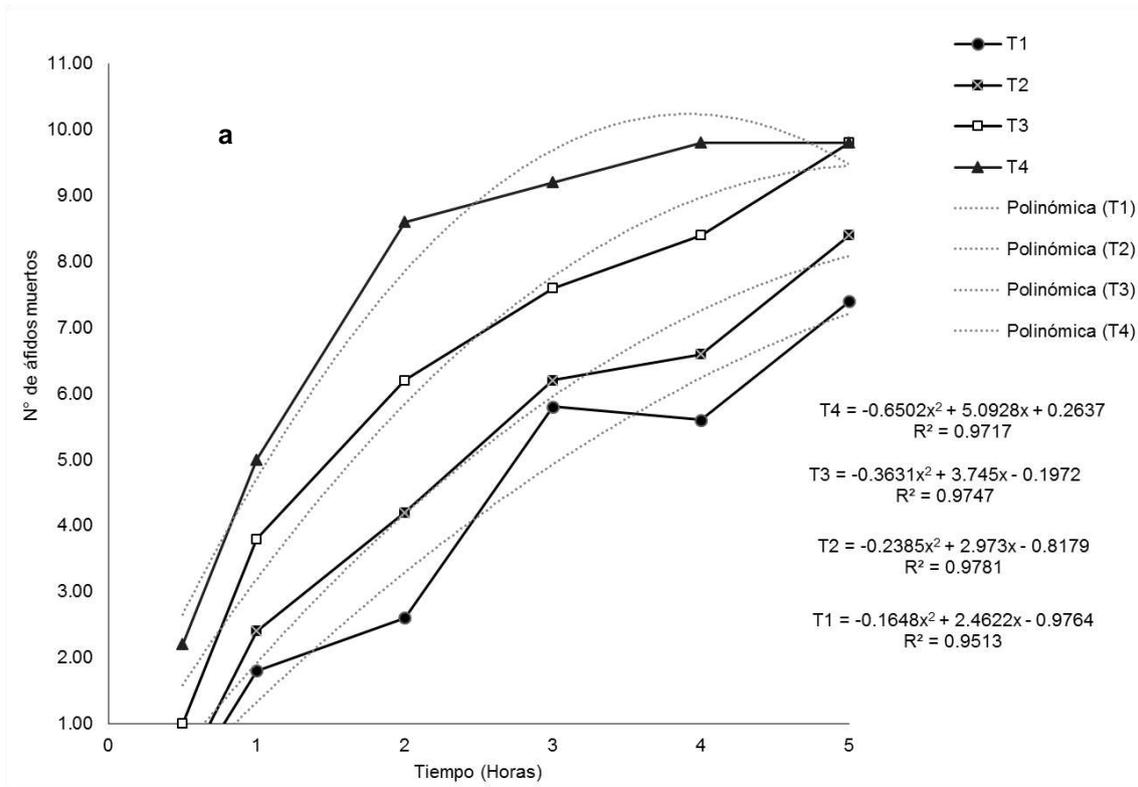


Figura 1. Evolución de la mortalidad de áfidos con extractos de *Paullina clavigera* (a) y *Solanum mammosum* (b) a diferentes concentraciones.

Dosis letal media

Los resultados del ajuste al modelo probit y cúbico para determinar la DL_{50} del extracto de *S. mammosum* se presentan en la Figura 2, se aprecia que el modelo cúbico ($R^2=0.99$) se ajusta más a la curva de tendencia de mortalidad que el modelo probit ($R^2=0.95$). Es decir, el modelo cúbico explica mejor la mortalidad de áfidos debido a que hay un buen grado de asociación entre los datos, por lo que la ecuación construida tiene una confiabilidad de del 99% para realizar estimaciones y predicciones este resultado es corroborado por Carmona-Hernández, *et al* (2014), quien menciona que los modelos no lineales explican mejor los fenómenos biológicos en comparación con los modelos lineales.

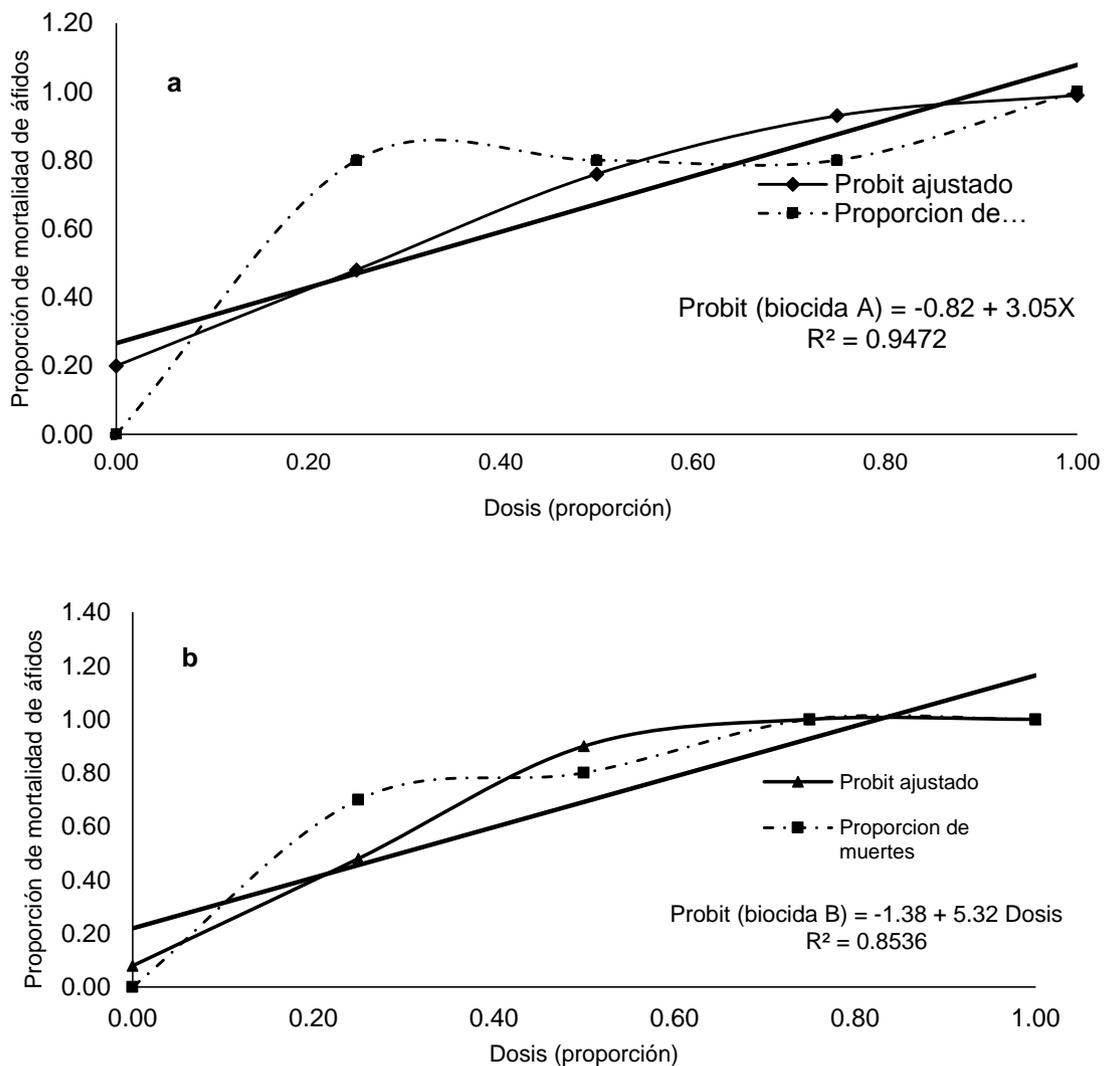


Figura 2. Proporción observada de muertes de áfidos según dosis crecientes de *Solanum mammosum* (a) y *Paullinia clavigera* (b) y modelo probit ajustado.

Así mismo, se observa la DL₅₀ para el modelo probit y cúbico es de 27 y 12.5 % respectivamente, lo que quiere decir que para matar el 50 % de los individuos tratados en el experimento, se necesita aplicar extracto de *S. mammosum* al 27 % cuando se utiliza el modelo probit y cuando se utiliza el modelo cúbico es tan solo de 12.5 %.

Si comparamos el efecto biocida de *P. clavigera* y *S. mammosum* utilizando el modelo probit basados en el DL₅₀ resulta que no hay mucha diferencia significativa puesto que tienen 26 % y 27 % respectivamente, mientras si la comparación se hace utilizando el modelo cúbico hay diferencias significativas, debido a que para matar el 50 % de los individuos de la muestra se necesita utilizar extracto de *P. clavigera* (17.5%) a una concentración mayor que *S. mammosum* (12.5 %), estos resultados hacen que el modelo cúbico sea más confiable además tiene un coeficiente de correlación mayor que el modelo probit para ambos extractos. Sin embargo, si analizamos las respuestas (mortalidad) de la curva cúbica de la Figura 2a, indican que para matar 85 % de áfidos se debe utilizar una dosis de 50 % del extracto de *S. mammosum*, mientras que para matar un 77 % de áfidos se necesita un 75 % de concentración del extracto, es decir que a mayor dosis menor mortalidad de áfidos lo que sería incorrecto, por lo que el modelo se hace menos confiable al haber puntos de concavidad a lo largo de la curva. Este hecho es corroborado por Capra (2002), quien menciona que las ecuaciones no lineales sólo eran planteadas ocasionalmente, debido a que eran demasiado complejas y eran reemplazadas por aproximaciones lineales lo que ha conllevado a errores permanentes al creerse que los fenómenos naturales podrían ser descritos por ecuaciones lineales. Por otro lado, el modelo probit (Figuras 2b y 3), sigue un patrón creciente, es decir que a mayor dosis hay mayor mortalidad de áfidos debido a que no hay puntos de concavidad, dando como resultado coeficientes positivos, sin embargo el modelo no es confiable cuando se trata de estimar el DL₅₀ pero se vuelve más confiable al incrementar la dosis de aplicación, coincidiendo con Casanoves *et al.* (2010), quienes mencionan que el análisis probit es el que más se ajusta para ensayos de plaguicidas, siempre que las dosis sean crecientes, por lo que el modelo en general es aceptable además los coeficientes de regresión son significativos.

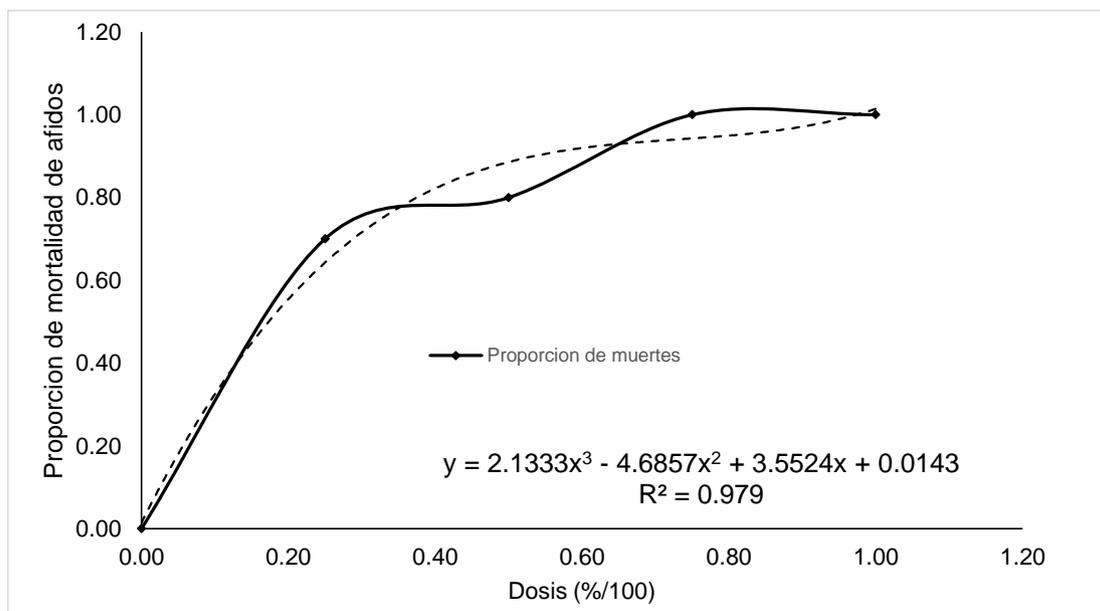


Figura 3. Proporción observada de muertes de áfidos según dosis crecientes de *Paullinia clavigera* y modelo cúbico ajustado.

Por todo lo mencionado, el modelo cúbico resulta mejor para calcular la dosis letal media, donde para matar el 50 % de los áfidos con extracto de *S. mammosum* se necesita una dosis de 12.5 %, mientras el DL₅₀ para el biocida *P. clavigera* es 17.5 % de concentración, resultando más tóxico el extracto de *S. mammosum*, este hecho coincide con Villalobos (1996) y Rodríguez (1997), quienes mencionan que mientras menor es la DL₅₀, mayor es la toxicidad del producto.

4. CONCLUSIONES

Los tratamientos a₁b₄ (*Solanum mammosum* 100 %), a₂b₄ (*Paullinia clavigera* 100 %) y a₂b₃ (*P. clavigera* 75 %), tuvieron mejor efecto biocida con porcentajes de mortalidad de áfidos del 100, 98 y 98 % respectivamente, mientras que en los demás tratamientos los porcentajes de mortalidad fluctúan desde 84 % en el tratamiento a₁b₃ (*S. mammosum* 75 %), hasta 74 % en el tratamiento a₂b₁ (*P. clavigera* 25 %).

Para matar el 50 de los áfidos con extracto de *S. mammosum* se necesita una dosis de 12.5 %, mientras el DL₅₀ para el biocida *P. clavigera* es 17.5% de concentración.

El factor dosis tuvo una influencia significativa en la mortalidad de áfidos en comparación con el factor biocida que resultó no significativo. Sin embargo, cuando interactúan los factores las respuestas a la mortalidad son diferentes.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Amadiola, A.C. 2000. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop Protección*. 19: 452-460.
2. Alzérreca, A.; Arboleda, B.; Hart, G. 1981. Molluscicidal activity of natural products. The effect of *Solanum glycosides alkaloids* on *Limnea cubensis* Snails. *J. Agric. Univ. P. R.* 65:69-72.
3. Barahona, A., Guevara, B. 2007. Determinación de alcaloides esferoidales en extracto alcohólico el fruto de *Solanum mammosum* (chichigua) por cromatografía de capa fina. Tesis lic. El Salvador. Honduras, Universidad Tecnológica el Salvador. 90 pág.
4. Bhalla, R., Narasimham K., Swarup, S. 2005. Metabolomics and its role in understanding cellular responses in plants. *Plant cell Rep* 24: 562-571.
5. Bonifaz, P. 2010. Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) hidrolizada y no hidrolizada sobre (*Drosophila melanogaster*) en Riobamba. Tesis de Lic. Chimborazo, Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 69 p.
6. Boulter, D. 1993. Insect pest control by copying nature using genetically engineered crops. *Phytochemistry*: 34: 1453- 1456.
7. Castillo-Sanchez, L., Jiménez-Osorni, J. y Delgado-Herrera, M. 2010. Secondary metabolites of the annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(2010): 445 -462.
8. Casanoves, F.; Di Rienzo J.A.; Balzarini M.G.; González L.; Tablada M. y Robledo, C.W. 2010. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 200 p.
9. Capra, F. 2002. La trama de la vida. Una nueva perspectiva de los sistemas vivos. Anagrama. Barcelona, España. 65 p.
10. Cañarte, E. 2000. Oportunidad de los insecticidas vegetales en el manejo racional de cultivos rentables. Simposio Internacional de Manejo Racional de Insecticidas. Chillán, Chile. Pp. 24 - 47.

11. Carmona-Hernández, O., Fernandez, M. Palmeros -Sanchez, B., Lozada Garcia, J. 2014. Actividad insecticida de extractos etanolicos foliares de nueve piperaceas (*Piper spp*) en *Drosophila melanogaster* . Revista internacional de contaminación ambiental Vol. 30, 2014, pp 67-73.
12. Celis, A., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W. y Enrique, L. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía Colombiana*. Volumen 26, Número 1, p. 97-106.
13. Cofre, S. 2011. Determinación de la actividad insecticida y/o antialimentaria del aceite esencial de *Tsinzu* (*Tagetes minuta*) en *Drosophila melanogaster*. Tesis, Lic. Riobamba, Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 88 p.
14. Cartaya, O., & Reynaldo, I. 2001. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-14.
15. Dixon, R. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature* 411, 843 – 847.
16. Ducrot, P.H. 2005. Organic chemistry's contributivos to the understanding of biopesticida activity of natural products from higher plants. pp. 47–58. En: Regnault, R.C., B.J.J. Philogeney C. Vincent (eds.). *Biopesticides of plant origin*. Lavoiser and Intercept, Ltd., Paris and Andover. 313 p.
17. Garcia, C. 2004. Efectos de terpenoides naturales y hemisinteticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) y *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). Memoria para optar el grado de doctor. Madrid. España. Universidad Complutense de Madrid. 119 p.
18. Hernández, A.; Sanabria, E.; Barrios, M. 1997. Extractos radicales de *Bidens pilosa* y *Melampodium divaricatum* y su efecto inhibitorio en la eclosión de huevos de *Meloidogyne incognita*. Annual Meeting APS-Caribbean Division, San José, CR. Universidad Nacional de Costa Rica. 25 p.
19. Iannacone, J., Alvaríño, L. y Pérez, D. 2008. Efecto de *Paullinia clavigera* "Sacha yoco" (Sapindaceae) sobre la eclosión de huevos de *Fasciola hepatica*. *Neotropical Helminthology*, 2(2): 54 – 60.
20. Iannacone, J., y Pérez, D. 2008. Efecto toxico de cuatro plantas amazónicas sobre *Chironomus calligraphus* Goeldi 1905 (Diptera: Chironomidae) y *Artemia franciscana*. *Kellog 1906* (Anostraca: Artemiidae). *Revista Brasileira de Toxicología* 21, n.1 (2008) 25 – 3.
21. Iannacone, J. y Lamas, G. 2000. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. *Entomotropica*. Vol. 18(2): 95-105. Agosto 2003.
22. Lizana, R.R. 2005. Elaboración y evaluación de extractos del fruto de *Melia azedarach* L. como insecticida natural. Tesis Ingeniero Forestal. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 56 p.
23. López, A. 2010. Evaluación de extractos de cuatro especies de plantas y sus compuestos orgánicos sobre la mortalidad de *Radopholus similis* en condiciones in vitro. Tesis. Lic. Costa Rica. Tecnológico de Costa Rica. 112 pag.
24. Otoyá, L. 2014. Manejo de dos densidades de siembra y podas en la producción de *Solanum mammosum* L. (teta de vaca) y determinación de las propiedades insecticidas de los frutos. Tesis. Lic. Trujillo, Perú. Universidad Antenor Orrego. Trujillo, Perú. 86 p.
25. Pérez, D., Iannacone, J. 2004. Efecto insecticida de sacha yoco (*Paullinia clavigera* var. *bullata* Simpson) (Sapindaceae) y oreja de tigre (*Tradescantia zebrina* Hort ex Bosse) (Commelinaceae) en el control de *Anopheles benarrochi* Gabaldon, Cova García y López, 1941, principal vector de malaria en Ucayali, Perú. FALTA LUGAR Y PAGINAS
26. Pino, O. Sánchez, Y. & Rojas, M. 2013. Plant secondary metabolites as alternativas in pest management. II: An overview of their potential in Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 28(2), 95-108.
27. Rodríguez, C.; Silva, G. y Djair, V. 2003. Bases para el manejo racional de insecticidas: Insecticidas de origen vegetal. Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, y Fundación para la Innovación Agraria. Pp. 89 -111.
28. Rodríguez, H. 1997. Insecticidas y agricultura orgánica. Memoria del evento de aprobación en Certificación de Agricultura Orgánica, SAGAR-CP, Colegio de Postgraduados. Montecillo. Texcoco, México. Pp.162-197.

29. Sepúlveda, J.G.; Porta, D.H. & Rocha, S.M. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21(3), 355-363.
30. Silva, G.; Lagunes, A.; Rodríguez, J.C. y Rodríguez, D. 2002. Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*. 66: 4 - 12.
31. Vivanco, J., Cosío, E., Loyola, V., Flores, H. 2005. Mecanismos químicos de defensa de las plantas. *Investigación y Ciencia*. Barcelona, España. Vol. 341. 68 p.
32. Villalobos, P. 1996. Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid. 35 p.

Artículo Original

EFFECTO DE LA 6- BENCILAMINOPURINA Y DEL MÉDIO DE CULTIVO MS (1962) EN EL ESTABELECIMIENTO *IN VITRO* DE *Prosopis pallida* (WILLD.) KUNTH

EFFECT OF 6- BENZYLAMINOPURINE AND THE CULTURE MEDIUM MS (1962) ON THE *IN VITRO* ESTABLISHMENT OF *Prosopis pallida* (WILLD.) KUNTH

Diego José Campos León¹, Claudia Cristina Chávez Alcántara ¹, Segundo Eloy Lopéz Medina ¹, José Mostacero- León ¹, Armando Efraín Gil- Rivero¹; Angélica Lopéz -Zavaleta ¹; 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 – Perú.

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

Recibido: 2 de Setiembre, 2019. Aceptado: 10 de Noviembre, 2019.

RESUMEN

Prosopis pallida (Willd.) Kunth, es el principal símbolo de los bosques secos del norte del Perú, catalogándose como especie de importancia ecológica, al contribuir con el crecimiento y desarrollo de especies autóctonas de animales. Sin embargo, por su importancia económica constituye ser una especie amenazada al obtenerse leña que es comercializada por los pobladores aledaños. Siendo necesario la obtención de protocolos de propagación que permitan la producción masiva de plántulas con fines de reforestación, siendo la propagación *in vitro* una buena alternativa. Ante ello se propuso como objetivo determinar el efecto de la 6- Bencilaminopurina y del medio de cultivo MS (1962), en el establecimiento *in vitro* de *P. pallida* (Willd.) Kunth. El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de papa y Cultivos Andinos. Donde se preparó diferentes concentraciones de medio de cultivo MS (1962), suplementado con diferentes concentraciones de 6- Bencilaminopurina. Se aplicó un diseño de bloques completos al azar. Se concluye que T4, constituido por 1/2 MS (1962) y 0.00 ppm BAP es el mejor en lo referente a longitud, mientras que T7, constituido por un 1/3 MS (1962) y 0.00 ppm BAP es el mejor en lo referente al número de raíces de *P. pallida* (Willd.) Kunth.

Palabras claves: Establecimiento *in vitro*, *Prosopis pallida*, 6- Bencilaminopurina.

ABSTRACT

Prosopis pallida (Willd.) Kunth, is the main symbol of dry forests in northern Peru, being classified as a species of ecological importance, contributing to the growth and development of native species of animals. However, due to its economic importance, it constitutes a threatened species when obtaining firewood that is commercialized by the surrounding inhabitants. It is necessary to obtain propagation protocols that allow the mass production of seedlings for reforestation purposes, with *in vitro* propagation being a good alternative. In view of this, it was proposed to determine the effect of 6-benzylaminopurine and the MS culture medium (1962), in the *in vitro* establishment of *P. pallida* (Willd.) Kunth. The experimental work was developed in the Biotechnology Laboratory of the Andean Potato and Crops Institute. Where different concentrations of MS culture medium (1962) were prepared, supplemented with different concentrations of 6- benzylaminopurine. A randomized complete block design was applied. It is concluded that T4, consisting of 1/2 MS (1962) and 0.00 ppm BAP is the best in terms of length, while T7, consisting of 1/3 MS (1962) and 0.00 ppm BAP is the best in concerning the number of roots of *P. pallida* (Willd.) Kunth.

Keywords: *In vitro* establishment, *Prosopis pallida*, 6- Benzylaminopurine.

1. INTRODUCCIÓN

Prosopis pallida (Willd.) Kunth “algarrobo” pertenece a la familia Fabaceae (Trópicos, 2019), es un árbol perennifolio de hasta 20 metros de altura y es el símbolo principal de los bosques secos del norte del Perú. Representa una gran importancia económica para la región puesto que su madera es empleada para la construcción y combustible, mientras que sus frutos son utilizados para la elaboración de algarrobina, harina de algarrobo, entre otros productos (Dostert *et al.*, 2012; MINAM, 2011; Rivera, 2018). Por otro lado desempeña un rol importante en los ecosistemas, ya que por ser una leguminosa cuenta con el potencial de recuperar la fertilidad y productividad de los suelos (Aguilera, 2014; Rivera, 2018).

Los métodos de propagación de *P. pallida* (Willd.) Kunth, son sexual por semillas y asexual por esquejes. Las semillas necesitan un tratamiento pre-germinativo conocido como escarificación (Galera, 2000). Por otro lado la germinación es baja, lo que denota las limitaciones de este proceso para su propagación masiva (Zárate *et al.*, 1997). Mientras que la propagación por esquejes es muy ineficiente, por las dificultades del desarrollo del sistema radicular. Siendo la técnica de micropropagación *in vitro* una interesante alternativa para la propagación asexual de la especie, por su alta tasa de multiplicación (Caravia, 2013).

La micropropagación *in vitro* garantiza la obtención de plantas de manera rápida, libre de patógenos y en numerosas cantidades, esto contribuye con la pronta recuperación de un ecosistema forestal (Farjon, 2013). Es importante resaltar que es importante el empleo de plantas madres en buen estado sanitario, para reducir la incidencia de microorganismos patógenos y así obtener una respuesta inmediata del explante. Los tejidos vegetales a cultivar deben proceder de plantas tiernas, para reducir la carga viral y lograr la homogeneidad necesaria en las plántulas *in vitro* (Cantillo *et al.*, 2011; De Fera *et al.*, 2008). Un medio de cultivo es la combinación de nutrientes y agua, que puede ser suplementado con algún regulador de crecimiento (Ponce, 2014). Los requerimientos nutritivos para un cultivo *in vitro* varían con el genotipo de la especie (Martínez *et al.*, 2015; Rivera, 2018). El medio MS (1962), es comúnmente empleado en los cultivos de tejidos vegetales (Jaramillo, 2008). El medio MS es considerado rico en sales, pues contiene altas concentraciones de iones amonio, nitrato y cloro. Sin embargo, contiene bajas concentraciones de Ca, PO₄, Mg⁺ y Cu⁺⁺. Generalmente el cultivo *in vitro* de plantas leñosas, requiere medios con menor cantidad de sales minerales. Sin embargo, el medio MS (1962), podría ser efectivo a una mayor dilución (Cassells & Curry, 2001; Martínez *et al.*, 2015; Lloyd & McCown, 1981; McCown, 1981).

Los medios de cultivo son suplementados con reguladores de crecimiento, como las auxinas y giberelinas. Las Citoquininas son empleadas para inducir el crecimiento de brotes en muchas especies de plantas, ya que se encargan de promover la división celular y promover la expansión celular (Zárate *et al.*, 1997; Ascón & Talón, 2013; Boeri, 2015; Roca & Mroginski 1991). Siendo la 6- Bencilaminopurina (BAP), una citoquinina cuya composición química deriva de la adenina. Cuya función es promover el crecimiento, división y elongación de las células. Además de promover la germinación y de regular el crecimiento de las raíces e inhibir el proceso de envejecimiento de las hojas (Basail *et al.*, 2015; Cotelo, 2016; Taiz & Ziegler, 2014). Ante la necesidad de mayor conocimiento en esta área, se propuso como objetivo determinar el efecto de la 6- Bencilaminopurina y del medio de cultivo MS (1962), en el establecimiento *in vitro* de *P. pallida* (Willd.) Kunth.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Colecta y registro de la especie

La planta *P. pallida* (Willd.) Kunth, provino del jardín botánico de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), en el distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de la Libertad. Se seleccionaron los frutos (vainas) del algarrobo, las cuales fueron colocadas en bolsas previamente etiquetadas y transportadas a Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos. Una rama florífera fue depositada en el Herbario Truxillense (HUT) con código 59728.

Selección de semillas y escarificación

De los frutos (vainas) seleccionados, se obtuvieron semillas. Se seleccionaron 800 semillas de *P. pallida* (Willd.) Kunth, las cuales se sumergieron en agua de caño, dejándolas por 24h. Pasado dicho periodo de tiempo se descartó las semillas hinchadas, quedándonos con las semillas con el epicarpio intacto. Se escarificó por el método mecánico, empleando una lija número 250, produciendo una ligera abrasión a nivel del epicarpio de la semilla. Las semillas escarificadas fueron colocadas en un recipiente con agua por 72 h, hasta observar la emergencia de la radícula.

Preparación del sustrato y siembra en sustrato

En un balde se preparó el sustrato que consistió en una mezcla de arena fina y humus de lombriz, en proporción 1:1. Posteriormente en cada celda del germinador se colocó el sustrato, dejando un espacio de 1cm para colocar la semilla, sembrándose en total 500 semillas. A partir del tercer día, se registró la emergencia de las plántulas.

Preparación del medio de cultivo

Se preparó el medio de cultivo, empleando diferentes concentraciones de MS (1962) y de 6-Bencilaminopurina (Tabla1). Una vez preparado los medios de cultivo, estos fueron autoclavados a 120°C y a 1 atm de presión por 20 minutos. Se aplicó un diseño de bloque completo al azar con tres repeticiones, nueve tratamientos y ocho unidades muestrales por tratamiento

Siembra de explantes

Se emplearon explantes de *P. pallida* (Willd.) Kunth, a los cinco días de germinación. Estos fueron colocados en un vaso de precipitación de 250 ml que contenía agua de caño para retirar los residuos de arena. Se preparó hipoclorito de sodio a una concentración de 2% y alcohol de 70°. Luego, se desinfectó la cámara de flujo laminar con hipoclorito de sodio, además de encender 2 mecheros. Los explantes fueron lavados con alcohol al 70° por 30 segundos, seguido de cinco enjuagados con agua destilada estéril. Luego fueron lavados con hipoclorito de sodio al 2% por dos minutos, seguido de 5 enjuagues con agua destilada estéril. Finalmente se procedió a sembrar los brotes 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%.

Evaluación y análisis estadístico

Se observó la evolución de los explantes hasta la evaluación final, la cual se realizó a los 15 días, después del establecimiento *in vitro*. Con una pinza curva punta fina se extrajo la plántula de cada frasco y con la ayuda de una hoja milimetrada se midió la longitud de plántula y de raíz, además de contabilizarse el número de raíces. Para determinar la significancia estadística de los

tratamientos, se empleó la prueba estadística del análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, además de determinar el error estándar y el coeficiente de correlación.

3. RESULTADOS

En el análisis de varianza de la longitud de las plántulas de *P. pallida* (Willd.) Kunth “algarrobo”, se evidenció diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2). La Tabla 3, ilustra los resultados de la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$), indicando la presencia de dos grupos homogéneos. El primer grupo está conformado por los tratamientos T8, T3, T9, T6, T7, T2 y T5, el segundo grupo lo conforma los tratamientos T7, T2, T5, T1, y T4. Los intervalos de las medias del grupo uno es de 0.26 a 0.47 cm y del grupo dos es de 0.36 a 0.55 cm. La Figura 3, ilustra el gráfico de barras de la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$), para la variable longitud de la plántula. El grupo homogéneo con mayor media para la longitud de plántula, estuvo conformado por los tratamientos T7, T2, T5, T1 y T4, observándose que el tratamiento T4 es el que mayor media referente a la longitud de plántula.

Para el análisis de varianza del número de raíces de las plántulas de *P. pallida* (Willd.) Kunth “algarrobo”, se encontró diferencias estadísticamente significativas (Tabla 4). Indicándose la presencia de tres grupos homogéneos (Tabla 5), el primer grupo está conformado por los tratamientos T3, T2, T9, T6, T5 y T8, el segundo grupo lo conforma el tratamiento T1 y el tercer grupo está formado por los tratamientos T4 y T7. Las medias del grupo uno es de cero y del grupo dos es de 1.13 cm mientras que el grupo tres presenta un intervalo entre 2.29 a 2.46 cm. La Figura 4, ilustra el gráfico de barras de la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$), para la variable número de raíces. El grupo homogéneo con mayor media para el número de raíces estuvo conformado por los tratamientos T4 y T7, si bien es cierto que el tratamiento T7 no es estadísticamente diferentes dentro del grupo tres, pero presentó una diferencia significativa con respecto del resto.

Para el análisis de varianza en la longitud de las raíces de las plántulas de *P. pallida* (Willd.) Kunth “algarrobo”, se encontró diferencias estadísticamente significativas (Tabla 6). Mientras que la Tabla 7, ilustra los resultados de la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), indicando la presencia de dos grupos homogéneos. El primer grupo está conformado por los tratamientos T5, T6, T8, T2, T3, y T9 y el segundo grupo lo conforma los tratamientos T1, T7 y T4. Los intervalos de las medias del grupo uno es igual a cero y del grupo dos es de 0.07 a 0.12 cm. Mientras que la Figura 5, ilustra el gráfico de barras de la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$). El grupo homogéneo con mayor media para la longitud de raíz de las plántulas estuvo conformado por los tratamientos T1, T7 y T4. Si bien el tratamiento T7 no es estadísticamente diferentes entre el grupo dos, pero si presenta diferencia significativa con respecto a los tratamientos del grupo uno.

Tabla 1. Tratamientos resultantes de la combinación de las concentraciones del 6-Bencilaminopurina de 0.00; 0.25 y 0.50 ppm y del medio basal MS(1962) al 1, al 1/2 y al 1/3, realizado en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos-UNT.

Tratamiento	Concentración	MS (10X ml)	BAP (50 ppm ml)	Agar (g)	Sacarosa(g)
T1	1 MS; 0 BAP	5	0	0.4	1.5
T2	1 MS; 0.25 BAP	5	0.25	0.4	1.5
T3	1 MS; 0.5 BAP	5	0.5	0.4	1.5
T4	½ MS; 0 BAP	2.5	0	0.4	1.5
T5	½ MS; 0.25 BAP	2.5	0.25	0.4	1.5
T6	½ MS; 0.5 BAP	2.5	0.5	0.4	1.5
T7	1/3 MS; 0 BAP	1.7	0	0.4	1.5
T8	1/3 MS; 0.25 BAP	1.7	0.25	0.4	1.5
T9	1/3 MS; 0.5 BAP	1.7	0.5	0.4	1.5

Tabla 2. Análisis de varianza para la longitud de plántula en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

F. V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	2.55	8	0.32	5.29	<0.0001
Tratamientos	2.55	8	0.32	5.29	<0.0001
Error	12.48	207	0.06		
Total	15.04	215			

Tabla 3. Test de Tukey de la longitud de plántula en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

Tratamientos	Medias	n	E. E	Grupo 1	Grupo 2
T8	0.26	24	0.05	A	
T3	0.26	24	0.05	A	
T9	0.27	24	0.05	A	
T6	0.30	24	0.05	A	
T7	0.36	24	0.05	A	B
T2	0.41	24	0.05	A	B
T5	0.47	24	0.05	A	B
T1	0.53	24	0.05		B
T4	0.55	24	0.05		B

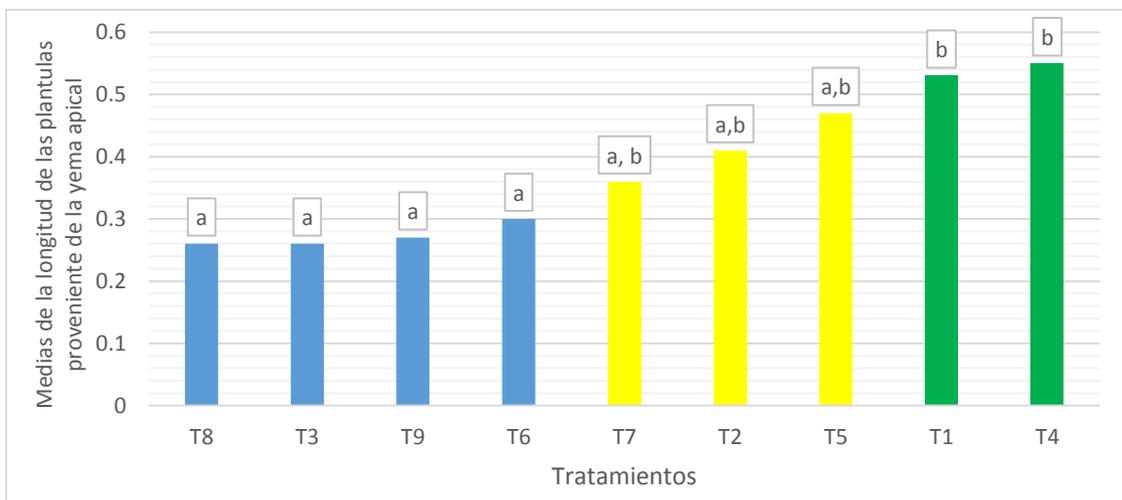


Figura 1. Grafica de barras para el test de Tukey de la variable longitud de plántula en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

Tabla 4. Análisis de varianza del número de raíces en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

F. V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	209.42	8	26.18	24.24	<0.0001
Tratamientos	209.42	8	26.18	24.24	<0.0001
Error	223.54	207	1.08		
Total	432.96	215			

Tabla 5. Test de Tukey del número de raíces en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

Tratamientos	Medias	n	E. E	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
T3	0.00	24	0.21	A		
T2	0.00	24	0.21	A		
T9	0.00	24	0.21	A		
T6	0.00	24	0.21	A		
T5	0.00	24	0.21	A		
T8	0.00	24	0.21	A		
T1	1.13	24	0.21		B	
T4	2.29	24	0.21			C
T7	2.46	24	0.21			C

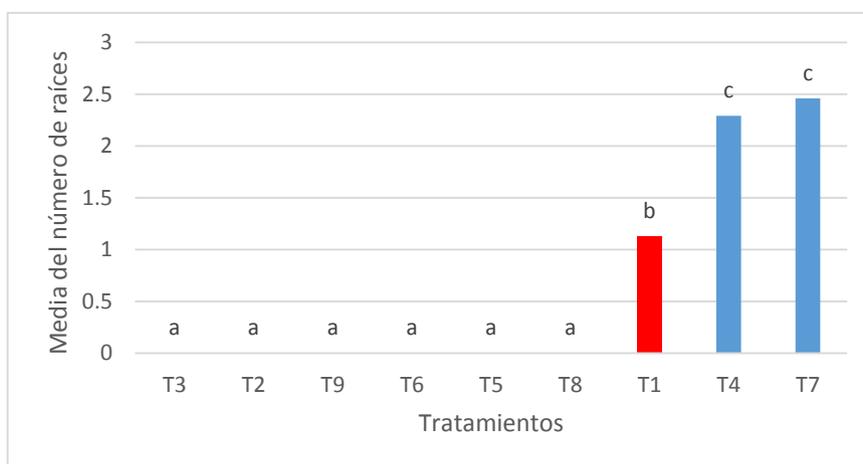


Figura 2. Grafica de barras para el test de Tukey de la variable número de raíces en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

Tabla 6. Análisis de varianza de la longitud de la raíz en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

F. V	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	0.47	8	0.06	14.33	<0.0001
Tratamientos	0.47	8	0.06	14.33	<0.0001
Error	0.84	207	0.00041		
Total	1.31	215			

Tabla 7. Test de Tukey de la longitud de raíz en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

Tratamientos	Medias	n	E. E	Grupo 1	Grupo 2
T5	0.00	24	0.01	A	
T6	0.00	24	0.01	A	
T8	0.00	24	0.01	A	
T2	0.00	24	0.01	A	
T3	0.00	24	0.01	A	
T9	0.00	24	0.01	A	
T1	0.07	24	0.01		B
T7	0.10	24	0.01		B
T4	0.12	24	0.01		B



Figura 3. Grafica de barras para el test de Tukey de la variable longitud de raíz en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth.

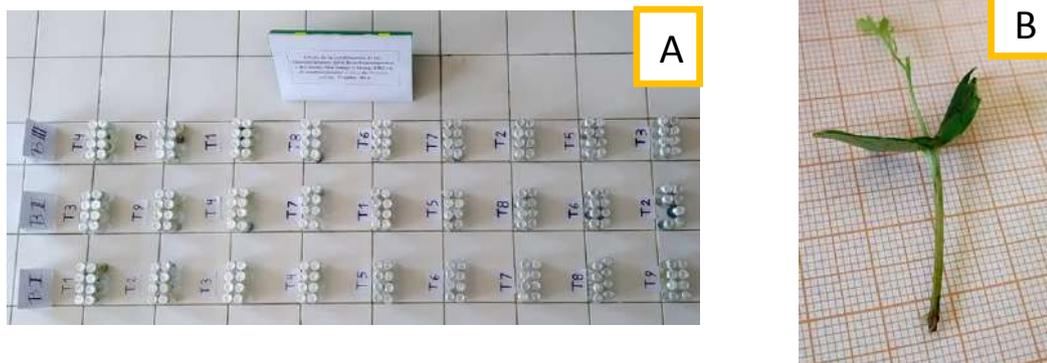


Figura 6. Evaluación del efecto de la 6- Bencilaminopurina y del médio de cultivo MS (1962) en el establecimiento *in vitro* de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth. A) Ilustración del diseño experimental y B). Plántula de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth. A los 15 días de siembra.

4. DISCUSIÓN

El análisis de varianza para la longitud de la plántula en el establecimiento *in vitro* de *P. pallida* (Willd.) Kunth, presenta diferencias significativas para las diferentes concentraciones del 6-Bencilaminopurina y del medio MS (1962), esto es indicador del notable efecto de la fitohormona y del medio de cultivo en la longitud de plántula, mientras que la prueba de Tukey identificó que T4 es el mejor, al obtenerse la mayor longitud de plántula. Estos resultados concuerdan con las investigaciones de Rivera (2018) y Caravia (2013), quienes sostienen que para la propagación *in vitro* de plantas leñosas y recalcitrantes como es el caso de *Prosopis pallida* (Willd.) Kunth, es mejor usar la mitad de las concentraciones del medio MS (1962), debido a que las altas concentraciones de iones amonio, nitrato, cloruro molibdato generan toxicidad en las plántulas de *P. pallida* (Willd.) Kunth (Martínez *et al.*, 2015; Zegarra, 2014; Rivera, 2018). Por otro lado, Rivera (2018), sostiene que solo con MS (1962) es posible la propagación *in vitro* de *P. pallida*, debido a la presencia de auxinas en las yemas apicales.

En el análisis de varianza para el número de raíces de las plántulas en el establecimiento *in vitro* de *P. pallida* (Willd.) “algarrobo” (Tabla 4), presentó diferencias significativas. Sin embargo, la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), indicó que el tratamiento T7, es el mejor. Se obtuvo mayor número de raíces en los tratamientos T1, T4 y T7 (Tabla 5 y Figura 4), debido a que no se les adicionó la 6-bencilaminopurina, cuya función es promover la división celular, retardando el crecimiento de raíces. Por lo tanto, el uso de MS a 1, $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{3}$ resultan favorables para el número de raíces sin adicionar BAP (Caravia, 2013; Rivera, 2018)

Por otro lado, en el análisis de varianza longitud de la raíz *P. pallida* (Willd.) “algarrobo”, se obtuvo diferencias estadísticamente significativas (Tabla 6). La prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), demostró que el tratamiento T4 es el mejor, comprobándose que en ausencia de la 6-bencilaminopurina hay incremento de la longitud de raíces, debido a que no se generan inhibidores en la diferenciación, formación y elongación de las raíces. Antecedentes han demostrado que el medio de cultivo MS (1962), al $\frac{1}{2}$ y al $\frac{1}{3}$ presentan resultados favorables para este factor, sin necesidad de añadir fitorreguladores. Sin embargo, diversas investigaciones han demostrado mejores resultados en la longitud de raíces, se obtienen empleando bajas concentraciones de la auxina IBA el cual es catalogado como el enraizante por excelencia (Botti, 1992; Caravia, 2013).

5. CONCLUSIONES

Se concluye que T4, constituido por 1/2 MS (1962) y 0.00 ppm BAP es el mejor en lo referente a longitud, mientras que T7, constituido por un 1/3 MS (1962) y 0.00 ppm BAP es el mejor en lo referente al número de raíces de *P. pallida* (Willd.) Kunth.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilera, R. (2014). Algarrobo tropical (*Prosopis pallida*) recurso biológico estratégico para la sostenibilidad del bosque tropical seco caso: comunas provincia de Santa Elena – Ecuador. DELOS, 20 (7), 1- 10.
2. Ascón, J & Talón, M. (2013). Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2da edición. Barcelona, España: Editorial McGRAW-HILL. 669 p.
3. Basail, M., Medero, V., Robaina, A., Torres, Y., López, J., Santos, A., Rayas, A., Bauta, M., Rodríguez, D., Beovidez, Y. & Gutiérrez Y. (2015). Determinación del medio de cultivo para la propagación in vitro del clon de malanga *Xanthosoma* spp., 'México-8' y su generalización en las biofábricas. III Simposio de Raíces y Tubérculos Tropicales, Plátanos, Bananos y Papaya.
4. Boeri, P. (2015). ¿Cómo se nutren las plantas de probeta? In Sharry, S., Adema, M., Abedini, W. Plantas de probeta: manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro. Buenos Aires: Ed. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 241p.
5. Botti, C. (1992). Seminario sobre la producción de plantas in vitro. Quito, EC. PROEXANT.
6. Cantillo, A., Igarza, R., & Castro J, Ochoa, A. (2011), Propagación in vitro de plantas de *Pinus cubensis* Griseb. Biotecnología vegetal, 11(1), 3 -13.
7. Caravia, E. (2013). Evaluación de medios de cultivo para la micropropagación de algarrobo tropical (*Prosopis pallida*) HBK Quito, Pichincha. Tesis pregrado. Universidad central del Ecuador. 91 pp.
8. Cassells, A. & Curry, R. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 64, 145-157.
9. Coteló, M. (2016). Propiedades de la bencilaminopurina para el control de *Botrytis cinerea* en judía: actividad fungicida e inducción de resistencia. Tesis pregrado. Universidade da Coruña. 24 pp.
10. De Feria, M., Chávez, M., Barbón, R., La O, M., Pérez, M., Jiménez, F., Quiala, E & Agramonte, D. (2009). Multiplicación in vitro de plantas de *Pinus caribaea* var. *caribaea*. *Biotecnología vegetal*, 9(4): 217-224.
11. Dostert, N., Roque, J., Cano, A., La Torre, M., Weigend, M. (2012). Hoja botánica: Algarrobo. Proyecto Perú Diverso. Cooperación Alemana al Desarrollo. Lima, Perú: Ed. Giacomotti Comunicación Gráfica. 16 pp.
12. Farjon, A. (2003). The remaining diversity of conifers. *Acta Horticulturae*, 615(615), 75-89
13. Galera, F. (2000). Las especies del género *Prosopis* (Algarrobos) de América Latina con especie énfasis en aquellas de interés económico. Córdoba, Argentina: Ed. Talleres Gráficos de Graziani Gráfica. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ad314s/AD314S00.htm>
14. Jaramillo Palacios, P. A. (2008). Establecimiento del cultivo in vitro de *Polylepis microphylla* como futura estrategia de conservación de la especie en la provincia de Chimborazo. Universidad de las Fuerzas Armadas Especiales. Tesis pregrado. 117 pp.
15. Lloyd, G. & McCown B. (1981). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by the use of shoot tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagators Society*, 30, 421-427.
16. Martínez, Y; Rodríguez, M; Colinas, M; Villegas, O; Castillo, A; Alía, I. (2015). Efectos de las sales inorgánicas del medio de cultivo en el crecimiento de pascuíta (*Euphorbia leucocephala* Lott). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(4), 369-374.
17. McCown, BH (1981). Medio de plantas leñosas (WPM): una formulación de nutrientes minerales para microcultivos para especies de plantas leñosas. *Horticultural Science*, 16, 453

18. MINAM (2011). El Perú de los bosques. Lima. Programa Nacional de Conservación de Bosques para la Mitigación del cambio climático. Peru – Lima: Ed. Ministerio del Ambiente. 73pp.
19. Ponce, F. (2014). Evaluación del efecto de bencilaminopurina y ácido indolbutírico en la propagación in-vitro de segmentos nodales de *Manikara bidentata* (Quinilla Colorada). Tesis pregrado. Universidad Nacional de Ucayali. 55 pp.
20. Rivera, J. C. (2018). Micropropagación de *Prosopis pallida* (Humb. & Bompl. Ex Wild.) Kunth a partir de yemas apicales. Tesis pregrado. Universidad Nacional Agraria La Molina. 131 pp.
21. Roca, W., Mroginski, L. (1991). Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones. Cali, Colombia: Ed. CIAT. 970 pp.
22. Taiz, L. & Ziegler, E. (2014). Plant physiology and development, 6th edition. USA: Ed. Sinauer Associates. 761 pp.
23. Trópicos. (2019). *Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. Ex Willd.) Kunth. Missouri Botanical Garden. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/13032112> [Acceso 8 Mayo 2019].
24. Zárate, R., Cantos, M., & Troncoso, A. (1997). Efecto de diferentes reguladores de crecimiento en la inducción de brotes múltiples y enraizamiento de *Atropa baetica*. Sevilla-España: Ed. Junta de Andalucía. 471 pp.
25. Zegarra, K. (2014). Establecimiento in vitro de yemas y efecto de reguladores de crecimiento ANA y BAP en la Micropropagación de *Polylepis rugulosa* (Queñua) de Zonas Altoandinas de Arequipa. Tesis pregrado. Universidad Católica de Santa María. 116p.

Artículo Original

**AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
CELULOLÍTICA DE BACTERIAS RIZOSFÉRICAS DEL
DISTRITO DE BAGUA, AMAZONAS**

**ISOLATION AND EVALUATION OF CELLULOLYTIC ACTIVITY OF
RHIZOBACTERIA FROM BAGUA DISTRICT, AMAZONAS**

Juan Carlos Alvarado-Ibáñez¹, Ronald Omar Estela-Urbina¹, Yelka Martina López-Cuadra¹, Nemesio Santamaría-Baldera¹, Rómulo Mori-Zavaleta¹, Mayra Karina Gutiérrez-Araujo²

¹Universidad Nacional Intercultural “Fabiola Salazar Leguía” de Bagua

²Universidad Nacional de Trujillo

*Autor de correspondencia: jalvarado@unibagua.edu.pe

Recibido: 2 de Setiembre, 2019. Aceptado: 30 de Noviembre, 2019.

RESUMEN

La celulosa es el carbohidrato más abundante en la naturaleza, y una fuente importante de carbono utilizada como materia prima en biotecnología para la obtención de productos de interés económico como el etanol. Los microorganismos con actividad celulolítica se encuentran en la naturaleza asociados a los cultivos vegetales, por tanto este trabajo de investigación tuvo como objetivo aislar y determinar la actividad celulolítica de los cultivos bacterianos obtenidos de la rizósfera de cuatro cultivos y dos suelos eriazos del distrito de Bagua, Amazonas. Se obtuvo 124 aislamientos bacterianos del rizoplano de *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, *Carica papaya* y *Manihot esculenta* y 16 cultivos a partir de los suelos eriazos. El suelo de origen de las rizobacterias se caracterizó por ser de textura franco-limosa principalmente, y pH variable entre 6.30 y 7.90. Las muestras de suelo se diluyeron en diluciones seriadas la décimo en agua peptonada al 0.1% hasta 10^{-5} y fueron sembradas en agar Carboximetilcelulosa (CMC) al 1% e incubadas a 35°C por 48 h. Luego se resembró en agar CMC 1% y se seleccionaron colonias que presentaban mayores halos de hidrólisis mediante la prueba con rojo de congo, estas colonias seleccionadas luego fueron resembradas por puntura por triplicado, determinando su halo neto de hidrólisis promedio de cada una de ellas, seleccionando 8 cultivos con mayor actividad celulolítica de las cuales el 100% pertenecen a suelos rizosféricos. Es así como se demuestra la presencia de cultivos bacterianos con gran actividad celulolítica en los suelos rizosféricos de los cultivos de importancia económica del distrito de Bagua, Amazonas.

Palabras clave: Cultivos bacterianos, actividad celulolítica, celulasas.

ABSTRACT

Cellulose is the most abundant carbohydrate in nature, and an important source of carbon used as a raw material in biotechnology to obtain products of economic interest such as ethanol. Microorganisms with cellulolytic activity are found in nature associated with plant crops, so this research was aimed at isolating and determining the cellulolytic activity of bacterial cultures obtained from the rhizosphere of four crops and two eroded soils of the Bagua district, Amazonas region. 124 bacterial isolates were obtained from rhizoplane of the *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, *Carica papaya* and *Manihot esculenta* and 16 cultures were obtained from the eroded soils. The soil of origin of the rhizobacteria was characterized by being mainly loamy, and variable pH between 6.30 and 7.90. The soil samples were diluted in serial dilutions the tenth in 0.1% peptonated water from 10^{-1} to 10^{-5} and seeded in 1% carboxymethylcellulose agar (CMC) and incubated at 35 ° C for 48 h. It was then reseeded in 1% CMC agar and colonies that had greater hydrolysis halos were selected by means of the Congo red test, these selected colonies were then reseeded in triplicate puncture, determining their average net hydrolysis halo of each of them, selecting 8 crops with greater cellulolytic activity of which 100% belong to rhizospheric soils. This is how the presence of bacterial cultures with great cellulolytic activity is demonstrated in the rhizospheric soils of economically important crops in the district of Bagua, Amazonas region.

Keywords: Bacterial cultures, cellulolytic activity, cellulases.

1. INTRODUCCIÓN

Estructuralmente, la celulosa es un carbohidrato compuesto de unidades de glucosa unidas en una larga cadena lineal por enlaces en los átomos de carbono 1 y 4 de la molécula de azúcar. La celulosa existe en las plantas superiores, en las algas, en muchos tipos de hongos y en los quistes de algunos protozoarios. El polisacárido está localizado en la pared celular donde se encuentra como unidades submicroscópicas de forma alargada conocidas como micelas. A su vez, estas micelas se arreglan en estructuras más grandes, las microfibrillas, las cuales están suficientemente empaquetadas para prevenir la penetración no sólo de enzimas sino de pequeñas moléculas semejantes al agua (Lynd *et al.*, 2002).

La celulosa es un importante constituyente de las plantas superiores y probablemente el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza. Debido a que gran parte de la vegetación que pasa a formar parte del suelo es celulosa, la descomposición de este carbohidrato tiene una importancia muy especial en el ciclo biológico del carbono, consecuentemente los microorganismos del suelo que catabolizan la hidrólisis del material vegetal (40-60% de residuos de plantas) influyen el flujo de energía desde éste hasta la formación de CO₂ y su liberación a la atmósfera (Alexander, 1980; Alcivar y Vera, 2013).

Las moléculas de glucosa se unen entre sí a través de los enlaces β -1,4-glucosídico, para así formar cadenas de longitud enorme que dan lugar a las moléculas de celulosa. Las moléculas resultantes de la polimerización de la glucosa, con fórmula empírica (C₆H₁₀O₅)_n, son altamente resistentes e insolubles en agua (Gaitán y Lara, 2007), la celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa donde los diversos puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo, que se establecen entre diferentes cadenas yuxtapuestas de glucosa, dando lugar a fibras de mayores dimensiones llamadas microfibrillas que conforman la pared celular de las células vegetales, donde este representa aproximadamente el 50 por ciento del peso seco las plantas (Gracia, 2012).

En la hidrólisis de la celulosa es indispensable la presencia de enzimas, siendo tres las más destacadas: la exo β -1,4 celobiohidrolasa, endo β -1,4 glucanasa (β -1,4 glucano glucanohidrolasa) y la β -1,4 glucosidasa (Zhang *et al.*, 2006), donde la endo β -1,4 glucanasa hidroliza aleatoriamente los enlaces β -1,4 glucosídicos intramoleculares expuestos de cadenas de celulosa para producir con ello oligosacáridos de diversas longitudes (celodextrinas), la exo β -1,4 celobiohidrolasa cliva los extremos no reductores del sustrato produciendo unidades de celobiosa o glucosa y por último la β 1,4 glucosidasa, termina el proceso hidrolítico transformando los fragmentos de celobiosa a glucosa o quitando glucosa desde los extremos no reductores de diminutos celoligosacáridos (Gaitán y Lara, 2007).

Los microorganismos encargados de la degradación de la celulosa, principal componente de la pared celular de las plantas incluyen bacterias, hongos y actinomicetes, aerobios, anaerobios, mesofílicos y termofílicos, los cuales cuentan con la maquinaria enzimática necesaria para dicho

propósito, por tal razón, su aislamiento e identificación representa un importante recurso para lograr la disminución del impacto ambiental y la generación de un sustrato fermentable cuya utilidad podría estar en la producción de etanol, obtención de ácidos orgánicos, edulcorantes, productos farmacéuticos y alimentos, entre otros (Gaitán y Lara, 2007).

Como las bacterias y hongos del suelo son los microorganismos mayormente involucrados en el reciclaje del material vegetal, cambios en el número de estos pueden indicar modificaciones en el contenido de materia orgánica del suelo. Cuando esto se corrobora con otros indicadores ecológicos (biomasa y diversidad de especies encontradas) se obtiene información acerca del estado del suelo y su productividad (Hendricks *et al.*, 1995). Como resultado, se ha prestado gran atención a los organismos que participan en la descomposición de esta sustancia (Alexander, 1980).

El mecanismo ampliamente aceptado para explicar la hidrólisis enzimática de la celulosa involucra la acción enzimática de tres enzimas: la endo β -1,4 glucanasa (β -1,4 glucano glucanohidrolasa), la exo β -1,4 celobiohidrolasa y la β -1,4 glucosidasa (Lymar, *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 2006). La endo β -1,4 glucanasa hidroliza aleatoriamente los enlaces β -1,4 glucosídicos intramoleculares accesibles de cadenas de celulosa para producir oligosacáridos de varias longitudes. La exo β -1,4 celobiohidrolasa cliva los extremos no reductores del sustrato generando unidades de celobiosa o glucosa y por último la β -1,4 glucosidasa, completa el proceso hidrolítico convirtiendo los fragmentos de celobiosa a glucosa o removiendo glucosa desde los extremos no reductores de pequeños celoligosacáridos (Lymar, *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 2006).

Los microorganismos degradadores de celulosa incluyen hongos y bacterias, aerobios y anaerobios, mesofílicos y termofílicos que ocupan una variedad de habitats (Aubert, 1988). Entre los hongos celulolíticos se destacan: *Trichoderma reesei*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Fusarium solani*, *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma koningii*, *Sporotrix* sp., *Alternaria* sp., *Geotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Trametes* sp., *Paecilomyces* sp., *Mucor* sp., *Cladosporium* sp., *Bulgaria* sp., *Chaetomium* sp., *Helotium* sp., *Aspergillus* sp. Las bacterias celulolíticas más abundantes y conocidas son las aerobias entre las cuales se pueden citar: *Cellulomonas* sp., *Microbispora bispora*, *Thermomonospora* sp., *Cytophaga* sp., *Corynebacterium* sp., *Vibrio* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Thermobifida* sp. Además, se encuentran algunos anaerobios como: *Acetivibrio cellulolyticus*, *Butirivibrio* sp., *Bacteroides cellulosolvens*, *Bacteroides succinogenes*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium thermocellum*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* (Lynd *et al.*, 2002). Entre los actinomicetes se destacan: *Streptomyces drozdowiczii*, *Streptomyces cellulolyticus* (Semedo *et al.*, 2004; Grigorevski *et al.*, 2005; Li, 1997), *Thermomonospora curvata*, *Thermomonospora chromogena*, *Thermomonospora alba* y *Thermomobifida fusca* (Ramírez y Cocha, 2003).

La tasa a la cual se metaboliza la celulosa está dada por varios factores del medio ambiente, y los suelos que varían en sus características físicas y químicas poseen marcadas diferencias en su capacidad celulolítica. Los principales factores del medio ambiente que afectan la transformación son el nivel de nitrógeno disponible, la temperatura, aireación, humedad, pH, la presencia de otros carbohidratos y la proporción relativa de lignina en los restos vegetales (Alexander, 1980).

Este estudio está orientado a aislar, seleccionar y evaluar las bacterias con mayor actividad celulolítica autóctonas del distrito de Bagua, aislados de suelos rizosféricos de cultivos de *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, *Carica papaya* y *Manihot esculenta* y dos suelos eriazos siendo la celulosa el polisacárido más abundante que podría ser utilizado como fuente de carbono para la elaboración de productos biotecnológicos como el etanol, biocombustibles, entre otros.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Material de estudio:

Para el aislamiento de bacterias celulolíticas, se procesó como muestras el suelo de la rizósfera de *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, *Carica papaya* y *Manihot esculenta* del distrito de Bagua y dos suelos eriazos entre los meses de agosto y octubre el año 2018. Las muestras de suelo rizosférico procesadas fueron obtenidas considerando en las primeras horas del día, registrando la temperatura media, la humedad relativa, el contenido de materia orgánica en suelo y el pH del suelo. De cada parcela con las especies vegetales antes mencionadas, se seleccionó 20 plantas al azar, y se obtuvo muestras de suelo rizosférico de 500 g cada una, a una profundidad aproximada de 20 cm, colocándolas en bolsas plásticas de primer uso para ser codificadas con los datos necesarios. Las muestras se mantuvieron a temperatura de refrigeración hasta su procesamiento en el Laboratorio de Biología y Biotecnología de la UNIFSLB.

Aislamiento primario de microorganismos celulolíticos.

Luego de homogenizar la muestra, se pesó 10 g de suelo, cada muestra se mezcló con 90 ml de agua peptonada 0.1% (p/v). Posteriormente se realizó diluciones seriadas desde 10^{-1} a 10^{-5} en agua peptonada al 0.1% (p/v). A partir de las diluciones preparadas se realizó la siembra en superficie en agar Carboximetilcelulosa (CMC) al 1% (p/v). Las placas de Petri se incubaron a 35°C por 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se adicionó rojo de congo al 1% (p/v), como revelador a las colonias presentes en los medios, luego de quince minutos se retiró el exceso y se adicionó NaCl 0.1M, dejando reposar por quince minutos más, para luego identificar las colonias con actividad celulolítica (Teather y Wood, 1982).

Aislamiento secundario de microorganismos celulolíticos.

A partir de los microorganismos que se obtuvieron en el aislamiento primario se realizó repiques en agar CMC al 1% (p/v) de las colonias que presentaron mayor actividad celulolítica, llevando a incubación y revelado bajo las mismas condiciones del aislamiento primario.

Conservación de cultivos.

Los cultivos seleccionados fueron sometidos a tinción de Gram y una vez definidas sus características microscópicas se procedió a obtener cultivos axénicos en agar CMC 1% (p/v). Se llevaron a cabo suspensiones de cada cultivo puro en caldo celulosa al 1% (p/v) (composición igual a agar celulosa excepto agar) igualando la concentración al tubo 1 del patrón de MacFarland (3×10^8 cel/ml). Estas suspensiones se mezclaron con glicerol a una concentración final de 25% (v/v), posteriormente las suspensiones celulares fueron distribuidas en tubos eppendorf, cada uno conteniendo un volumen de un mililitro que luego fueron almacenados a -20°C (Poutou *et al.*, 1994).

3. RESULTADOS

Los resultados del estudio aislamiento y evaluación de la actividad celulolítica de bacterias rizosféricas del distrito de Bagua, Amazonas, mostraron la variedad de formas bacterianas existentes en la zona con capacidad celulolítica.

Se obtuvieron 124 aislamientos bacterianos con actividad celulolítica a partir de la rizósfera de *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, y *Manihot esculenta* y 16 aislamientos a partir de suelos eriazos. Luego de la evaluación de la actividad celulolítica se seleccionaron a 8 cultivos con mayor actividad celulolítica registrando valores hasta de 6.4 mm, los cuales fueron purificados y conservados en microtubos para su identificación posterior.

Tabla 1. Origen, halo de hidrólisis y caracterización de las bacterias con mayor actividad celulolítica aisladas

Aislamiento	Origen	Halo de hidrólisis (mm)	Morfología de la célula	Respuesta a la tinción de Gram
CC02	<i>Theobroma cacao</i>	4.8	Bacilos	-
CC07	<i>Theobroma cacao</i>	4.3	Bacilos	-
CC13	<i>Theobroma cacao</i>	6.4	Bacilos	+
FC01	<i>Coffea arabica</i>	3.6	Bacilos	+
FC12	<i>Coffea arabica</i>	6.2	Bacilos	-
FC14	<i>Coffea arabica</i>	5.1	Bacilos	-
PC11	<i>Carica papaya</i>	3.7	Bacilos	-
YC12	<i>Manihot esculenta</i>	3.3	Bacilos	-



Figura 1. Halo de hidrólisis de los cultivos bacterianos puros aislados de los cultivos vegetales del distrito de Bagua, Amazonas.

4. DISCUSIÓN

La selección de las bacterias celulolíticas se determinó por los halos de hidrólisis en Agar Carboximetilcelulosa. Esta determinación se fundamentó en la capacidad del colorante Rojo de Congo para adherirse a la carboximetilcelulosa coloreando el medio de cultivo de un color rojo, al ser degradado este sustrato por las enzimas celulasas éste no se adquiere y se forma un color amarillento lo cual indica la disgregación del polímero (Lynd *et al.*, 2002; Malherbe y Cloete, 2002).

De los ocho aislamientos seleccionados, solo dos de ellos reaccionaron al Gram positivamente, los demás fueron Gram negativos, lo cual concuerda con la diversidad de bacterias reportadas en los cuales se reporta como celulolíticos a bacilos Gram negativos y Gram positivos que podrían pertenecer a *Cytophaga* sp., *Corynebacterium* sp., *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp., Actinomicetes, *Bacillus* sp., *Cellulomonas* sp., *Microbispora* sp., *Thermomonospora* sp., los cuales han sido reportados con actividad celulolítica (Lynd, *et al.*, 2002, Semedo *et al.*, 2004), quienes aislaron diez cepas de actinomicetos en dos humedales. En el presente trabajo no es posible poder identificar el género ni especie de las bacterias aisladas con mayor actividad celulolítica.

Algunos estudios evidencian la ocurrencia y abundancia de microorganismos celulolíticos en su hábitat natural, en estrecho contacto con las plantas, determinado por factores físicos, químicos y ambientales (Sylvia *et al.*, 2005), lo cual concuerda con la mayor actividad celulolítica asociados a la rizósfera de las plantas en comparación con los aislados bacterianos de los suelos eriazos

del distrito de Bagua, Amazonas, determinando que la materia orgánica en abundancia tiene una influencia en la microbiota de estas bacterias (Semedo *et al.*, 2004).

La diversidad de microorganismos celulolíticos en los suelos de cultivo se debió principalmente a la menor disponibilidad de carbono (celulosa), de nitrógeno y fósforo, que entre los elementos que componen los sustratos son los macronutrientes fundamentales para el desarrollo microbiano, además el contenido de celulosa en los bosques y tierras de cultivo depende de la clase de vegetación o cultivo, de la periodicidad del mismo y época del año, y en los suelos agrícolas, de la incorporación de los residuos de cosecha, práctica que puede ser muy esporádica o simplemente no efectuarse (Lymar *et al.*, 1995).

5. CONCLUSIONES

Se aisló y seleccionó cultivos bacterianos con gran actividad celulolítica a partir de suelos de la rizósfera de *Theobroma cacao*, *Coffea arabica*, y *Manihot esculenta* cultivadas en el distrito de Bagua, Amazonas.

No se seleccionó cultivos bacterianos con actividad celulolítica a partir de suelos eriazos del distrito de Bagua, Amazonas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alcivar, M. y Vera, V. (2013). Aislamiento de bacterias celulolíticas a diferentes profundidades en plantación de teca (*Tectona grandis*) y pechiche (*Vitex gigantea*) (Tesis de maestría). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "MANUEL FÉLIX LÓPEZ". Ecuador.
2. Alexander, M. (1980). Introducción a la microbiología del suelo. México: AGT Editor, S.A.
3. Aubert, J. (1988). Biochemistry and Genetics of Cellulose degradation. USA. Academic press.
4. Gaitan, D. y Lara, C. (2007). Aislamiento y evaluación de microorganismos celulolíticos a partir de residuos vegetales frescos y compost generados en un cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) (Tesis de maestría. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
5. Gracia, C. (2012). Ecología Forestal: Estructura, Funcionamiento y Producción de las masas forestales. España.
6. Grigorevski, A., Nascimento, R., Bonb, E., y Coelho, R. (2005). Streptomyces drozdowiczii cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzyme and Microbial Technology*, 37, 272–277.
7. Hendricks, C., Doyle, J., y Hugley, B. (1995). A New Solid Medium for Enumerating Cellulose-Utilizing Bacteria in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 2016-2019.
8. Li, X. (1997). Streptomyces cellulolyticus sp. nov., a New Cellulolytic Member of the Genus Streptomyces. *International journal of systematic bacteriology*, 47, 443-445.
9. Lymar, E., Li, B., y Renganathan, V. (1995). Purification and Characterization of a cellulose-binding β -glucosidase from cellulose degrading cultures of *Phanaerochaete chrysosporium*. *Appl. Environmental Microbiol.*, 8, 2976-2980.
10. Lynd, L., Weimer, P., Zyl, H., y Pretorius, I. (2002). Microbial cellulose utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 16, 577-583.

11. Malherbe, S., y Cloete, T. (2002). Lignocellulose Biodegradation: Fundamentals and applications. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*, 1, 105-114.
12. Poutou, R., Amador, E., y Candelario, M. (1994). Banco de células primario (BCP): Caracterización y papel en la producción de proteínas recombinantes. *Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología Aplicada. Sociedad Iberoamericana de Biotecnología*, 11, 55-59.
13. Ramirez, P., y Cocha, J. (2003). Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: Aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Rev. Perú. Biol*, 10, 67-77.
14. Semedo, L., Gomes, C., Lindares, A., Duarte, G., Nascimento, R., Rosado, A., Pinheiro, M., Margis, R., Silva, K., Alviano, C., Manfio, G., Soares, M., Lindares, L., y Coelho, R. (2004). *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 1323-1328.
15. Sylvia, D.P., Hartel, J., Fuhrmann y Zuberer, D. (2005). *Principles and applications of soil microbiology*. USA. 2da. edi. Prentice Hall-Inc.
16. Teather, R., y Wood, P. (1982). Use of congo red – polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Appl Environ. Microbiol*, 43, 777-780.
17. Zhang, Y., Himmel, M., y Mielenz, J. (2006). Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. *Biotechnology Advances*, 24, 452-481.

Artículo Original

EFFECTO SINÉRGICO DEL ÁCIDO GIBERÉLICO Y DEL ÁCIDO INDOLACÉTICO EN LA PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE *Solanum tuberosum* L. “PAPA NATIVA DE PULPA DE COLOR”

SYNERGISTIC EFFECT OF GIBBERELIC ACID AND INDOLEACETIC ACID IN THE *IN VITRO* PROPAGATION OF *Solanum tuberosum* L. “NATIVE POTATO OF COLORED PULP”

Eloy Lopéz- Medina¹; José Mostacero- León ¹; Armando Efraín Gil- Rivero¹; Angélica López - Zavaleta ¹; Anthony J. De La Cruz-Castillo¹; Luigi Villena Zapata²

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

²Universidad Cesar Vallejo. Chimbote, Perú.

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

Recibido: 6 de Agosto, 2019. Aceptado: 2 de Setiembre, 2019.

RESUMEN

La papa es un cultivo ancestral que cuenta con una enorme biodiversidad. Siendo las variedades de “papa nativa de pulpa de color”, las de mayor importancia por poseer genes de resistencia a condiciones ambientales adversas y antioxidantes que ayudan a combatir enfermedades degenerativas e inflamaciones. La biotecnología constituye ser una alternativa para la conservación de tan preciado acervo genético; ante la necesidad de conocer y evaluar el efecto de diferentes hormonas en la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L., se tomó como objetivo determinar su efecto sinérgico. Para ello se seleccionaron entrenudos de la variedad “Cochacina”, para ser sembrados en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos. Para la propagación *in vitro* se utilizó el medio MS 1962 suplementado con diferentes concentraciones de ácido indolacético y ácido giberélico. Se analizó el efecto de estas concentraciones sobre los parámetros altura de plántula, número de entrenudos y de raíces. El análisis de varianza encontró diferencias significativas, concluyendo que el ácido giberélico y el ácido indolacético a las concentraciones de 0.5 ppm AG3 y 0.1 ppm AIA, ejercen efecto sinérgico en la propagación *in vitro* *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”.

Palabras claves: Efecto sinérgico, Ácido giberélico, Ácido indolacético, *in vitro*, papa nativa, pulpa de color.

ABSTRACT

The potato is an ancestral crop that has enormous biodiversity. Being the "native varieties of pulp of color", those of greater importance for own genes of resistance to adverse environmental conditions and antioxidants that help to combat degenerative diseases and inflammations. Biotechnology is the alternative for the conservation of such a precious gene pool; in view of the need to know and evaluate the effect of different hormones on the *in vitro* propagation of *S. tuberosum* L., the synergic effect was determined. For this purpose, internodes of the variety "Cochacina" were selected to be planted in the Biotechnology Laboratory of the Institute of Potato and Andean Crops. For the propagation *in vitro* the MS 1962 medium supplemented with different concentrations of indoleacetic acid and gibberellic acid was used. The effect of these concentrations on seedling height parameters, number of internodes and roots was analyzed. The analysis of variance found significant differences, concluding that gibberellic acid and indoleacetic acid at the concentration of 0.5 ppm AG3 and 0.1 ppm AIA, exert synergistic effect on the *in vitro* propagation of *S. tuberosum* L. " native potato of color pulp "

Keywords: Synergistic effect, Gibberellic acid, indoleacetic acid, *in vitro*, native potato, colored pulp.

1. INTRODUCCIÓN

La papa es el cuarto cultivo más importante en el mundo luego del trigo, maíz y arroz. Siendo China el mayor productor, con 5 millones de hectáreas que representan el 22 % de la producción mundial. En Perú, su cultivo representa el 8% del PBI agropecuario, constituyéndose en la actividad que genera más ingresos para las comunidades Alto Andinas, involucrando 19 departamentos del país (MINAGRI, 2011). El tubérculo de la papa, desde el punto de vista alimenticio ha sido adaptado, incorporado y asimilado según las necesidades alimentarias de las diferentes culturas alrededor del mundo (Bonnett, 2019). Mientras que desde el punto de vista industrial es utilizado para la obtención de aditivos espesantes y estabilizantes (Vargas *et al.*, 2016).

La papa es originaria del altiplano Peruano Boliviano (Spooner y Hetterscheid, 2005). Investigaciones han demostrado que apartir de una especie diploide "*Solanum phureja*", se dio origen a más de 5000 variedades, todas reportadas para el Perú (Pumisacho y Sherwood, 2002; Inostroza *et al.*, 2017). Pudiendo agruparse en tres categorías: "variedades comerciales", "variedades nativas" y "variedades nativas de pulpa de color". Reportes afirman que un mayor acervo genético se concentra en el Centro y Sur del Perú, sin embargo, el Norte del Perú también concentra una cantidad representativa de 317 variedades nativas, de las cuales 86, son variedades "nativas de pulpa de color" (Gil *et al.*, 2019).

Con el conocimiento de variedades de "papa nativa de pulpa de color", su cultivo ha rebrotado en el escenario mundial cambiando su identidad como alimento nutraceutico, que brinda bienestar a sus consumidores y a su vez contribuyen con el tratamiento de ciertas enfermedades (Bonnett, 2019; Rojas *et al.*, 2015; Balbín, 2014). Investigaciones han demostrado que poseen un elevado valor nutricional en antioxidantes y polifenoles, los cuales pueden variar de concentración dependiendo de la variedad (Diez *et al.*, 2013; Giusti *et al.*, 2014; Molina *et al.*, 2015; Suárez, 2014). Corroborándose su alta capacidad de curar y/o aliviar enfermedades gástricas e inflamaciones; además de ayudar a combatir enfermedades degenerativas que favorecen el crecimiento de tumores. Evidencia de ello es la calidad de vida que se refleja en la longevidad de la población andina (Sandoval *et al.*, 2015; Caballero y Gonzáles, 2016; Diez *et al.*, 2013).

Los efectos del cambio climático afectan directamente el rendimiento de los cultivos, ocasionando perjuicios económicos, siendo necesario la adopción de una serie de medidas que impliquen la adaptación de los cultivos frente al cambio climático. Se ha demostrado que las variedades nativas cuentan con una expresión diferencial de genes únicos, que ante condiciones adversas cuentan con mayor estabilidad, infiriéndose la necesidad de la conservación de su germoplasma (Tonconi, 2015; Tirado *et al.*, 2018; Torres *et al.*, 2014). Por otro lado la generación y empleo de plantas *in vitro* y microtubérculos como semilla pre-básica busca erradicar la producción tradicional de semilla, fomentándose el desarrollo de nuevas plantaciones que optimicen la producción, para beneficio del agricultor (Tapia *et al.*, 2017).

En biotecnología vegetal se hace uso de fitohormonas y fitorreguladores. Siendo la micropropagación, la técnica que tiene como finalidad masificar la producción de plántulas, para alcanzar el objetivo de conservar *in vitro* el germoplasma de una determinada especie. Las hormonas son catalogadas como reguladores químicos del crecimiento y desarrollo, provocando una respuesta fisiológica en cantidades ínfimas. Pudiendo agruparse en auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscisico y etileno. Las auxinas influyen en el alargamiento celular, formación de pared celular, crecimiento radicular y dominancia apical; siendo las más conocidas, el ácido indol acético (AIA), ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolbutírico. Por otro lado, las giberelinas contribuyen con el alargamiento del tallo, inducen a la floración e interrumpen la latencia de semillas; siendo el AG3 el más común (Raven *et al.*, 1992; Vásquez & Vásquez, 2016; Curtis *et al.*, 2008). Investigaciones han demostrado que el empleo de medio de cultivo MS, suplementado con 0.10 mg.L⁻¹ de GA3 y 0.50 mg. L⁻¹ de BAP resultó ser favorable en cuanto a la altura de

plántula, número de entrenudos, hojas y brotes axilares. Por otro lado el empleo de medio de cultivo MS (1962) suplementado con Sacarosa al 8%, Manitol al 1.5 %, y Cloruro de clorocolina a 1.5 ppm es favorable para la conservación *in vitro* del germoplasma de papa (González y Chavarria, 2016; López, 2012).

El efecto sinérgico entre hormonas busca generar mejores efectos que su aplicación de manera individual, pudiendo ser favorables o desfavorables para el crecimiento y desarrollo de un explante (Gil *et al.*, 2016). Si bien en la actualidad existen numerosas vías para la propagación de papa, son escasos reportes científicos relacionados con la evaluación del efecto sinérgico entre dos hormonas. Ante ello se planteó el objetivo de la investigación de evaluar el efecto sinérgico del ácido giberélico y de ácido indolacético en la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos (IPACA), de la Universidad Nacional de Trujillo. Los tubérculos de papa procedieron del Distrito de Carabamba, Provincia de Julcán, Departamento de La Libertad-Perú.

Selección y siembra en maceta de tubérculos de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”.

En invernadero se seleccionaron los mejores tubérculos en base a su óptimo estado sanitario, las cuales fueron sembradas en macetas. El sustrato estuvo constituido por una mezcla de compost y tierra agrícola. Se sembró un tubérculo por maceta, previo tratamiento con fungicida Benomil a la dosis de 1% de ingrediente activo. Una vez que emergieron las plántulas, el riego se efectuó una vez por semana.

Preparación de medio de cultivo para evaluar el efecto sinérgico del ácido giberélico y de ácido indolacético en la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”.

Para la preparación de 200 ml de medio de cultivo MS (1962), en un matraz se midió el volumen de MS (1x) y se suplemento con diferentes concentraciones del ácido giberélico y de ácido indolacético, de acuerdo al tratamiento asignado (Tabla 1); aforándose con agua destilada a 200 ml. En balanza analítica, se pesó el azúcar (3%) y el agar (0.60 %). Luego se calentó el medio de cultivo y cuando estuvo tibio se vertió el azúcar y el agar, una vez homogenizado se procedió a servir 2 ml por cada tubo de ensayo. Se selló con papel metálico la boca de los tubos, para finalmente proceder a empaquetar y esterilizar en autoclave a 120° C, 1 atm de presión por 30 minutos.

Tabla 1. Medio de cultivo MS 1962 suplementado con diferentes concentraciones de ácido indolacético y ácido giberélico para evaluar el efecto sinérgico en la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”.

Tratamiento	AG3(ppm)	AIA(ppm)
1	0.0	0.0
2	0.0	0.1
3	0.0	0.25
4	0.25	0.0
5	0.25	0.1
6	0.25	0.25
7	0.5	0.0
8	0.5	0.1
9	0.5	0.25

Leyenda: AIA= Ácido indolacético;
AG3= Ácido giberélico

Siembra *in vitro* de explantes de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”.

Se colectaron entrenudos de *S. tuberosum* L., cuando las plantas madres cultivadas en macetas alcanzaron los 2 meses de edad. La siembra *in vitro* se realizó en cámara, previa desinfección del área y encendido de los mecheros. Los explantes colectados de la planta madre fueron enjuagados con agua y detergente por 2 minutos. Luego se desinfectaron, primero con alcohol de 70° durante 30 segundos, seguido de 3 enjuagues con agua estéril autoclavada. Y luego con lejía al 2%, durante 3 minutos seguido de 3 enjuagues con agua estéril autoclavada. Se colocaron los explantes dentro de una placa de Petri estéril provista de papel filtro, para eliminar el exceso de humedad. Finalmente, con la ayuda del bisturí los explantes fueron tomados uno por uno y sembrados en sus respectivos tubos. Una vez concluida esta actividad, se rótulo la información referida a la variedad y fecha de siembra. Luego fueron llevados al cuarto de incubación, a una temperatura a 18 °C. Fotoperiodo 16-8 horas luz oscuridad y humedad relativa del 85% (López *et al.*, 2019).

Análisis estadístico de plántulas de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”.

La toma de datos, altura de plántula, número de nudos y número de raíces se realizó a los 20 días después de la siembra. Se utilizó un Diseño en Bloques Completamente al Azar, constituido por 162 unidades experimentales, distribuidos en 9 tratamientos con 3 repeticiones y 6 unidades muestrales por tratamiento. Los resultados obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA), empleando el software R, con un nivel de significancia del 95%.

3. RESULTADOS

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. “papa nativa de pulpa de color”, empleando diferentes concentraciones de ácido giberélico y del ácido indolacético. Pudiéndose resaltar que el tratamiento 8 destaca por presentar mayores resultados en los parámetros evaluados. Por otro lado la Figura 2, ilustra las plántulas *in vitro* a los 20 días de evaluación. Mientras que la Tabla 3,4 y 5 detalla el análisis de varianza (ANOVA), de la altura, número de nudos y número de raíces de plántulas de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”, a los 20 días de evaluación.

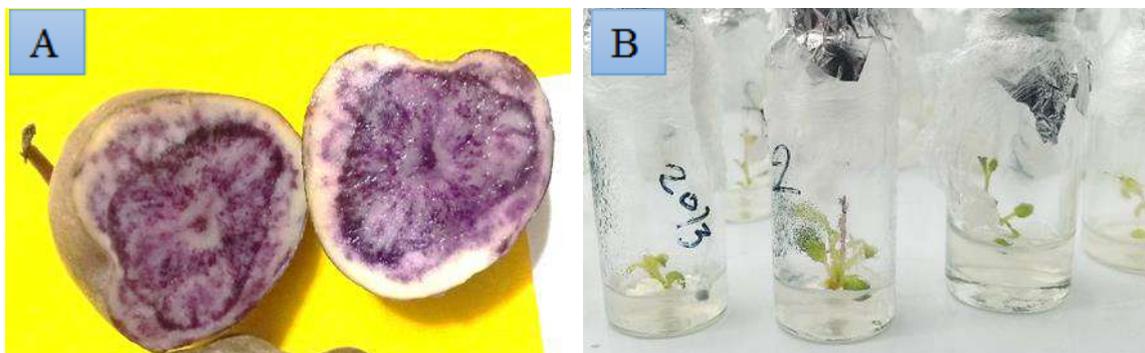


Figura 1. *Solanum tuberosum* L. "papa nativa de pulpa de color". A) Fotografía de la variedad "Cochacina". B) Fotografía del cultivo *in vitro*.



Figura 2. Evaluación a los 20 días, del efecto sinérgico del ácido giberélico y de ácido indolacético en la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L. "papa nativa de pulpa de color".

Tabla 2. Resultados del efecto sinérgico del ácido giberélico y de ácido indolacético en la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L. "papa nativa de pulpa de color".

Tratamiento	Altura	Número de nudos	Número de raíces
1	2.7	5.17	3.67
2	2.99	5.83	3.28
3	3.38	6.22	4.78
4	2.96	5.28	2.39
5	2.63	4.72	2
6	3.38	6.17	3.17
7	3.68	5.94	2.44
8	4.23	6.94	4.72
9	3.93	6.39	4.83

Tabla 3. Análisis de varianza (ANOVA), de la altura de plántulas de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”, a los 20 días de evaluación.

Fuente	GL	SC Ajust.	Mc Ajust.	Valor F	Valor P
Tratamiento	8	44.5	5.563	3.12	0.003
Error	153	273.22	1.786		
Total	161	317.72			

Tabla 4. Análisis de varianza (ANOVA), del número de nudos de plántulas de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”, a los 20 días de evaluación.

Fuente	GL	SC Ajust.	Mc Ajust.	Valor F	Valor P
Tratamiento	8	68.44	8.556	3.62	0.001
Error	153	362.00	2.366		
Total	161	430.44			

Tabla 5. Análisis de varianza (ANOVA), del número de raíces de plántulas de *S. tuberosum* L. “papa nativa de pulpa de color”, a los 20 días de evaluación.

Fuente	GL	SC Ajust.	Mc Ajust.	Valor F	Valor P
Tratamiento	8	174.3	21.793	6.51	0.000
Error	153	512.1	3.347		
Total	161	686.4			

4. DISCUSIÓN

Se evidenció cierta variabilidad entre los tratamientos en cuanto altura, número de entrenudos y raíces, ante el empleo de diferentes concentraciones de ácido giberélico y de ácido indolacético (Tabla 1). Al ser sometidos al análisis de varianza (ANOVA), se corrobora la afirmación de existir diferencias estadísticamente significativas, lo cual es indicador de un notable efecto sinérgico al emplear 2 fitohormonas (Tabla 3; Tabla 4; Tabla 5). Sin embargo, investigaciones de García *et al.* (2015) afirman que para la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L., no es necesario el empleo de reguladores de crecimiento, basta el medio de cultivo MS (1962) y una buena cantidad de sacarosa de 30 g L⁻¹ (3%). De la misma manera López *et al.* (2019) y Araque *et al.* (2018) sostiene que para la multiplicación y mantenimiento de explantes de *S. tuberosum* L., basta el empleo del medio de cultivo MS (1962) sin reguladores de crecimiento. Pudiendo haber una ínfima diferencia al suplementar el medio de cultivo con 0.02 mg L⁻¹ de ácido naftalenacético (ANA). Mientras que el empleo de 0.05 mg L⁻¹ de AIB garantiza un mayor desarrollo de un sistema radical en el número de raíces (4.87) y la longitud de raíces (8.2 cm). Por otro lado Tacoronte *et al.* (2017) sostienen que obtuvieron un mayor crecimiento de *S. tuberosum* L., al incrementar en el medio de cultivo MS (1962) las concentraciones de nitrato de amonio a 1,98 g L⁻¹, nitrato de potasio a 2,28 g L⁻¹ y

bajando la sacarosa a 20 gL⁻¹, obteniendo plántulas de 5,82 cm de longitud promedio y con raíces de 3 cm.

La evaluación a los 20 días después de la siembra, nos indica que el tratamiento T8 destacó en la propagación *in vitro* de *S. tuberosum* L. "papa nativa de pulpa de color". Debido a que los explantes evidenciaron un ligero incremento en cuanto a altura, número de entrenudos y raíces, comparado con el resto de tratamientos (Figura 2; Tabla 2). Sin embargo, investigaciones han demostrado que el empleo de medio de cultivo líquido MS (1962), suplementado con 1 mgL⁻¹ de benciladenina, bajo un fotoperiodo de 8 h luz; brinda mejores resultados en cuanto a longitud de plántulas, pudiendo alcanzar los 18.03 cm (Moreno y Oropeza, 2017).

5. CONCLUSIONES

Se concluye que el ácido giberélico y el ácido indolacético a la concentración de 0.5 ppm AG3 y 0.1 ppm AIA, ejercen efecto sinérgico en la propagación *in vitro* *S. tuberosum* L. "papa nativa de pulpa de color".

6. AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial al Laboratorio de Biotecnología del Instituto de La Papa y Cultivos Andinos (IPACA) de la Universidad Nacional de Trujillo-Perú, por brindarnos las facilidades para llevar a cabo esta investigación en su establecimiento.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Araque, E.; Bohórquez, M.; Pacheco, J.; Correa, L.; Urquijo, J.; Castañeda, S.; Pacheco, J. 2018. Propagación y tuberización *in vitro* de dos variedades de papa. *Ciencia en Desarrollo* 9(1), 21-31.
2. Bonnett, D. 2019. "Resurgencia" y recolonización de la papa. Del mundo andino al escenario alimentario mundial, siglos XVI- XX. *Anuario Colombiano de Historia Social y de la Cultura* 46(1), 27-57.
3. Balbín, B. 2014. Nutracéutico peruanos que previenen enfermedades. *Cultura, Ciencia y Tecnología* 5: 9-16.
4. Caballero, L.; Gonzáles, G. 2016. Alimentos con efecto anti-inflamatorio. *Acta Médica Peruana* 33(1), 50-64.
5. Curtis, H.; Barnes, N.; Schnek, A.; Massarini, A. 2008. *Biología*. 7ma edición. Editorial Médica Panamericana. España. 1160 pp.
6. 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.
7. García, L.; Rodríguez, M.; La O., M.; Pérez, M.; Alvarado, Y.; De Fera, M.; Veitía, N., Mirabal, 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.
8. Gil, E.; López, E.; López, A. 2016. Efecto sinérgico del ácido indolacético, ácido giberélico y 6-bencilaminopurina en la propagación *in vitro* de "papaya" *Carica papaya* L. (Caricaceae). *Arnaldoa* 23 (2), 577 – 586.

9. 9. Gil, E.; Lopéz, 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.
10. 10. Giusti, M.; Polit, M.; Ayvaz, H.; Tay, D.; Manrique, I. 2014. Characterization and Quantitation of Anthocyanins and Other Phenolics in Native Andean Potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62, 4408- 4416
11. 11. González, D.; Chavarría, M. 2016. Microtuberización del cultivar de papa (*Solanum tuberosum* L.) Banba en Biorreactores Económicos de Inmersión Temporal. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 36 pp.
12. 12. Inostroza, J.; Méndez, P.; Espinoza, N.; Acuña, I.; Navarro, P.; Cisternas, E.; Larraín, P. 2017. Manual del cultivo de papa en Chile. Editorial del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Santiago, Chile. 144 pp.
13. 13. Lopéz, S. 2012. In vitro conservation of germplasm of native potato of color-pulp from Region La Libertad, Perú. *REBIOL* 1(32), 11- 15.
14. 14. Lopéz, S., Mostacero, J., Gil, E., Lopéz, A. y De la Cruz, J. (2019). Efecto del ácido giberélico y del ácido indolacético en la micropropagación in vitro de *Solanum tuberosum* var. Maria Reiche. *Rebiol*, 39(1), 1-9.
15. 15. MINAGRI. 2011. La papa nuestra de cada día. Editorial del Ministerio de Agricultura. Lima, Perú. 13 pp.
16. 16. Molina, Y.; Rabe, G.; Rodríguez, M.; Cerón, M.; Garnica, A. 2015. Contenido de antioxidantes en papas criollas nativas (*Solanum tuberosum* L. grupo Phureja), en proceso de precocción y congelación. *Revista Alimentos Hoy* 36 (23), 31-41.
17. 17. Moreno, M.; Oropeza, M. 2017. Efecto de las hormonas vegetales y el fotoperiodo en la producción de microtubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología* 19 (2) ,29-38.
18. 18. Pumisacho, M.; Sherwood, S. 2002. El cultivo de la papa en Ecuador. Editorial del INIAP. Quito, Ecuador. 231 pp.
19. 19. Raven, P.; Evert, R.; Eichhorn S. 1992. *Biología de las plantas*. Editorial Reverte S. A. Barcelona, España. 773 pp.
20. 20. Rojas, S.; Lopera, J.; Uribe, A.; Correa, S.; Perilla, N.; Marín, J. 2015. Consumo de nutraceuticos, una alternativa en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Revista Biosalud* 14(2), 91-103.
21. 21. Sandoval, M.; Tenorio, J.; Tinco, A.; Loli, R.; Calderón, S. 2015. Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* 'papa' en la mucosa gástrica de animales de experimentación. *Anales de la Facultad de Medicina* 76(1) ,15-20.
22. 22. Spooner, D.; Hetterscheid, W. 2005. Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. In: *Darwin's Harvest: New Approaches to the Origins, Evolution, and Conservation of Crops*. Motley, T., Zerega, N., y Cross, H. (eds). pp. 285-307. Colombia University Press, New York.
23. 23. Suárez, S.; Ale, N.; Trabucco, J.; Sanabria, O. 2014. Polifenoles, micronutrientes minerales y potencial antioxidante de papas nativas. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 80(2), 108-114.
24. 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.
25. 25. Tapia, M.; Lorenzo, C.; Mosqueda, O.; Escalona, M. 2017. Obtención de microtubérculos y minitubérculos como semilla pre-básica en tres cultivares peruanos de papa. *Biotecnología Vegetal* 17(3), 161-169.
26. 26. Tirado, R.; Roberto, L.; Mendoza, J. 2018. Interacción genotipo x ambiente en rendimiento de papa (*Solanum tuberosum* L.) con pulpa pigmentada en Cutervo, Perú. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science (ex Agro-Ciencia)* 34(3), 191-198.
27. 27. Tonconi, J. 2015. Producción agrícola alimentaria y cambio climático: un análisis económico en el departamento de Puno, Perú. *Idesia* 33(2), 119-136.
28. 28. Torres, Y.; Lozano, R.; Merino, C.; Orjeda, G. 2014. Identificación de genes relacionados a sequía en papas nativas empleando RNA-Seq. *Revista Peruana de Biología* 20(3), 211 – 214.

29. 29.Vargas, G.; Martínez, P.; Velezmoro, C. 2016. Propiedades funcionales de almidón de papa (*Solanum tuberosum*) y su modificación química por acetilación. *Scientia Agropecuaria* 7 (3), 223-230.
30. 30.Vásquez, R.; Vásquez, R.2016. *Temas selectos de biología 2*. 2da Edición. Grupo Patria S.A. México. 152 pp.

Artículo de revisión

HISTORIA EVOLUTIVA DE LOS GENES SOX DURANTE DEL PROCESO DE DUPLICACIÓN GÉNICA

EVOLUTIONARY HISTORY OF THE SOX GENES THROUGHOUT GENE DUPLICATION

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: 18 de Noviembre, 2019. Aceptado: 2 de Diciembre, 2019.

Resumen

La familia de genes Sox codifica importantes factores de transcripción involucrados en las primeras etapas de desarrollo embrionario. Contienen una región conservada llamada caja HMG que es, al menos, 50% similar a la caja HMG del gen Sry. Se han propuesto diversos modelos filogenéticos que permitan una mejor comprensión de su evolución. Dichos modelos sugieren una posible aparición en el último ancestro común, así como una posterior divergencia en los metazoos tempranos debido a varios eventos de duplicación de genoma. Las copias duplicadas adquirieron nuevas funciones o pasaron por un proceso de sub-funcionalización que condujo a la aparición de nuevas subfamilias génicas en diferentes grupos animales. Aquí, revisamos el conocimiento actual sobre la familia de genes Sox, su evolución y sus funciones.

Palabras clave: Genes Sox, proteínas SOX, caja HMG, duplicación génica, filogenia.

Abstract

Sox gene family encodes important transcription factors involved in early stages of embryonic development. They contain a conserved region called HMG-box which is at least 50% similar to the HMG-box of Sry gene. Several phylogenetic models have been proposed for a better understanding of their evolution suggesting a possible emergence in the last common ancestor, and a posterior divergence in early metazoans due to several genome duplication events. Duplicated copies acquired new functions or went through sub-functionalization leading to the emergence of new gene sub-families in different animal clusters. Here, we review the current knowledge on Sox gene family, their evolution and their functions.

Keywords: Sox genes, SOX proteins, HMG-box, gene duplication, phylogeny.

1. INTRODUCCIÓN

Los genes Sox codifican una familia de factores de transcripción (FT) que son esenciales en varios procesos de desarrollo. Contienen un dominio de unión al ADN llamado HMG (High mobility group) en el caso de las proteínas (o "caja-HMG", en el caso de los genes), el cual es altamente conservado en la mayoría de ellos. Parecen estar restringidos solo a animales y varios estudios los han clasificado en subgrupos según la homología de sus dominios HMG y otros motivos estructurales (Bowles et al, 2000). Se cree que los genes Sox emergieron en los primeros metazoos, los cuales ya poseían una caja-HMG parcial que luego paso por procesos de duplicaciones, mutaciones dispersas y adquisición funcional. De hecho, algunas de estas cajas HMG duplicadas dejaron copias redundantes libres que pudieron adquirir nuevas funciones, o ser silenciadas y/o reducidas por mutaciones acumulativas. Estos eventos moleculares condujeron a la formación de 6 grupos Sox en los primeros animales bilaterales; mientras que los posteriores reordenamientos en sus dominios proteicos permitieron la aparición de grupos adicionales. La característica más obvia de la conservación del dominio HMG dentro de los diversos grupos de la familia Sox es su posición dentro de la proteína entera, así como la longitud total de la misma (Bowles et al, 2000; Wegner, 1999).

En este artículo, revisaremos aspectos generales de los genes Sox, así como historia evolutiva en metazoos, pasando por los eventos de duplicación de genes hasta los eventos moleculares que condujeron a la divergencia de varios grupos con gran complejidad. Luego, nos centraremos en la forma en que la evolución de estos genes condujo a los procesos de neo-funcionalización y sub-funcionalización. Finalmente, mencionaremos las principales diferencias y funciones de los grupos de genes Sox después del proceso evolutivo.

Proteínas SOX como factores de transcripción importantes

Los factores de transcripción son esenciales para el desarrollo y mantenimiento de los organismos. Este es el caso de las proteínas SOX, que están involucradas en las primeras etapas del desarrollo embrionario y, dado que presentan un dominio de unión al ADN, también se consideran factores de transcripción arquitectónicos involucrados en la coordinación de la estructura local de la cromatina (Canning & Lovell-Badge, 2002; Chau et al, 2000).

SOX significa "Sry-related HMG box" (caja-HMG relacionada al gen Sry), y estos genes comparten convencionalmente al menos un 50% de similitud con la secuencia de la caja-HMG del gen Sry. Dicho gen codifica una proteína de 79 aminoácidos, dispuesta en tres hélices. De acuerdo con su dominio HMG, las proteínas SOX están compuestas en 2 familias: "TCF / SOX / MATA" (dominios HMG específicos de secuencia única) y "HMG / UBF" (dominios HMG múltiples). Es importante mencionar que todas las proteínas SOX presentan dominio HMG, pero no todas las proteínas con dominio HMG son proteínas SOX. De hecho, todas en conjunto forman parte de un grupo completo de proteínas llamado Grupo de Alta Movilidad (Bowles et al, 2000; Chau et al, 2000; Qi-long et al, 2012). Según la similitud en la secuencia de la caja-HMG, la función, la estructura del gen y su ubicación en los cromosomas, las familias de genes Sox se puede subdividir en los grupos A-J. El grupo Sox A (el cual corresponde al gen Sry) es específico de los mamíferos eutherianos, mientras el resto de los grupos se encuentran en la mayoría de los metazoos superiores, excepto los grupos G y J (Figura 1).

Los miembros de algunos subgrupos SOX comparten características adicionales al dominio HMG. Por ejemplo, los miembros del Grupo E que incluye SOX9 y SOX10 comparten una identidad de aminoácidos del 41% en su dominio C-terminal de 66 aminoácidos que, en SOX9, se sabe que es necesario para la transactivación (Bowles et al, 2000; Chau et al, 2000; Argentaro et al, 2000). En la actualidad, se han clonado más de 40 pares ortólogos de genes Sox en el reino animal, incluidos más de 30 en vertebrados y más de una docena en invertebrados. A partir de ellos, se han identificado 22 genes Sox en mamíferos, 20 de ellos presentes en humanos y ratones. Muchos de estos presentan funciones puntuales en los procesos de neurogénesis, condrocitogénesis, diferenciación sexual y otros. Por estas razones, son de gran importancia en el desarrollo de los tejidos donde se expresan ya que, al producirse mutaciones en dichos genes, es probable que también ocurra un desarrollo anormal en sus tejidos diana (Qi-long et al, 2012; Schepers et al, 2002; Koopman et al, 2004; Cremazy et al, 1998; Popovic et al, 2009).

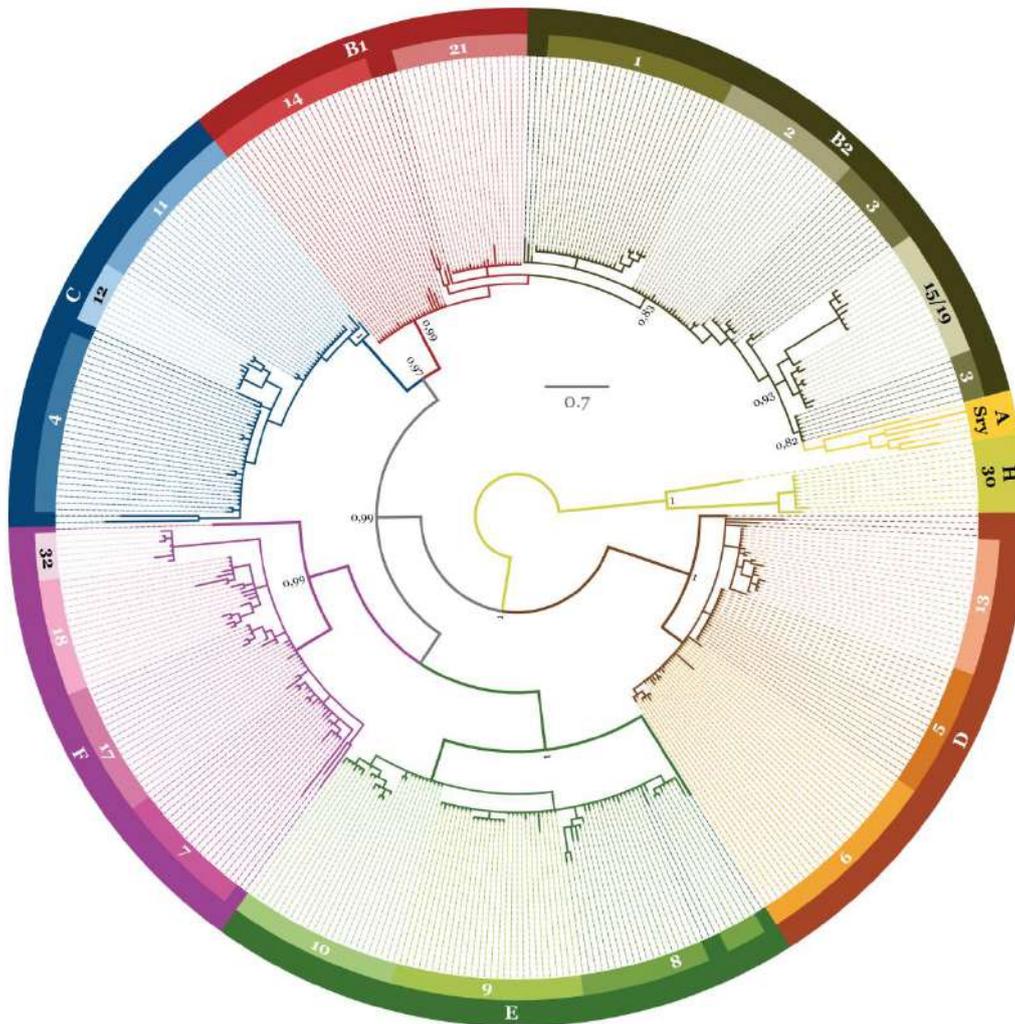


Figura1. Filogenia propuesta de la familia Sox: Inferencia bayesiana basada en las secuencias de los dominios HMG de las proteínas SOX. Cada grupo contiene al menos un representante en invertebrados (Extraído de Voldoire, 2013).

Origen de los genes Sox

Al igual que otros factores de transcripción, es posible que los genes Sox tengan su origen en los metazoos tempranos, ya que dicho evento estaría correlacionado con la diferenciación morfológica y la adquisición de complejidad celular en todos los animales. Además, varios estudios muestran que la ausencia de ciertas familias de factores de transcripción específicas de metazoos se correlaciona con el bajo potencial de diferenciación celular en organismos más primitivos, como los coanoflagelados (Crow & Wagner, 2006; King et al, 2008). Filogenéticamente, aún existe una gran controversia sobre el origen de los metazoos a partir del grupo porífera, ya que las esponjas podrían constituir un grupo separado dentro la clasificación clásica de los animales. Sin embargo, se cree que tanto los coanoflagelados, las esponjas y otros metazoos tempranos compartieron un ancestro común unicelular a fines del período Precámbrico, hace más de 600 millones de años. Sin embargo, esta hipótesis conlleva a algunas preguntas: ¿Cuál fue el antepasado de los animales? ¿Era parecido a una esponja, o a un coanoflagelado? ¿Dichos organismos presentaban genes Sox? ¿Y cómo evolucionaron estos genes?

Choanoflagellata, el grupo hermano de los animales

Los coanoflagelados son los parientes más cercanos conocidos de los metazoos y constituyen su grupo hermano dentro del grupo monofilético Filozoa. Por esta razón, los investigadores creen que el ancestro común de ambos fue un organismo similar a un coanoflagelado y es probable que tuviera características primitivas de multicelularidad. Esto significa que dicho ancestro pudo organizarse en colonias y adoptar funciones específicas con respecto a otros miembros de la misma colonia. Estos organismos unicelulares poseen algunas proteínas de señalización y adhesión que son características de los metazoos, como las proteínas Sox-like (similares a Sox). Sin embargo, no poseen una gran cantidad de factores de transcripción que si están presentes en los metazoos, y exhiben una posible pérdida de genes homeobox durante su historia evolutiva. Esta pérdida sugiere que, en el curso de la evolución de los coanoflagelados, la complejidad de los factores de transcripción y la diversidad de tipos celulares podrían haber sufrido una reducción secundaria (Crow & Wagner, 2006; King et al, 2008; Larroux et al, 2008).

N. King y colaboradores, luego de trabajar con el coanoflagelado *Monosiga brevicollis*, determinaron que este posee un conjunto de familias de factores de transcripción que, anteriormente, se creía ser específico de metazoos. Estos FT pueden haber tenido roles críticos durante la evolución de los antepasados metazoos al regular la expresión diferencial de ciertos genes y permitir la emergencia de múltiples tipos celulares dentro de un solo organismo. El posterior incremento de tamaño en las familias de FT, dentro de los eumetazoos, se correlaciona con la complejidad morfológica y de tipo celular dentro de este filo. Esto sugiere que, el aumento en el número de genes que codifican FT puede haber sido un factor importante en la expansión del potencial de desarrollo y la aparición de nuevos tipos celulares (King et al, 2008; Larroux et al, 2006; Larroux et al, 2008).

Es posible que gran parte del repertorio de genes necesarios para el desarrollo de los animales bilaterales haya evolucionado antes de la divergencia entre esponjas, cnidarios y bilaterales. Sin embargo, los mecanismos de invención de nuevos genes en la base del filo Metazoa, y la integración de dichos genes para crear la red de señalización celular y regulación transcripcional fundamental para el desarrollo de todos los animales, sigue siendo un misterio. Se ha sugerido que los reordenamientos extensivos dentro de los dominios de las proteínas podrían haber conducido a nuevas funciones en la línea evolutiva de los metazoos y coanoflagelados. Por otro lado, también se conoce que una gran diversidad de genes que contienen cajas homeobox evolucionaron antes de la divergencia entre esponjas y eumetazoos (como ANTP, Prd-like, Pax, POU, LIM-HD, Six y TALE). Con respecto a los grupos Sox, Bowles afirma que para cada uno de los grupos SOX actualmente reconocibles, ya existía una única forma ancestral antes del origen del linaje de los vertebrados (Bowles et al, 2000; Cock et al, 2010; Degnan et al, 2009).

Evolución de los factores de transcripción en metazoos tempranos

Clásicamente, se consideran a las esponjas como el grupo de metazoos más antiguo, ya que la posición filogenética de los ctenóforos aún no ha sido resuelta. Los coanocitos presentes en las esponjas comparten características similares a los coanoflagelados, y debido a esto se cree que estas puedan provenir a partir de dichos organismos unicelulares. En comparación con los eumetazoos, los poríferos exhiben algunas diferencias remarcables. Por ejemplo, las esponjas parecen no tener mesodermo y, según estudios en la demosponja *Amphimedon queenslandica*, no poseen FT involucrados en el desarrollo del mesodermo. Por otro lado, si poseen varios factores de transcripción implicados en la determinación o diferenciación de músculos y nervio (PaxB, Lhx, SoxB, Msx, Mef2, Irx y bHLH), a pesar de carecer de un sistema neuromuscular. La presencia de SoxB en las esponjas indica que este gen fue uno de los primeros de la familia Sox en aparecer durante la evolución de los metazoos. De hecho, Larroux y colaboradores indican la presencia de 4 genes Sox en *A. queenslandica* (AmqSoxB1, AmqSoxB2, AmqSoxC y AmqSoxF) (Cock et al, 2010; Degnan et al, 2009; Larroux et al, 2008; Srivastava et al, 2010).

Sin embargo, *Amphimedon* carece de otros genes, como los genes Hox, y de familias completas de factores de transcripción que son importantes en el modelado del sistema nervioso y el plan corporal en animales bilaterales. Se desconoce la forma en que los metazoos tempranos adquirieron gran complejidad después divergir de las esponjas, pero muchos autores han establecido una correlación entre el proceso de duplicación genómica y la evolución de la complejidad y diversidad (Crow & Wagner, 2006; Degnan et al, 2009). Kaessmann da un ejemplo con respecto a la duplicación genómica en esponjas. Se sugiere que la primera duplicación de genes Pax ocurrió antes de que los poríferos divergieran. Esto implica que las esponjas, las cuales carecen de células neurales y de órganos modelados por genes Pax en animales superiores, ya presentaban al menos dos copias de estos genes (Kaessmann, 2010; Breitling & Gerber, 2000).

Duplicación genómica y duplicación génica.

La duplicación genómica (o conocida como whole genome duplication, o WGD) es el evento por el cual el genoma entero de un organismo se duplica; mientras que la duplicación génica corresponde a la duplicación de un gen, o grupo de genes específicos, dentro del genoma de un organismo (más conocida como duplicación en tándem). Ambos procesos constituyen un mecanismo importante para la evolución de la complejidad fenotípica, la diversidad, la innovación y el origen de nuevas funciones genéticas. Además, se considera que los eventos de duplicación genómica reducen el riesgo de extinción a través de varios medios: por redundancia funcional, robustez mutacional y mayores tasas de evolución y adaptación (Meyer & Van de Peer, 2005; Van de Peer et al 2009).

En los últimos 50 años, se ha discutido sobre que posibles mecanismos hayan permitido a nuestro ancestro común primordial aumentar su material genético y desarrollar los componentes moleculares responsables de la diversidad de las especies actuales. Sobre esto, Susumo Ohno en 1970 propuso que el genoma de los animales vertebrados fue sometido a dos rondas de duplicación total (hipótesis 2R). Es decir, un genoma ancestral deuterostomado dio lugar a dos después de la primera duplicación, y luego a cuatro genomas después de la segunda duplicación. La prueba que estos eventos sucedieron es que, en la mayoría de los casos, los genes duplicados de la misma familia están ordenados en grupos vinculados y mantienen el mismo orden de genes a pesar de encontrarse en diferentes cromosomas (Crow & Wagner, 2006; Meyer & Van de Peer, 2005).

En este contexto, Srivastava explica que «aproximadamente las tres cuartas partes de 1286 familias de genes específicas de animales surgieron por diversos procesos de duplicación en la base del filo Metazoa. Además, duplicaciones génicas adicionales, y la posterior divergencia de los eumetazoos, aumentaron aún más el número de familias de FT (el cual es de 2 a 34 veces mayor en eumetazoos que en Amphimedon)» (Srivastava et al, 2010). En vertebrados, es ampliamente aceptado que la duplicación del grupo de genes Hox es el resultado de duplicaciones de genoma completo antes de la aparición de vertebrados, gnatóstomos y peces teleósteos. El ejemplo más popular sobre la correlación putativa entre la duplicación genómica y una mayor diversidad de especies es el caso de los peces de la clase Actinopterygii; ya que las múltiples rondas de duplicación genómica por las que han atravesado han contribuido a su éxito evolutivo (Larroux et al, 2006; Larroux et al, 2008). De hecho, estos genes duplicados son el resultado de una duplicación segmentaria a gran escala antes de la radiación de los peces teleósteos, lo que respalda una "teoría de duplicación de genoma completo, específica en los peces" (duplicación 3R) (Koopman et al, 2004). En resumen, es ampliamente aceptado que todos los vertebrados han compartido dos antiguos eventos de duplicación genómica completa (1R, 2R), mientras que los peces teleósteos derivan de un linaje que experimentó una duplicación genómica adicional (3R). Esto sugiere que, a pesar de que los descendientes de un linaje que sufrió duplicación genómica no sobreviven con frecuencia; si lo hacen, su linaje evolutivo puede ser muy exitoso. Por esas razones, no se considera la duplicación genómica como un callejón sin salida, sino como un proceso que proporciona nuevas oportunidades para el éxito evolutivo (Koopman et al, 2004; Qi-long et al, 2012).

En el caso de los genes Sox, se han identificado 14 genes Sox en el cnidario *Nematostella vectensis*, y es probable que al menos 8 de estos genes sean resultado de duplicaciones específicas en este linaje. De la misma forma, también se han identificado 6 familias de genes Sox en los bilaterales. Dentro de los vertebrados, dichos genes se encuentran duplicados tanto en algunos anfibios, como *Odorrana schmackeri*, y en peces teleósteos, como *Danio rerio* y *Takifugu rubripes*. La preservación de múltiples copias de genes podría ser el resultado de la partición de subfunciones ancestrales; sin embargo, algunas de estas copias también han sufrido algunas modificaciones, como es el caso de los miembros del subgrupo SoxB en los deuterostomados, en donde perdieron sus intrones. Este grupo Sox se dividen en los subgrupos B1 y B2; y en términos de función, los genes SoxB1 actúan como activadores de la transcripción mientras que los SoxB2 generalmente desempeñan un papel como represores. Interesantemente, el subgrupo SoxB se expandió independientemente en diferentes linajes animales, como es el caso de los vertebrados donde presentan un aumento de complejidad a nivel molecular (Chau et al, 2000; Qi-long et al, 2012, Larroux et al, 2008; Popovic et al, 2009; McKimmie et al, 2005). En *H. sanchiangensis*, Qi-long propuso que existían dos destinos evolutivos para los genes Sox duplicados. Uno consistía en que dichos genes duplicados pasaron por un período de selección relajada que provocó una tasa evolutiva asimétrica para una de las copias, mientras que el otro sostenía que los genes duplicados experimentan restricciones de selección idénticas y no poseen mayor diversidad genética (Qi-long et al, 2012). Esto apoya que los genes duplicados pueden ser retenidos mediante un proceso de sub-funcionalización y/o relajación en ambas copias provenientes de un gen ancestral.

Neo-funcionalización y sub-funcionalización

Probablemente, en diversas etapas a lo largo de la evolución de metazoos, las secuencias que contenían cajas HMG se duplicaron, dejando una copia redundante libre de desarrollar una nueva función (neo-funcionalización) o perderse del genoma. De hecho, es posible que algunas de estas secuencias hayan reclutado dominios funcionales preexistentes y, por lo tanto, hayan formado proteínas-mosaico capaces de asumir rápidamente funciones nuevas. A diferencia de este proceso, la sub-funcionalización tiene lugar cuando ambos duplicados se mantienen debido a la división complementaria de funciones estructurales o reguladoras ancestrales entre las copias, de modo que la adición de sus funciones (a menudo la adición de sus sitios de expresión) proporciona al menos la expresión del gen pre-duplicado (Bowles et al, 2000; Force et al, 1999). Un modelo propuesto en evolución es el modelo de duplicación-degeneración-complementación (DDC), el cual predice que la probabilidad de conservación genética será mayor en genes complejos con mayor número de subfunciones, y sugiere que la partición de subfunciones ancestrales es un mecanismo importante que conduce a la preservación de múltiples copias. Esto significa que las subfunciones se mantendrían después de subsecuentes rondas de duplicación, y luego, la mayoría de las copias duplicadas se perderán durante el proceso de re-diploidización (Qi-long, et al, 2012; Chaboissier et al, 2004; Force et al, 1999).

Todas las similitudes y diferencias surgidas después de los procesos de neo-funcionalización y sub-funcionalización entre los grupos de genes Sox también se manifiestan por medio de sus patrones de expresión dentro de varios tejidos. Por ejemplo, el subgrupo B está involucrado principalmente en el desarrollo neuronal (Sox1, Sox2, Sox3, Sox14) durante la diferenciación del sistema nervioso central (SNC) en animales como *Drosophila*, *Xenopus*, pollo y ratón. Por otro lado, Sox5, Sox6 y Sox9 se co-expresan durante la diferenciación de condrocitos en el hueso. Además, Sox9 es necesario y suficiente para la formación de testículos en ratones, mientras que Sox8 depende de la expresión de Sox9 para reforzar su función en la formación de testículos (Canning & Lovell-Badge, 2002; Popovic et al, 2009; Akiyama et al, 2002; Wright et al, 1995; Chaboissier et al, 2004; Berbejillo et al, 2012; Lefebvre et al, 2007) (Tabla1).

2. CONCLUSIONES

A pesar de toda la información presentada, no hay pistas puntuales que conduzcan a una filogenia definitivamente de la familia de genes Sox. Varios investigadores han identificado una gran cantidad de genes Sox y han intentado clasificarlos según la homología de sus cajas HMG, encontrando una relación entre su evolución y los eventos de duplicación que podrían haber tenido lugar en los primeros animales. A lo largo de esta revisión, hemos resaltado la importancia de la duplicación de genes como fuente de nuevos genes o funciones genéticas novedosas, porque este evento molecular podría haber constituido el mecanismo principal en la divergencia de los grupos Sox. En la actualidad, todavía se estudia la filogenia de esta familia de genes y la presencia de nuevos grupos de genes Sox que pueden aclarar su historia evolutiva. Todas las proteínas SOX presentan un dominio HMG que está altamente conservado, esto se debe a la función de unión al ADN, que es esencial para su rol como factor de transcripción. Los genes Sox podrían haber surgido en los primeros metazoos, después de una duplicación completa del genoma y duplicaciones en tándem específicas.

Tabla1: Funciones de los genes Sox (adaptado a partir de Lefebvre et al 2007; Schepers et al, 2002)

Grupo	Gen	Función
A	Sry	Determinación sexual: Diferenciación de células de Sertoli en embrión masculino. Actividad cerebral: Regulación de neuronas dopaminérgicas en el macho adulto.
B1	Sox1	Desarrollo ocular: Inducción y desarrollo de la fibra ocular. Neurogénesis: Especificación y mantenimiento de la identidad celular en células madre neurales.
B1	Sox2	Células madre embrionarias: Mantenimiento e la identidad y pluripotencia. Neurogénesis: Especificación y mantenimiento de la identidad celular en células madre neurales. Desarrollo ocular: Inducción y desarrollo de la fibra ocular. Desarrollo de la hipófisis anterior: expresión de varias hormonas.

		Diferenciación de células progenitoras endodérmicas en células sensoriales.
B1	Sox3	Neurogénesis: Especificación y mantenimiento de la identidad celular en células madre neurales. Desarrollo ocular: Inducción y desarrollo de la fibra ocular. Desarrollo de la hipófisis: Desarrollo de bolsas de Rathke y del eje hipotálamo-hipófisis. Gonadogénesis: Desarrollo adecuado de ovocitos, diferenciación masculina y espermatogénesis.
B2	Sox14	Neurogénesis: Inhibición de Sox1-3 como promotores de la diferenciación neuronal.
B2	Sox21	Neurogénesis: Inhibición de Sox1-3 como promotores de la diferenciación neuronal.
C	Sox4	Cardiogénesis. Linfopoyesis: Diferenciación de células T y expansión de células B. Formación del páncreas: Desarrollo normal de los islotes pancreáticos. Neurogénesis: Activación de genes pan-neuronales durante la maduración neuronal
C	Sox11	Desarrollo de múltiples órganos, incluyendo el pulmón, estomago, pancreas, bazo ojos y esqueleto. Neurogénesis: Activación de genes pan-neuronales durante la maduración neuronal Cardiogénesis.
C	Sox12	Desarrollo de diversos tejidos
D	Sox5	Diferenciación y proliferación de condrocitos, producción de matriz extracelular. Desarrollo de la cresta neural. Glicogénesis: Represión de la especificación y diferenciación terminal de los oligodendrocitos.
D	Sox6	Conducción cardíaca. Eritropoyesis. Diferenciación y proliferación de condrocitos, producción de matriz extracelular. Glicogénesis: Represión de la especificación y diferenciación terminal de los oligodendrocitos.
D	Sox13	Linfopoyesis: Diferenciación de linfocitos T (celulas $\gamma\delta$ y $\alpha\beta$).
E	Sox8	Gliogénesis: Especificación de oligodendrocitos y maduración terminal. Desarrollo testicular: Diferenciación de células de Sertoli. Osteogénesis: Inhibición de la diferenciación de osteoblastos. Cresta neural: Iniciación y mantenimiento.

E	Sox9	Determinación sexual: Desarrollo de células de Sertoli, testogénesis e inhibición de la diferenciación femenina. Condrogénesis: Especificación de condrocitos y diferenciación temprana. Cresta neural: Supervivencia y transición epitelio-mesenquimal. Gliogénesis: Diferenciación terminal de oligodendrocitos. Supervivencia de células de la notocorda. Cardiogénesis: Formación del endocardio. Formación del oído interno. Formación del folículo capilar. Páncreas: Mantenimiento de células progenitoras. Intestino: Especificación del epitelio del esfínter pilórico.
E	Sox10	Cresta Neural: Formación, mantenimiento de la pluripotencia, especificación y diferenciación de células ganglionales entéricas, células gliales periféricas, oligocitos y melanocitos.
F	Sox7	Cardiogénesis.
F	Sox17	Formación del endodermo. Angiogénesis.
F	Sox18	Cardiogénesis. Angiogénesis. Desarrollo del folículo capilar.
G	Sox15	Regeneración muscular esquelética. Miogénesis.
H	Sox30	Maduración de espermatozoides.

3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akiyama, H., Chaboissier, M.-C., Martin, J. F., Schedl, A., & de Crombrughe, B. (2002). The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is required for expression of Sox5 and Sox6. *Genes & Development*, 16(21), 2813–2828. <https://doi.org/10.1101/gad.1017802>.
2. Argentaro, A., Olsson, J., Critcher, R., McDowall, S. G., & Harley, V. R. (2000). Genomic characterisation and fine mapping of the human SOX13 gene. *Gene*, 250(1–2), 181–189. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(00\)00157-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(00)00157-8).
3. Berbejillo, J., Martínez-Bengochea, A., Bedo, G., Brunet, F., Volf, J.-N., & Vizziano-Cantonnet, D. (2012). Expression and phylogeny of candidate genes for sex differentiation in a primitive fish species, the Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. *Molecular Reproduction and Development*, 79(8), 504–516. <https://doi.org/10.1002/mrd.22053>.
4. Bowles, J., Schepers, G., & Koopman, P. (2000). Phylogeny of the SOX family of developmental transcription factors based on sequence and structural indicators. *Developmental Biology*, 227(2), 239–255. <https://doi.org/10.1006/dbio.2000.9883>.

5. Breitling, R., & Gerber, J.-K. (2000). Origin of the paired domain. *Development Genes and Evolution*, 210(12), 644–650. <https://doi.org/10.1007/s004270000106>.
6. Canning, C. A., & Lovell-Badge, R. (2002). Sry and sex determination: how lazy can it be? *Trends in Genetics*, 18(3), 111–113. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(01\)02615-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02615-4).
7. Chaboissier, M.-C., Kobayashi, A., Vidal, V. I. P., Lützkendorf, S., van de Kant, H. J. G., Wegner, M., ... Schedl, A. (2004). Functional analysis of Sox8 and Sox9 during sex determination in the mouse. *Development (Cambridge, England)*, 131(9), 1891–1901. <https://doi.org/10.1242/dev.01087>.
8. Chau, K. Y., Munshi, N., Keane-Myers, A., Cheung-Chau, K. W., Tai, A. K., Manfioletti, G., ... Ono, S. J. (2000). The architectural transcription factor high mobility group I(Y) participates in photoreceptor-specific gene expression. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(19), 7317–7324.
9. Cock, J. Mark, Kristin Tessmar-Raible, Catherine Boyen & Frédérique Viard (2010). Introduction to Marine Genomics. Springer (PDF) . DOI: 10.1007/978-90-481-8639-6.
10. Cremazy, F., Soullier, S., Berta, P., & Jay, P. (1998). Further complexity of the human SOX gene family revealed by the combined use of highly degenerate primers and nested PCR. *FEBS Letters*, 438(3), 311–314. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)01294-0](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01294-0).
11. Crow, K. D., & Wagner, G. P. (2006). What Is the Role of Genome Duplication in the Evolution of Complexity and Diversity? *Molecular Biology and Evolution*, 23(5), 887–892. <https://doi.org/10.1093/molbev/msj083>.
12. Degnan, B. M., Vervoort, M., Larroux, C., & Richards, G. S. (2009). Early evolution of metazoan transcription factors. *Current Opinion in Genetics & Development*, 19(6), 591–599. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2009.09.008>.
13. Force, A., Lynch, M., Pickett, F. B., Amores, A., Yan, Y. L., & Postlethwait, J. (1999). Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. *Genetics*, 151(4), 1531–1545.
14. Kaessmann, H. (2010). Origins, evolution, and phenotypic impact of new genes. *Genome Research*, 20(10), 1313–1326. <https://doi.org/10.1101/gr.101386.109>.
15. King, N., Westbrook, M. J., Young, S. L., Kuo, A., Abedin, M., Chapman, J., ... Rokhsar, D. (2008). The genome of the choanoflagellate *Monosiga brevicollis* and the origin of metazoans. *Nature*, 451(7180), 783–788. <https://doi.org/10.1038/nature06617>.
16. Koopman, P., Schepers, G., Brenner, S., & Venkatesh, B. (2004). Origin and diversity of the SOX transcription factor gene family: genome-wide analysis in *Fugu rubripes*. *Gene*, 328, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2003.12.008>.
17. Larroux, C., Fahey, B., Liubicich, D., Hinman, V. F., Gauthier, M., Gongora, M., ... Degnan, B. M. (2006). Developmental expression of transcription factor genes in a demosponge: insights into the origin of metazoan multicellularity. *Evolution & Development*, 8(2), 150–173. <https://doi.org/10.1111/j.1525-142X.2006.00086.x>.
18. Larroux, C., Luke, G. N., Koopman, P., Rokhsar, D. S., Shimeld, S. M., & Degnan, B. M. (2008). Genesis and expansion of metazoan transcription factor gene classes. *Molecular Biology and Evolution*, 25(5), 980–996. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn047>.
19. Lefebvre, V., Dumitriu, B., Penzo-Méndez, A., Han, Y., & Pallavi, B. (2007). Control of cell fate and differentiation by Sry-related high-mobility-group box (Sox) transcription factors. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(12), 2195–2214. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.05.019>.
20. McKimmie, C., Woerfel, G., & Russell, S. (2005). Conserved genomic organisation of Group B Sox genes in insects. *BMC Genetics*, 6, 26. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-6-26>.
21. Meyer, A., & Van de Peer, Y. (2005). From 2R to 3R: evidence for a fish-specific genome duplication (FSGD). *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 27(9), 937–945. <https://doi.org/10.1002/bies.20293>.
22. Peer, Y. V. de, Maere, S., & Meyer, A. (2009). The evolutionary significance of ancient genome duplications. *Nature Reviews Genetics*, 10(10), 725–732. <https://doi.org/10.1038/nrg2600>.
23. Popovic, J., & Stevanovic, M. (2009). Remarkable evolutionary conservation of SOX14 orthologues. *Journal of Genetics*, 88(1), 15–24. <https://doi.org/10.1007/s12041-009-0003-4>.
24. Qi-long, C., Zi-jun, Q., #, Jian#, C., Sheng#, H. U., Hui, Z., ... Wen-li, M. A. (2012). Isolation and sequencing of the HMG domains of fifteen Sox genes from *Hyla sanchiangensis*, and

- analysis of the evolutionary behaviors of Sox duplicated copies based on bioinformatics. *African Journal of Microbiology Research*. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.300>.
25. Schepers, G. E., Teasdale, R. D., & Koopman, P. (2002). Twenty pairs of sox: extent, homology, and nomenclature of the mouse and human sox transcription factor gene families. *Developmental Cell*, 3(2), 167–170. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(02\)00223-x](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(02)00223-x).
 26. Srivastava, M., Simakov, O., Chapman, J., Fahey, B., Gauthier, M. E. A., Mitros, T., ... Rokhsar, D. S. (2010). The Amphimedon queenslandica genome and the evolution of animal complexity. *Nature*, 466(7307), 720–726. <https://doi.org/10.1038/nature09201>.
 27. Voldoire, E. (2013). Duplication de génome et évolution de la famille Sox chez les poissons téléostéens (Phd thesis, Ecole normale supérieure de Lyon - ENS LYON). Retrieved from <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01124192/document>.
 28. Wegner, M. (1999). From head to toes: the multiple facets of Sox proteins. *Nucleic Acids Research*, 27(6), 1409–1420. <https://doi.org/10.1093/nar/27.6.1409>.
 29. Wright, E., Hargrave, M. R., Christiansen, J., Cooper, L., Kun, J., Evans, T., ... Koopman, P. (1995). The Sry-related gene Sox9 is expressed during chondrogenesis in mouse embryos. *Nature Genetics*, 9(1), 15–20. <https://doi.org/10.1038/ng0195-15>.

REBIOL
Av. Juan Pablo II s/n - Ciudad Universitaria
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de Trujillo
Trujillo, Perú
Email: gzavaleta@unitru.edu.pe