

REBIOL

REVISTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA



Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de Trujillo

Volumen 33, Número 2

Julio - Diciembre, 2013





La investigación científica en el PEI 2013-2017 de Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo

Entre el 2011 y el 2013, la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo fue administrada por el Consejo de Facultad, cuyo Decano, el Dr. Hermes Escalante, logró la estructuración y aprobación, mediante Resolución de Consejo de Facultad N° 040-2013-Fac.CC.BB. y Resolución de Consejo Universitario N° 0414-2013/UNT, del Plan Estratégico Institucional (PEI) 2013-2017.

Al revisar el mencionado documento en materia de investigación, además de lo que aparece en el FODA, se hace el siguiente diagnóstico: (i) las investigaciones de los estudiantes se desarrollan en tres cursos en los tres últimos ciclos, las cuales son presentados en un evento interno; sin embargo, falta presentarlos en eventos nacionales y ser publicados en revistas científicas; (ii) el desarrollo de las tesis es limitado, ya que aproximadamente el 50% opta por otras opciones para la titulación; solo en la Escuela de Microbiología y Parasitología la mayoría de graduados realiza tesis; (iii) cuenta con una Revista Científica REBIOL; sin embargo, existen inconvenientes para mantener su periodicidad por el escaso apoyo de las autoridades; (iv) las investigaciones no responden a necesidades sociales, no aportan a la mejora la competitividad del sector productivo ni se desarrollan en función de líneas; (v) la participación de estudiantes es escasa en eventos científicos como ponentes; (vi) el equipamiento para realizar actividades de investigación es deficiente y el Instituto de Investigaciones en Ciencias Biológicas no se encuentra implementado; (vii) se carece de un código de ética en investigación y no existe Comité de Ética, (viii) se desconoce si se registran investigaciones como propiedad intelectual y (ix) la tesis es un documento que sirve para cumplir con el requisito para la titulación.

Ante ello, en el Plan Estratégico de Desarrollo Institucional, se propone que el Comité de Investigación: (i) propiciará el desarrollo de investigaciones científicas, tecnológicas e innovativas en equipos multidisciplinarios e interinstitucionales en función a las líneas de investigación; (ii) promoverá la participación de los docentes y los estudiantes en concursos de proyectos de investigación a nivel regional, nacional o internacional; (iii) promoverá las publicaciones de las investigaciones realizadas con financiamiento interno o externo en revistas indizadas y en diversos eventos científicos; (iv) promoverá la creación de Institutos de Investigaciones para apoyar el desarrollo científico, tecnológico y de innovación en forma planificada a nivel institucional para desarrollar investigaciones relacionadas al desarrollo regional; (v) propiciará la participación de estudiantes en el desarrollo de proyectos de investigación formativas y de fin de carrera (tesis); (vi) propiciará la difusión de su producción intelectual en libros, revistas científicas y eventos científicos, tanto de los docentes y de los estudiantes, para lo cual se modernizar la revista institucional REBIOL y las jornadas de investigación; (vii) promoverá el registro de los trabajos de investigación de los docentes y de los estudiantes en la Universidad, el Sistema de Bibliotecas o en INDECOPI y (viii) implementará una política de incentivos para los docentes que realicen investigaciones interinstitucionales e interdisciplinarias.

Consideramos que si la nueva administración continua el camino trazado por su antecesor se logrará lo propuesto líneas arriba, sobre todo, si se tiene en cuenta que, además, han sido creadas con sendas Resoluciones y cuentan con su respectivo Comité, entidades que sin duda ayudarán al desarrollo de la investigación, como es el caso del Instituto de Investigación en Ciencias Biológicas, la Escuela de Segunda Especialidad, El Comité de Ética en Investigación, el Centro Académico Productivo, el Sistema de Información y Comunicaciones y, lógicamente, los procesos de acreditación, de los cuales el de la Escuela AP de Microbiología y Parasitología se encuentra en su fase final.

Foto de la portada: "Playero pectoral". *Calidris melanotos* (Vieillot, 1819). Pertenece a la Familia Scolopaciidae (Aves: Charadriiformes). Es una especie emigrante boreal, se reproduce en Norteamérica migra hacia el hemisferio sur, en verano se la encuentra en los humedales costeros y altoandinos, fue registrada en el Humedal de Cerro Negro, Virú, La Libertad. Estado de conservación Preocupación Menor (LC). Foto Luis Pollack Velásquez



Contenido/Contents

ARTÍCULOS ORIGINALES/ORIGINAL PAPERS

- **Efecto contracturante del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* en útero de *Rattus rattus*. / Contracturant effect of the hydroalcoholic extract of *Artemisia absinthium* in uterus of *Rattus rattus*. Orlando Pretel Sevillano, Carlos Nomberto Rodríguez, Wilson Canchachi Sánchez, Carlos León Torres, Cecilia Pretel Mostacero y Patricia Torres Plasencia.....Pág. 5**
- **Impacto ambiental generado por erosión costera en la zona litoral de Buenos Aires Norte, distrito de Víctor Larco Herrera, La Libertad, Perú. / Environmental impact generated by coastal erosion in the Northern Buenos Aires coastal of Víctor Larco Herrera district, La Libertad, Peru. Ana Guerrero-Padilla, Marlon Hoyos-Cerna, Emma Reyes-Vila, Linda Sánchez-Tuesta, Yesenia Santa Cruz-Vásquez y River Santillán-Aredo.....Pág. 11**
- **Caracterización y evaluación de la variabilidad de doce colectas de *Phaseolus vulgaris* tipo reventon procedente de la provincia de Santiago de Chuco (Perú)/Characterization and variability evaluation of twelve collections of *Phaseolus vulgaris* “reventon type” from Santiago de Chuco Province (Peru). Manuel F. Pesantes Vera y Juan Rodríguez Soto.Pág. 23**
- **Efecto citotóxico y genotóxico del aspartame^R a diferentes tiempos y concentraciones en el ciclo celular de *Allium cepa*. /Cytotoxic and genotoxic effects of aspartame^R at different times and concentrations in the cell cycle of *Allium cepa*. Fátima Zavala De La Cruz, Juan César Muro Morey, José A. Saldaña Jiménez, Gina Zavaleta Espejo y Fiorela Luján Gonzáles.....Pág. 34**
- **Efecto antagonico *in vitro* de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinerea* procedente de cultivos de *Vitis vinifera*. / In vitro agonist effect of *Clonostachys rosea* on the growth of *Botrytis cinerea* from cultures of *Vitis vinifera*. Manuel R. Rodríguez Lacherre y Julio R. Chico Ruíz. Pág. 42**
- **Efecto del Temephos sobre la respuesta inmune innata y adaptativa de *Mus musculus* BALB/c inoculado con *Candida albicans* /Effect of Temephos on the innate and adaptive immune response of *Mus musculus* BALB/c inoculated with *Candida albicans*. Manuela Luján Velásquez, Raúl Anhuamán Azabache, Jaime Agreda Callirgos, Jaime Agreda Gaitán, Eduardo José Muñoz Ganoza y Gerardo Alayo Espinoza.Pág. 50**
- **Susceptibilidad al lambdacialotrina y patrones de esterases en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura) / Susceptibility to lambda-cyhalothrin and esterase patterns in natural populations of *Aedes aegypti* in the districts of Laredo (La Libertad) and Sullana (Piura). Judith Roldán y Juan Guzmán.Pág. 58**
- **Antígenos de excreción-secreción de tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* detectados por Western Blot usando sueros de pacientes con parasitosis confirmada. / Excretory-secretory antigens of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* detected by Western blotting using sera from patients with confirmed parasitoses. Hermes Escalante, César A. Jara y Renzo Mayhuay.Pág. 67**
- **Prevalencia e intensidad del parasitismo gastrointestinal por nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú) / Prevalence and intensity of gastrointestinal nematode parasitism in cattle, *Bos taurus*, from Pacanga District (La Libertad, Peru). Juan C. Colina, Gicelly A. Mendoza, Cesar A. Jara.....Pág. 76**

- **Cultivo experimental de *Arthrospira jenneri* con medio nutritivo de residuos de pescado / Experimental Culture of *Arthrospira jenneri* with waste fish nutrient medium.** Alina Zafra Trelles, Juan Merino Moya, Federico Gonzales Veintimilla, Erika Alayo Rodríguez, Johanna Briceño Valera, Edith Rosas Quispe, Jhones Castro Alfaro y KrissVela Alva..Pág. 84
- **Rol de los oconales en el equilibrio biológico de los ecosistemas altoandinos del norte del Perú, 2013. / Role of oconales in the biological balance of the high Andean ecosystems of northern Peru, 2013.** José Mostacero León, Rosa Ramirez Vargas, FreddyMejia Coico, William Zelada Estraver.....Pág. 90
- **Dieta de la lechuza de los arenales, *Athene cunicularia*, en Trujillo y en el Cerro Campana, La Libertad (Perú): 2013. / Diet of Owl of the sandbanks, *Athene cunicularia*, in Trujillo and the Cerro Campana, La Libertad (Peru): 2013.** César A. Medina, William Zelada, Luis Pollack, Emililana Huamán y Alfredo Gómez.Pág. 99

POLITICA EDITORIAL

- **Guía para los autores.**Pág. 107



Efecto contracturante del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* en útero de *Rattus rattus*

Contracturant effect of the hydroalcoholic extract of *Artemisia absinthium* in uterus of *Rattus rattus*

Orlando Pretel Sevillano, Carlos Nomberto Rodríguez, Wilson Canchachi Sánchez, Carlos León Torres, Cecilia Pretel Mostacero y Patricia Torres Plasencia

Laboratorio de Fisiología Animal. Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se evaluó el efecto contracturante del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium*, planta de uso frecuente por algunas mujeres para corregir alteraciones de la menstruación o como abortivo, en útero de *Rattus rattus*. Se trabajó con 20 ratas hembras, divididas en dos grupos: grupo control, tratadas con solución salina fisiológica (SSF) y experimental, tratadas con el extracto hidroalcohólico de *A. absinthium*. Se les anestesió con pentobarbital sódico y a cada una se les extrajo un cuerno uterino mediante una laparotomía abdominal y se colocó en un baño para órganos aislados. Se evaluó el efecto contracturante de la acetilcolina y el efecto relajante de la adrenalina a las ratas del grupo control y el efecto del extracto hidroalcohólico de *A. absinthium* a las ratas del grupo experimental, demostrando que *A. absinthium* presentó un efecto contracturante mayor que la acetilcolina y se mantuvo aún después del efecto relajante de la adrenalina. Finalmente, a las ratas se les suturó y protegió la herida con solución de colodio y los medicamentos necesarios hasta su recuperación.

Palabras clave: Contracturante, útero, *Artemisia absinthium*, *Rattus rattus*.

ABSTRACT

Contracturant effect of the hydroalcoholic extract of *Artemisia absinthium* plant often used by some women were evaluated to correct abnormalities of menstruation or as an abortifacient in the uterus of *Rattus rattus*. We worked with 20 female rats were divided into two groups: control group, treated with experimental physiological saline solution (PSS), and treated with hydroalcoholic extract of *A. absinthium*. They were anesthetized with sodium pentobarbital, were each extracted one uterine horn by abdominal laparotomy, and placed in a bath for isolated organs. Contracturant the effect of acetylcholine and the relaxing effect of adrenaline to the control rats and the effect of hydroalcoholic extract of *A. absinthium* rats in the experimental group was evaluated, demonstrating that *A. absinthium* showed a greater effect than contracturant acetylcholine and remained even after the relaxing effect of adrenaline. Finally, rats were sutured and protected the wound with collodion solution and drugs needed until recovery.

Keywords: Contracturant, uterus, *Artemisia absinthium*, *Rattus rattus*.

INTRODUCCIÓN

Existe gran cantidad de productos terapéuticos hechos a base de plantas medicinales y su uso por la población ha ido en aumento, bajo la creencia de que las plantas medicinales son inocuas por ser naturales. Sin embargo, esta falsa creencia hace que, inmersos en un tratamiento farmacológico se presenten fallas terapéuticas, ya que al igual que los medicamentos, las plantas medicinales pueden producir efectos secundarios, cuadros de toxicidad y tienen contraindicaciones que son muchas veces ignoradas².

Entre los casos de contraindicación, se coloca como principal factor a la exposición materna durante el embarazo, ya que puede tener diversos efectos en el desarrollo del embrión así como de la madre dependiendo del período de la exposición; ya que el período de mayor sensibilidad a compuestos tóxicos es durante los primeros días de gestación³, por otro lado en muchos casos se puede llegar a la estimulación del útero para iniciar actividad abortiva. Sin embargo, en algunos casos dicha actividad solo puede propiciar molestia temporal y posteriormente desaparecer⁴.

Por tal razón, un gran número de experimentos de laboratorio y estudios clínicos se han realizado en las últimas dos décadas para evaluar la efectividad de un gran número de plantas, las cuales pueden actuar evitando la producción de espermatozoides, interfiriendo la ovulación, inhibiendo la fertilización, o evitando la implantación de los blastocitos, indicando que varias plantas tienen propiedades anticonceptivas. Por esta razón María Larre su trabajo es la búsqueda bibliográfica de plantas utilizadas por las distintas poblaciones indígenas como anticonceptivos y abortivos, determinando que miembros de las familias Asteraceae, Compositae, Euphorbiaceae, Labiatae y Leguminosae son las más sobresalientes en este aspecto⁵.

En este contexto, se evaluó: (i) el efecto embriotóxico y teratogénico de la ruda, *Ruta chalepensis*, en *Mus musculus* observándose que no afectó negativamente el peso de la madre pero sí del útero durante el tratamiento y que en el grupo tratado, la frecuencia de reabsorciones fetales fue mayor y el peso fetal fue significativamente menor en comparación con el control⁴, (ii) el efecto toxicológico preliminar de *Ruta graveolens*, *Origanum vulgare* y *Persea americana* sobre embriones preimplantacionales de ratón, evidenciándose una disminución significativa de embriones normales con ruda 24, 49%, palta 12,31 % y orégano 10%⁶, (iii) el efecto contracturante de extractos de *Ruta graveolens* en útero de rata y perro, ex vivo⁷ y (iv) el efecto de *Apium graveolens* “Apio” sobre la presión arterial y la actividad motora del musculo liso uterino en ratas, encontrándose un significativo efecto hipotensor y oxitócico³.

En otras investigaciones se comparan una sustancia natural con una química, donde el efecto de la decocción de *Montanoa tomentosa* “Zoapatle” y de su constituyente activo, el Acido grandiflorenico, sobre la contractilidad uterina, demostrándose que sus efectos sobre el útero son muy semejantes: de naturaleza hormona-dependiente y caracterizados por inhibir la actividad espontánea⁸ y que “Zoapatle” tiene un efecto anovulatorio y confirma el efecto luteolítico, así como la toxicidad del extracto al ser administrado en diferentes etapas de la gestación⁹.

Sin embargo, la investigación no siempre conlleva a resultados negativos como en los casos anteriores, ya que se demostró que el efecto del extracto acuoso de *Origanum vulgare* (Lamiaceae) en embriones preimplantacionales de ratón, no tiene un efecto tóxico, y sólo produce un ligero retraso en el desarrollo del embrión¹⁰, al igual que maca no tiene efectos tóxicos en el desarrollo normal de los embriones pre-implantacionales del mismo modelo animal¹¹. O los posibles efectos teratogénicos y abortivos de la sheilina en ratas Sprague dawley, donde no se encontraron malformaciones esqueléticas, y no hubo afectaciones en los índices de implantación y de reabsorción, ni en el crecimiento intrauterino de las crías¹². Entonces, luego de investigar sus posibles efectos secundarios y en caso de no presentarlos este tipo de estudios se pueden extrapolar en humanos para utilizarlos en algún método abortivo terapéutico o como conocimiento para evitar su uso en caso de embarazo, ya que debido a la ausencia de datos que avalen su seguridad, no puede ser recomendada^{5, 13,14}.

Denominada madre de todas las yerbas medicinales por sus diversas aplicaciones curativas como tónico y estimulante enérgico, activante digestivo en la cloroanemia, febrífugo, dermatomicosis, vermífugo y emenagogo, *Artemisia absinthium* (Asterácea), es conocida desde las culturas egipcia y griega y en la actualidad su uso es muy amplio en la medicina tradicional para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, por tal motivo ha sido ampliamente estudiada desde el punto de vista científico^{13, 15, 16, 17,18}. Sin embargo, en dosis altas produce convulsiones y puede inducir el aborto,

debido a la tuyaona, presente entre un 3 a 12%, la cual ejerce una acción emenagogo o reguladora de la menstruación y la santonina que extremadamente tóxico⁸. Además se ha comprobado que pasa a la leche materna^{14, 15,19}.

El territorio Peruano es reconocido como uno de los países con mayor diversidad en flora y fauna, con un número alto de especies y otras que faltan por descubrir y las ya conocidas no han sido completamente estudiadas a fin de determinar sus propiedades beneficiosas para la medicina tradicional que cada vez toma mayor importancia. Tal es el caso de *A. absinthium*, especie considerada reguladora de la menstruación y abortiva, pero que supuestamente al ser consumida en altas dosis con frecuencia puede conducir a problemas de salud irreversibles. Por esta razón se planteó una investigación dirigida a evaluar el efecto contracturante del útero de *Rattus rattus albinus* var. Holzman del extracto hidroalcohólico de *A. absinthium*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

- *A. absinthium*, obtenido de la Provincia de Contumazá (jardines del cementerio), Dpto. Cajamarca, e identificado en el Herbarium Truxillense de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.
- *Rattus rattus* Holzman var. *albinus*, obtenidas del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia – Lima, con 8 semanas de edad promedio.

Obtención de extracto hidroalcohólico de *A. absinthium*

Un kg de hojas de *A. absinthium*, fueron lavadas con agua corriente, luego con agua destilada para eliminar cualquier tipo de suciedad impregnada y con alcohol al 70%. Después de su limpieza, las hojas fueron secadas en estufa por un tiempo de 24 horas, pasado esto se las molió finamente, y se maceró en alcohol al 70% en un frasco ámbar, por un tiempo de 6 días, con agitación de 5 minutos diarios. Posteriormente el macerado se filtró (papel filtro Watman N° 1), con una bomba de vacío y secado en un rotavapor. Finalmente el extracto concentrado se guardó en refrigeración hasta su uso en el presente proyecto de investigación.

Determinación de efecto contracturante de *A. absinthium* en útero en *R. rattus*

A cada una de las ratas de todos los grupos se les anestesió con pentobarbital sódico (Halathal) con una dosis de 1 ml por kg de peso corporal y en condiciones de asepsia se les realizó una laparotomía abdominal y se les extrajo un cuerno uterino libre del mesenterio y se lo mantuvo en solución Mc Closky a una temperatura de 37°C, con oxigenación continua en un vaso de precipitación, el cuerno uterino se colocó en un sistema para órgano aislado, que contenía la solución de Mc Kloski con la misma temperatura anterior y oxigenación correspondiente.

Luego se procedió a registrar las contracciones por minuto de dicho órgano en un quimógrafo a una velocidad de 7,5mm/min, la que correspondió al estado basal e inmediatamente se realizó los siguientes pasos:

1. Se agregó un 1µg de acetilcolina (Ach) por ml del sistema de órgano aislado.
2. Se lavó el músculo tres veces con solución Mc Closky y después de recuperar la contracción se agregó 1µg de adrenalina (Ad) por ml del sistema.
3. Al igual que el paso número 2 se lavó el músculo pero esta vez se agregó 0,04 unidades internacionales (UI) de Oxitocina (OT)(dosis total).
4. El mismo proceso que los pasos anteriores, ahora se agregó 1µg de atropina (At), 1µg de acetilcolina por ml del sistema y 0,04 UI de Oxitocina.

En todos los pasos se registraron las contracciones uterinas por minuto así como su amplitud de cada contracción para comparar entre los grupos experimentales ²⁰.

Análisis estadístico

Para la determinar el efecto contracturante de *A. absinthium* sobre útero de *R. rattus* los datos paramétricos fueron analizados por la prueba t de Student con un nivel de probabilidad del 95%.

RESULTADOS

Se encontró que la contractura uterina producida por *A. absinthium*, en comparación con adrenalina y

Acetilcolina			<i>A. absinthium</i>			Adrenalina		
Basal	2ug/mL	Frec	Basal	40mg/mL	Frec	Basal	2ug/mL	Frec
20.0	56.0	3.0	25.0	97.5	2.0	27.0	0.0	0.0
18.0	45.0	3.0	38.0	62.0	2.0	9.0	0.0	0.0
29.0	49.5	2.0	32.0	51.0	2.0	12.0	0.0	0.0
40.0	75.5	2.0	15.0	81.5	2.0	16.0	0.0	0.0
24.0	83.0	1.0	25.0	74.5	2.0	5.0	0.0	0.0

acetilcolina, a una concentración de 40mg/ mL, ejerce mayor efecto contracturante (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto contracturante (en mm) de *Artemisia absinthium* (40mg/mL) sobre útero de *Rattus rattus albinus* var. Hotzman en comparación con acetilcolina y adrenalina (2ug/mL).

DISCUSIÓN

Actualmente son más de 240 organizaciones no gubernamentales en varios países que participan en el programa de fortalecimiento de la medicina tradicional (incluyendo la organización mundial para la salud) ²¹. En la medicina natural, las plantas de *A. absinthium* son usadas para controlar el dolor en niños y para inducir abortos, sin embargo otras especies del mismo género tales como *A. annua* presentan propiedades antimaláricas con una efectividad del 90 al 100%; esto debido a que la especie posee ciertos componentes tales como monoterpenos, sesquiterpenos, terpenoides y esteroides, flavonoides, cumarinas, componentes aromáticos y alifáticos, varios de los cuales tienen alguna propiedad antimalárica, pero el de mayor actividad es indudablemente el sesquiterpeno lactona artemisina^{22,23}. El mecanismo por el cual esta especie ejerce actividad antimalárica se debe al aumento de la respuesta inmune en humanos, con aumento de la actividad fagocítica de macrófagos en ratones in vivo y destrucción de los eritrocitos infectados in vitro²¹.

Además, *A. annua*, que conforma el mismo género que *A. absinthium*, presenta una alta concentración de flavonoides, responsables de su alta actividad antioxidante, siendo los extractos crudos los que tienen una fuente grande de estos antioxidantes. Actualmente se reporta que *Artemisia* tiene actividad antiprotozoaria y antibacteriana tanto en extractos como en aceite esencial, que actúan contra *Babesia*, *Eimeria* o coccidiosis y en el tremátodo sanguíneo *Schistosoma* spp. Se ha reportado que *Artemisia* no tiene efectos tóxicos usando dosis de 200 – 300 mg/Kg en ratones y 30 mg/Kg contra plasmodium en humanos²⁴.

Los diferentes componentes que se han obtenido de *A. absinthium* tales como hidroxipelenólido, artemisina y casticina, ácido hidroxibenzoico, ácido hidroxicinámico, flavonoides y otros como el ácido salicílico, ácido gálico y ácido ferúlico han demostrado poseer propiedades antiparasitarias, antifúngicas y antioxidantes, generándose además, aparentemente, un sinergismo entre los componentes para potenciar los efectos, lo cual aún está en estudio ^{25, 26,27}.

Diversos estudios desarrollados en plantas medicinales, mostraron que sus extractos poseen actividad abortiva, mediante diversos mecanismos como: aumento de la contractura uterina; congestión y hemorragia con el posterior desprendimiento del huevo y las membranas; otras a través de la sangre y provocando la muerte del feto y, otras que inyectadas directamente al líquido amniótico, evitan el desarrollo del feto y su favorecen su eliminación. *A. Absinthium* presentó una mayor capacidad contracturante del útero que la acetilcolina, e inclusive, después del efecto relajante de la adrenalina; lo que nos explicaría que actúa en receptores diferentes que se oponen a la adrenalina. Esto nos confirma que podría ser catalogada como una planta con propiedades abortivas y que es comúnmente utilizada en los medios rurales y urbanos por ser de bajo costo²⁸.

Actualmente, está resurgiendo el uso tradicional de las plantas con propiedades medicinales como *Artemisia* porque las drogas sintéticas como la artemisina, además de ser costosas están creando resistencia por parte de las personas y que tan solo ha sido utilizada cerca de 32 años, comparada con

los dos mil años de uso de esta planta por la China milenaria y que no genera resistencia por el organismo²⁹. Es necesario además, tener en cuenta que estas especies vegetales, poseen compuestos xenobióticos que pueden resultar potencialmente tóxicos causando trastornos severos; por lo que es necesario determinar una dosis adecuada que no ocasione toxicidad en el organismo³⁰.

CONCLUSIÓN

- *Artemisia absinthium* presentó mayor contractura del útero que la acetilcolina.
- *Artemisia absinthium* mantiene la contractura del útero después del efecto relajante de la adrenalina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarado B. Plantas medicinales de la Cordillera Negra. Rev Acad Perú Salud 2007; 14 (2):53-60.
2. Hall V, Rocha M, Rodríguez E. Plantas Medicinales. Centro de Información de Medicamentos 2002; 2:3-5.
3. Carranza J, Lamas C, Medina C, Mejía J, Molina C, Prochazka K, et al. Evaluación del efecto del *Apium graveolens* “Apio” sobre la presión arterial sanguínea y la actividad motora del musculo liso uterino en ratas. En V Congreso Mundial de Medicina Tradicional. Perú: Universidad San Martin de Porres; 2005.
4. Gonzales J, Benavides V, Rojas R, Pino J. Efecto embriotóxico y teratogénico de *Ruta chalepensis* L. “ruda”, en ratón (*Mus musculus*). Rev peru Biol 2007; 13(3): 223-225.
5. Larre, M. Plantas utilizadas en la medicina tradicional en México como abortivas y anticonceptivas. División de ciencias biológicas y de la salud. 2003: 17.
6. Benavides V, Trujillo G, D'Arrigo G, Paredes U y J. Pino. Evaluación toxicológica preliminar de *Ruta graveolens*, *Origanum vulgare* y *Persea americana* sobre embriones preimplantacionales de ratón. Rev peru Biol 2000; 7 (1): 34-38.
7. Muñoz A, Covarrubias S, Delena J, Pacheco U, Sánchez C, J. Alvarado et al. Efecto de extractos de *Ruta graveolens* (ruda) sobre la contractilidad de útero de rata y perro, ex vivo. En 5ta Jornada de Investigación. México: Universidad Autónoma de Zacateca; 2001.
8. Bejar E. El efecto de la decocción de *Montanoa tomentosa* ssp *tomentosa* (Zoapatle) y de su constituyente activo el Acido grandiflorencio sobre la contractilidad uterina. México: Universidad Autónoma Metropolitana. 1985: 24-28.
9. Moy N. Efectos farmacológicos y toxicológicos de extractos hidroalcohólicos de Zoapatle (*Montanoa tomentosa*) en rata biodisponibilidad después de administración intravaginal. En Universidad de Colima. México. 1998: 3-4.
10. Benavides V, D'Arrigo G, Pino J. Efecto del extracto acuoso de *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) en embriones preimplantacionales de ratón. Rev peru Biol 2010; 17(3): 17-22.
11. D'Arrigo G, Benavides V, Pino J. Evaluación preliminar del efecto de *Lepidium meyenii* Walp en el desarrollo embrionario de ratón. Rev peru Biol 2004; 11 (1): 41-45
12. Tomé O. Estudio en ratas sprague dawley de los posibles efectos teratogénico y abortivo de la sheilina. Revista ciencias [Internet] .Disponible en:<http://www.revistaciencias.com/publicaciones/>.Cuba
13. Brinker F, Herb ND. Contraindications & drug interactions .Third Edition. Oregon: Eclectic Medical Publications; 2001.
14. Montesdeoca V. Elaboración y control de calidad de comprimidos Fitofarmacéuticos de Ajenjo (*Artemisia absinthium* L.), Romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y Manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) para combatir la menstruación dolorosa. [Tesis doctoral]. Chimborazo: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
15. Martínez M. Usos medicinales del ajenjo o *Artemisia absinthium*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos 2009. Disponible:URL: <http://www.tlahui.com/medic/medic29/ajenjo.htm>
16. www.profitocoop.com.ar/articulos/Vademecum%20colombiano%20de%20plantas%20medicinales.pdf
17. González A. Ajenjo: *Artemisia absinthium*. 2004. www.herbsafety.utep.edu/herbs-pdfs/facts/Ajenjo-hoja%20datos%20-Jul%2004.pdf.
18. Osuna L, Tapia M, Aguilar A. Plantas medicinales de la medicina tradicional Mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. [Tesis doctoral]. Barcelona. Universidad de Barcelona. 2005.
19. Mendocilla M, Villar M. Monografías de plantas medicinales. Manual de fitoterapia.1999. Disponible en:<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap7.pdf>.
20. Milla J, Olaya G, Reyes O, Paz C, Arteaga L, Zapata M et al. Nuevo Manual de Practicas de Fisiología Humana. Facultad de Ciencias Medicas de Universidad Nacional de Trujillo. 2003: 193.Trujillo.Perú.

21. Willcox M. *Artemisia* Species: From Traditional Medicines to Modern Antimalarials and Back Again. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 2009; 15 (2): 101-109.
22. Ann M. *The journal of alternative and complementary medicine*. 2008; 15(2): 101–109.
23. Sharopov T, Sulaimonova V, Setzer W. Composition of the Essential oil of *Artemisia absinthium* from Tajikistan. *Rec Nat Prod* 2012; 6 (2): 127-134.
24. Ferreira J. & Janick J. Annual Wormwood (*Artemisia annua* L.). *New Crop Factsheet*. 2009. Disponible en: www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/artemisia.pdf.
25. Gonzalez-Colomaa A, Bailena M, Diaz CE., Fragab B M, Martínez-Díaz R, Zuñigad GE, et al. Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. *Industrial Crops & Products* 2012; 37: 401-407
26. Lee Y-J, Thiruvengadam M, Chung I M, Nagella P. Polyphenol composition and antioxidant activity from the vegetable plant *Artemisia absinthium* L. *AJCS*. 2013; 7(12):1921-1926.
27. Bailena M, Julio LF, Diaz CE, Sanz J, Martínez-Díaz A, Raimundo Cabrerae. Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. *Industrial Crops and Products*. 2013; 49: 102– 107.
28. Artuz M A y Restrepo H. El aborto inducido. Una visión histórica de su manejo. *Médica* 2002; 33 (2).
29. Ferreira. JFS. *Artemisia annua* L: the hope against malaria and cancer. [Medicinal and Aromatic Plants: Production, Business & Applications. Proceedings of the Jan 15-17/2004 meeting. Mountain State University, Beckley, WV]
30. Da Silva KC, Barbosa S, Moreira C, Nogueira L, Moreira T. Medicinal plants with teratogenic potential: current considerations. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 48(3).



Impacto ambiental generado por erosión costera en la zona litoral de Buenos Aires Norte, distrito de Víctor Larco Herrera, La Libertad, Perú.

Environmental impact generated by coastal erosion in the Northern Buenos Aires coastal of Víctor Larco Herrera district, La Libertad, Peru.

Ana Guerrero-Padilla¹; Marlon Hoyos-Cerna², Emma Reyes-Vila²; Linda Sánchez-Tuesta²; Yesenia Santa Cruz-Vásquez² y River Santillán-Aredo²

¹Departamento de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional de Trujillo - Perú. ²Bachiller en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional de Trujillo.

RESUMEN

La erosión costera es un fenómeno común en las playas de la provincia de Trujillo que tiene como efecto principal la pérdida de la línea costera, así como diferentes impactos ambientales naturales y socioeconómicos. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el impacto ambiental generado por la erosión costera en la zona litoral de Buenos Aires Norte, distrito de Víctor Larco Herrera, La Libertad-Perú. El área de estudio fue georeferenciada y delimitada en dos zonas de evaluación: zona A y zona B, determinando el grado de impactos mediante la matriz de interacción (causa-efecto) de Leopold modificada; en cada estación de muestreo establecida. Se determinó en el ámbito natura-físico, un impacto negativo moderado de -70 en la zona A y un impacto negativo débil de -12 en la zona B debido a la pérdida de arena, al arrojamiento de desmonte, al deterioro de las vías de acceso, pistas y veredas, e infraestructura de viviendas; en el ámbito socioeconómico un impacto negativo moderado de -55 en la zona A y un impacto negativo débil de -6 en la zona B debido a la reducción de la población económicamente activa, la migración de pobladores y la pérdida de turismo.

Palabras clave: Impacto ambiental, erosión costera, zona litoral.

ABSTRACT

The coastal erosion is a common phenomenon in the beaches of Trujillo province that takes as a principal effect the loss of the coastal line, as well as different environmental and socioeconomic impacts. The present investigation had the main objective to determine the environmental impact generated by the coastal erosion in the North Buenos Aires Beach (Victor Larco Herrera, Trujillo, Peru). The study area was georeferenced and delimited in two zones of evaluation: zone A and zone B, determining the degree of impacts by interaction matrix of Leopold (cause- effect) modified in every station of sampling established. In the field natural-physical, it was determined moderate negative impact in the zone -70 A and -12 weak negative impact in zone B due to the loss of sand, throw clearing, the deterioration of the access roads, tracks and paths, and infrastructure of dwelling, in the socioeconomic area moderate negative impact of -55 in zone A and a negative impact -6 weak in zone B due to the reduction of the economically active population, the settlers migration and loss of tourism.

Keywords: Environmental impact, coastal erosion, coastal zone.

INTRODUCCIÓN

Las actividades relacionadas con el desarrollo industrial pueden ser altamente importantes para la vulnerabilidad de las playas, como sucede con la extracción de líquidos del subsuelo, que es generadora de subsidencia y por lo mismo sería también responsable del retroceso de la línea costera; por esta razón, la velocidad de erosión en las playas puede variar considerablemente en el espacio y en el tiempo¹.

La erosión de la zona costera, entendida como el desgaste o destrucción producida en la superficie de un cuerpo por fricción continua, ocasiona un impacto en las aéreas costeras urbanas y semiurbanas las cuales constituyen ambientes frágiles y dinámicos debido a la interacción entre componentes naturales y socioeconómicos; este fenómeno provoca la pérdida de playas, el avance de la línea costera, la pérdida de ecosistemas, la destrucción de playas y cambios en la batimetría y morfología costera entre otros problemas^{1,2,3}.

En el área mediterránea la erosión se ha disparado a raíz de la drástica reducción de los aportes sólidos fluviales debido a la regulación y reforestación de las cuencas fluviales y la construcción de embalses². Algunas playas contienen un volumen de arena suficiente que les permite adoptar distintos estados morfodinámicos a lo largo del año, por el contrario, las playas que no disponen de arena suficiente carecen de este sistema de autodefensa y sufren procesos erosivos más intensos; siendo las playas que corresponden al Golfo de Cádiz: La Bahía de Cádiz, La Ría de Huelva⁴.

En América central se ha evidenciado los efectos de la erosión costera, como son el caso de la zona litoral costera de Cancún y La Riviera Maya en México⁵, la playa El Espino en El Salvador, en el que la actividad antropogénica se establece como la principal causa de la erosión costera, la cual supondría entre sus peores efectos la fractura de la isla Barra donde se encuentra la playa El Salvador⁶. En Sudamérica podemos mencionar a La Región Caribe de Colombia (Caribe colombiano), la cual es el área continental y marítima más septentrional de este país y que se ha visto afectado por la erosión en su zona costera, que ocasiona pérdidas económicas, reubicación de viviendas, y la ejecución de distintas técnicas estructurales que han tenido efectos positivos en el ámbito local y a corto plazo⁷. Asimismo en estudios realizados en el balneario Parque Mar Chiquita³, las zonas costeras de las ciudades de Necochea y Quequén⁸ y la localidad de mar Tuyu en la provincia de Buenos Aires-Argentina, en los cuales uno de los mayores efectos visualizados ha sido el retroceso de la línea de costera, de uno a dos metros por año, proceso que ha ocasionado importantes pérdidas económicas y ambientales⁹.

Actualmente la intensidad del fenómeno de erosión costera se ha incrementado en nuestro país debido a que la actividad antropogénica también ha contribuido a modificar la zona litoral, desde el momento que se construyen vías de comunicación, infraestructura energética y petrolera, hoteles, casas, restaurantes, etc. en su zona continental (supralitoral, hasta la construcción de muelles, espigones, escolleras, rompeolas en la zona marina (infralitoral) alterando el transporte litoral y la morfología de la playa. En la costa peruana estos procesos se verifican principalmente en zonas expuestas del litoral, acantilados y por áreas donde el hombre ha modificado las características fisiográficas de la línea de costa¹⁰.

El Instituto del Mar del Perú (IMARPE, 2010), en convenio con la Comisión Permanente del Pacífico del Sur (CPPS), presentó un informe nacional sobre el estado del ambiente marino del Perú, en el cual se muestran las principales zonas del litoral marino que actualmente presentan estragos e impactos ambientales producto de la erosión costera¹⁰. Para el caso de Lambayeque, por ejemplo concluye que se debe a actividades antropogénicas, a problemas de inundaciones producto del fenómeno del niño¹¹.

El problema de la erosión costera en Trujillo, cuya consecuencia más visible es la desaparición de las playas, por la construcción poco consciente de puertos y espigones o rompeolas, no solamente han terminado por agotar la posibilidad de uso recreativo y turístico, sino que han vuelto aún más vulnerables a la zona costera frente a la rompiente del mar (maretazo), que obligan al cierre de los puertos y la paralización de las actividades portuarias y de pesca, que además genera alarma y desesperación en la población asentada en su entorno cercano¹²; como es el caso de la zona litoral de Buenos Aires Norte, el cual se ve afectado enormemente por este fenómeno teniendo como principal causa la construcción del espigón retenedor de arena construido en el puerto de Salaverry, para evitar el arenamiento del canal de navegación del puerto y así brindar condiciones de operatividad; sin embargo, ha provocado un proceso de inestabilidad de las playas al norte de dicho puerto (Las Delicias, Buenos Aires y Huanchaco), con una mayor tasa de erosión¹⁰.

El Decreto Supremo N° 022-2011-PCM, que declara el Estado de Emergencia de los balnearios de Las Delicias, Buenos Aires y Huanchaco (distritos de Moche, Víctor Larco Herrera y Huanchaco,

respectivamente, de la Provincia de Trujillo, departamento de La Libertad) mediante el informe técnico N° 007-2011/10.0 (Instituto Nacional de Estadística y Censo-INDEC) concluye que el proceso de inestabilidad de las playas del norte de Salaverry, se debe a un déficit importante de sedimentos que normalmente circulaban por la zona, los cuales han sido interceptados por el espigón principal del puerto de Salaverry, como consecuencia de sus continuas prolongaciones, debido a que antes de su construcción este se encontraba en equilibrio, sin sedimentación ni erosión a lo largo de la playa¹³.

El estudio de impacto ambiental tiene gran importancia debido a que identifica y valora los impactos ambientales del proyecto o actividad prevista utilizando matrices causa-efecto que enfrentan o cruzan los factores ambientales más representativos con las actuaciones más relevantes que contempla el proyecto, como es el caso de la matriz de Leopold y el método de Battelle-Columbus¹⁴.

El presente trabajo tuvo por objetivo determinar los impactos ambientales generados por la erosión costera en los ámbitos natural-físicos y socio- económico, en la zona litoral de Buenos Aires Norte, distrito de Víctor Larco Herrera Provincia de Trujillo, así mismo en busca de un equilibrio entre el crecimiento poblacional y el ambiente costero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio:

El área de estudio se encuentra localizado en la zona litoral de Buenos Aires Norte, la cual se ubica a 3 m.s.n.m. entre los 79° 03' 22.27" LO y los 08° 8' 36.46" LS en el departamento de La Libertad, provincia de Trujillo, distrito Víctor Larco Herrera, cuyas características de temperatura oscilan entre 15°C – 30°C y una humedad relativa fluctuante de 80 %.

Etapas gabinete:

En esta etapa se recopiló y analizó toda la información existente del área de estudio, mapas obtenidos del Google Earth trabajados en Auto Cad 2012/2d, documentos proporcionados por la municipalidad distrital y otras instituciones involucradas como la Asociación para el Desarrollo de Buenos Aires (ADEBAS), a fin de disponer de un panorama total del ambiente donde se desarrollará el proyecto. Luego se analizó e interpretó los datos obtenidos por la matriz de interacción (causa-efecto) Leopold modificada en cada estación de evaluación de la zona A y B, obteniéndose grados de impacto ambiental natural-físico y socioeconómico los cuales fueron presentados en una gráfica lineal para observar la variación de fluctuaciones en cada zona evaluada.

Etapas de campo:

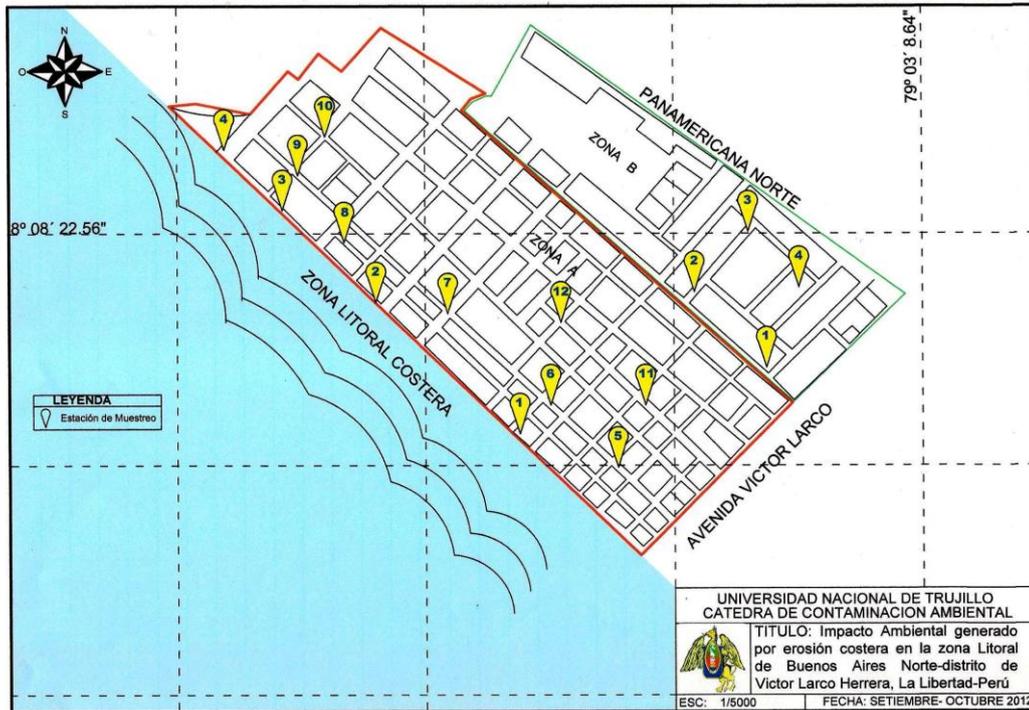
Se realizó el reconocimiento y delimitación del área norte de la zona litoral de Buenos Aires, sectorizándola en dos zonas: zona A y zona B (Fig. 1). Se realizó la recopilación de datos, la toma de fotografías del área de estudio resaltando los impactos ambientales producidos por la erosión costera. Se obtuvo información a partir de algunos habitantes de la zona así como de sus autoridades.

Realizada la identificación y reconocimiento del área de estudio, se procedió a la evaluación de los impactos ambientales natural-físico y socioeconómicos mediante la aplicación de matrices de interacción (causa-efecto) Leopold modificada¹⁴, estableciéndose 16 estaciones de evaluación; 12 en zona A y 4 en la zona B (Fig. 1), donde se determinaron los valores de impactos obtenidos en magnitudes débiles (1-54), moderadas (55-108) y fuertes (109-162), con grados de impacto positivos (+) y negativos (-); valorados inicialmente en una escala del 1 al 3 según la interacción entre la actividad natural o antropogénica y el factor ambiental.

RESULTADOS

En el ámbito socioeconómico se determinó que en la zona A, el mayor impacto perjudicial se encontró en la estación 3 con un valor de -55; en contraste a lo anterior, la estación 10 presentó la magnitud de impacto perjudicial de -2. Referente al ámbito Físico se determinó que el mayor impacto perjudicial se encuentra en la estación 8 con un valor de -70, y la menor magnitud de impacto perjudicial se presentó en la estación 11 con un valor de -8 (Fig. 2).

En el ámbito socioeconómico se determinó que en la zona B el mayor impacto perjudicial se encuentra en la estación 1 con un valor de -6; en contraste a lo anterior, la estación 2 presentó la mayor magnitud de impacto benéfico de +7. En ámbito Físico se determinó que el mayor impacto perjudicial se encuentra en la estación 1 con un valor de -12, y la mayor magnitud de impacto benéfico se presentó en la estación 2 con un valor de +3 (Fig. 3).



En el ámbito Físico de la estación de evaluación 8 de la zona A de Buenos Aires Norte, se determinó que las principales actividades naturales, inundaciones, mareas y el retroceso de la línea costera, ocasionaron magnitudes y grados de impactos de -16, -16 y -11 respectivamente, y contribuyeron en la contaminación del aire, del agua, la intensificación de la erosión, en el relieve, en el deterioro de la flora y fauna, así como en el deficiente tratamiento de residuos sólidos. En lo referente a la principal actividad antropogénica se determinó que la Muralla de rocas (enrocado), ocasionó una magnitud de impacto perjudicial de -10, y causó impactos perjudiciales moderados en la contaminación del agua, el relieve y el tratamiento de residuos sólidos; así mismo, un impacto perjudicial débil en la contaminación del aire, en la erosión y la calidad de paisaje (Tabla 1).

En el ámbito socioeconómico de la estación de evaluación 3 en la zona A de Buenos Aires Norte, se determinó que las principales actividades naturales, inundaciones, mareas y retroceso de la línea costera, ocasionaron magnitudes de impactos perjudiciales de -13, -17 y -16 respectivamente, causando principalmente esta última actividad impactos fuertes en la migración de la población, en la generación de empleos, impactos visuales negativos, la conservación cultural y turista, así como problemas en la salud de la población. En lo referente a la principal actividad antropogénica, la muralla de rocas (enrocado), ocasionó una magnitud de impacto beneficioso de +9, y causó impactos beneficiosos moderados en la migración de la población y en la conservación cultural y turista; así mismo, un impacto beneficiosos débil en la generación de empleos, impactos visuales y en la concientización y participación ciudadana (Tabla 2).

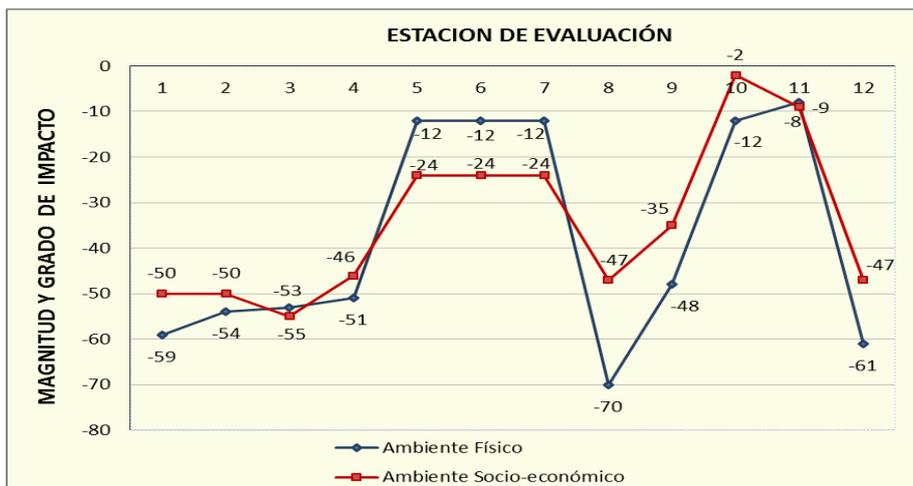


Fig. 2: Magnitud y grados de Impacto ambiental Físico y Socioeconómico en la zona A del Litoral de Buenos Aires Norte distrito de Víctor Larco (Perú), Setiembre-Octubre 2012.

En el ámbito Físico de la estación de evaluación 1 en la zona B de Buenos Aries Norte, se determinó que las principales actividades naturales, inundaciones, las precipitaciones temporales y las mareas, ocasionaron magnitudes de impactos perjudiciales de -3, -4 y -3 respectivamente en esta zona; y contribuyeron en el deterioro del suelo referente a la cubierta vegetal, en la calidad del paisaje y el tratamiento de residuos sólidos. En lo referente a la principal actividad antropogénica se determinó que la Muralla de rocas (enrocado), ocasionó una magnitud de impacto beneficioso de +1 contra la erosión y la calidad del paisaje; así mismo, un impacto perjudicial de -1 en el tratamiento de residuos sólidos (Tabla 3).

En el ámbito Socioeconómico de la estación de evaluación 1 en la zona B de Buenos Aries Norte, se determinó que la principal actividad que se evidenció en esta zona fueron las precipitaciones temporales con una magnitud de impacto de -6, y tuvo un impacto perjudicial de -3 sobre las aéreas urbanas ocasionado fuertes impactos visuales en dicha zona (Tabla 4).

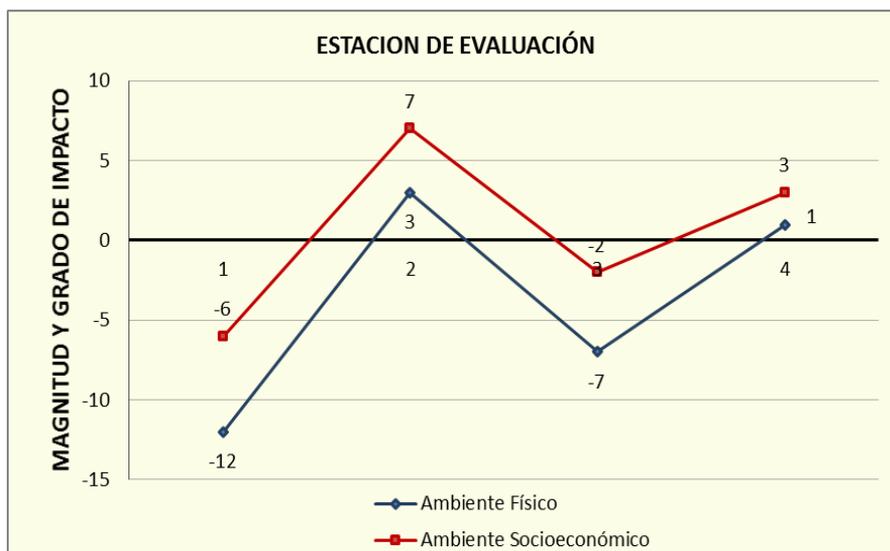


Fig. 3: Magnitud y grados de Impacto ambiental Físico y Socioeconómico en la zona B del Litoral de Buenos Aires Norte Distrito de Víctor Larco (Perú), Setiembre-Octubre 2012.

DISCUSIÓN

Las causas de la erosión costera son múltiples y se relacionan directamente con el crecimiento de la población, como causa original. Aun cuando el calentamiento global constituye una amenaza muy importante, este no es el único causante de la erosión del litoral costero, por lo cual, en el análisis de las zonas litorales resulta fundamental considerar todas las causas naturales y/o antrópicas que intervienen en la vulnerabilidad de un litoral dado. Las consecuencias de un mal manejo ambiental del litoral costero pueden variar desde pérdidas de vidas humanas hasta un alto costo social, económico y político¹.

La zona litoral es un ecosistema frágil, con equilibrios dinámicos fáciles de vulnerar y un espacio multiuso muy demandado por el hombre; en consecuencia, es un recurso escaso que exige un estudio de impacto ambiental. La mejor defensa de una costa es una playa, por ello la conservación, creación y regeneración de playas se pueden considerar, con carácter general, como actuaciones encaminadas hacia el uso sostenible del recurso litoral¹⁵. Los estudios de impacto ambiental son obligatorios en todos los proyectos de obra o actividad de carácter público o privado, que puedan producir daños no tolerables al ambiente y sus ecosistemas. La obligación de realizar estos estudios constituye una medida de carácter preventivo para conciliar la conservación con el desarrollo¹⁶.

El uso de la Matriz de interacción de Leopold modificada, determinó que la estación 8 de la zona A presentó un grado de impacto perjudicial moderado de -70 en el ámbito Físico a diferencia de la estación 11 que presentó un grado de impacto perjudicial débil de -8; asimismo, la estación 3 presentó un impacto perjudicial moderado de -55 en el ámbito Socioeconómico a diferencia de la estación 10 que presentó un grado de impacto perjudicial débil de -2. En relación a las estaciones de la zona B, se determinó que la estación 1 presentó un grado de impacto perjudicial débil de -12 en el ámbito Físico y Socioeconómico. Al aplicar dicha Matriz el ámbito Físico, se determinó que en la estación 8 de la zona A, las inundaciones, producidas por las mareas intensas, ejercieron impactos perjudiciales moderados en la contaminación del aire y agua por acción de esparcimiento de residuos sólidos, por parte de los pobladores como medida protectora, lo que conllevó a la reducción de la cubierta vegetal deteriorando la calidad del paisaje.

En la estación 1 de la zona B, las inundaciones generaron impactos perjudiciales débiles en la cubierta vegetal, la infraestructura (viviendas) y en el tratamiento de residuos sólidos, debido a que la estación 1 se encuentra lejana a la zona litoral. Las mareas causaron impactos perjudiciales moderados en la pérdida irreparable de la biodiversidad, lo que concuerda con el estudio de impacto ambiental semidetallado del puerto de Salaverry, donde se analizó la erosión costera y sus impactos en la biodiversidad marina (la comunidad de macroinvertebrados y fitoplancton tuvieron baja densidad y baja abundancia), lo cual es indicativo de estrés ambiental producto de este fenómeno¹⁷.

El retroceso de la línea costera en la zona litoral de Buenos Aires Norte, tuvo impactos perjudiciales moderados en el deterioro del suelo en la estación 8 de la zona A y en el tratamiento de residuos sólidos en la estación 1 de la zona B (Cuadro 3), causado por la pérdida de arena, la cual juega un papel importante debido a que ésta amortigua el fuerte impacto que genera las olas al llegar a la zona litoral. Maldonado (2009) señala que la construcción del puerto de Salaverry originó que el litoral costero de Buenos Aires, sufriera la erosión más grande conocida en el litoral peruano con una pérdida de costa desde el año 1978 al 2008 de 221,43 metros, debido a que las condiciones de la disponibilidad de sedimentos fueron alteradas causando una pérdida de litoral costero de 227 metros¹⁸. Ya que la alteración de las aguas naturales y construcción de estructuras artificiales, pueden resultar en impactos directos sobre la masa de agua siendo desarrollada, así como impactos directos e indirectos sobre el ecosistema y comunidades correspondientes en las cercanías del proyecto¹⁶. Lo que concuerda con el estudio realizado por Capriles (2007) en Lechería – Venezuela donde la determinación de los cambios morfológicos en la zona costera se realizó mediante el análisis de las primeras fotografías aéreas disponibles, que datan del año 1945 hasta las más actuales correspondientes a 1999. La comparación mediante un SIG de fotografías aéreas blanco y negro, permitió determinar la disminución de 6,35 ha para el periodo 1945-1980 y de 51,34 ha durante el lapso 1980-1999 en la superficie de Lechería¹⁹. Al analizar el comportamiento de la dinámica costera se comprobó que las causas del proceso de erosión la constituyen, en primer lugar el Tómbolo de El Morro, por haber interrumpido el paso de sedimentos desde la Bahía de Pozuelos hacia la Bahía de Barcelona. En otros estudios, se hace referencia que la causa de la erosión costera vendría ser el deshielo de los casquetes polares como es el caso de la localidad del mar de Tuyu de la provincia de Buenos Aires-Argentina⁹.

Tabla 1. Matriz de interacción (causa-efecto) Leopold modificada en el ámbito Físico en la estación de evaluación 8 de la zona A de Buenos Aries Norte, Trujillo, La Libertad.

Factor Ambiental Actividad		Natura-Físico									TOTAL
		Contaminación del aire	Contaminación del agua	Deterioro del suelo			Flora	Fauna	Incidencia visual		
				Erosión	Cubierta Vegetal	Relieve			Paisaje	Residuos Sólidos	
Actividad Natural	Inundacion	-2	-2	-3	-2	-1	-3		-1	-2	-16
	Precipitacion temporal	-1	-1	-1	+1	-1	+3		-1	-1	-8
	Mareas	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-1	-1	-3	-16
	Retroceso de línea costera	-1	-2	-2	-2	-2	-1		-1		-11
Actividad Antropológica	Agregado de desmonte	-2	-1	-2	-2	-1			-1		-9
	Muralla de rocas	-2	-1	-1	-1	-2			-1	-2	-10
TOTAL											-70
Escala de impacto	Impacto débil		1		Grado de impacto	Beneficioso		+			
	Impacto moderado		2			Perjudicial		-			
	Impacto fuerte		3								

Tabla 2. Matriz de interacción (causa-efecto) Leopold modificada en el ámbito Socioeconómico en la estación de evaluación 3 de la zona A de Buenos Aries Norte, Trujillo-La Libertad

Factor Ambiental Actividad		Socioeconómico									TOTAL
		Migración	P.E.A	Generación de empleos	Áreas Urbanas	Impacto visual	Conservación cultural y turística	Salud	Educación	Participación ciudadana	
Actividad Natural	Inundacion	-3	-2	-2	-2	-1	-1	-2			-13
	Precipitacion temporal		-1	-1	-1	-1	-1	-1			-6
	Mareas	-2	-2	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-1	-17
	Retroceso de línea costera	-2	-1	-1	-3	-3	-3		-3		-16
Actividad Antropológica	Agregado de desmonte	-1		-2	-2	-2	-3	-2			-12
	Muralla de rocas	+2		+1	+1	-1	+2		+3	+1	+9
TOTAL											-55
Escala de impacto	Impacto débil	1			Grado de impacto	Beneficioso		+			
	Impacto moderado	2				Perjudicial		-			
	Impacto fuerte	3									

Tabla 3. Matriz de interacción (causa-efecto) Leopold modificada en el ámbito Físico de la estación de evaluación 1 en la zona B de Buenos Aries Norte, Trujillo-La Libertad.

Factor Ambiental Actividad		Natura-Físico									TOTAL
		Contaminación del aire	Contaminación del agua	Deterioro del suelo			Flora	Fauna	Incidencia visual		
				Erosión	Cubierta Vegetal	Relieve			Paisaje	Residuos sólidos	
Actividad Natural	Inundacion				-1				-1	-1	-3
	Precipitacion temporal				-1				-2	-1	-4
	Mareas								-2	-1	-3
	Retroceso de línea costera									-2	-2
Actividad Antropológica	Agregado de desmonte									-1	-1
	Muralla de rocas			+1					+1	-1	+1
TOTAL											-12
Escala de impacto	Impacto débil	1		Grado de impacto	Beneficioso		+				
	Impacto moderado	2			Perjudicial		-				
	Impacto fuerte	3									

Tabla 4. Matriz de interacción (causa-efecto) Leopold modificada en el ámbito Socioeconómico de la estación de evaluación 1 en la zona B de Buenos Aries Norte, Trujillo-La Libertad.

Factor Ambiental Actividad		Socioeconómico								TOTAL	
		Migración	P.E.A	Generación de empleos	Áreas Urbanas	Impacto visual	Conservación cultural y turística	Salud	Educación		Participación ciudadana
Actividad Natural	Inundacion										
	Precipitacion temporal				-3	-3					-6
	Mareas										
	Retroceso de línea costera										
Actividad Antropológica	Agregado de desmonte										
	Muralla de rocas										
TOTAL											-6
Escala de impacto	Impacto débil	1			Grado de impacto	Beneficioso		+			
	Impacto moderado	2				Perjudicial		-			
	Impacto fuerte	3									

La principal acción contra la erosión costera fue la construcción de enrocado en la zona litoral de Buenos Aires Norte, que permitió la protección de las instalaciones interiores, edificios y propiedades contra los agentes del mar. El enrocado tuvo impactos positivos débiles en la estación 1 de la zona B (Cuadro 3), donde contribuyó a amortiguar la erosión, pero no eficientemente; en la estación 8 de la zona A (Cuadro 1) se determinó impactos perjudiciales moderados del enrocado, debido a su bajo nivel en piedras que favoreció la intensificación de los procesos erosivos ya existentes que, estando influenciada por la dinámica de las corrientes marinas, en lugares o zonas específicas se caracterizan con mareas intensas y oleajes fuertes, que están presentes en la zona litoral de Buenos Aires Norte, aumentaron los procesos de turbulencia y con ello el arrastre de arena fuera de la zona litoral, permitiendo posteriormente que los muros, revestimiento o enrocado terminen destruidos y se conviertan en un obstáculo para el uso recreacional de la playa⁶.

Al aplicar la Matriz de interacción (causa- efecto) Leopold¹⁴ modificada en el ámbito socioeconómico, se determinó que la estación 1 de la zona B (Cuadro 4), tuvo pocos impactos perjudiciales que afectaron de forma puntual la calidad del paisaje; a diferencia de la estación 3 de la zona A (Cuadro 2), que tuvo impactos perjudiciales moderados generados por las inundaciones y las mareas, e impactos perjudiciales fuertes generados por el retroceso de la línea costera, que conllevaron axiomáticamente al deterioro de las vías de acceso, pistas y veredas, e infraestructura de viviendas, causando la migración parcial de los pobladores y efecto negativos sobre la economía, debido a la escasez de empleos principalmente por la pérdida de turismo. El turismo es un agente preponderante en el desarrollo y crecimiento económico de las poblaciones propias de la zona litoral, el cual es afectado por el deterioro o pérdida de sus zonas costeras. La presencia del fenómeno de erosión costera ocasiona una reducción del sector turismo generando desempleos, pérdidas de bienes y servicios afectando a la población económicamente activa²⁰.

En la estación 1 de la zona B (Cuadro 2), se determinó que el enrocado no ocasionó ningún grado de impacto en el ámbito Socioeconómico, debido a que ésta estación de evaluación se encuentra lejana a la zona litoral. En la estación 3 de la zona A (Cuadro 2), el enrocado generó impactos beneficiosos en las vías de acceso, pistas y veredas, e infraestructura de viviendas, lo que ocasionó que los pobladores de dicha zona de Buenos Aires Norte, realizaran el agregado de desmonte y de residuos sólidos para mitigar las inundaciones producidas por la salida del mar, generando impactos perjudiciales moderados en la salud (principalmente problemas respiratorios) de los pobladores; esto es, el arrojado de desmonte y residuos sólidos permitió la creación de focos infecciosos y epidemiológicos, que en efecto sinérgico con la proximidad de las viviendas en la zona litoral, amplificaron dichas consecuencias¹⁶.

Los estudios ambientales se deben considerar desde el paradigma del desarrollo sostenible, definido como aquel que satisface las necesidades del presente y reserva los que serán requeridos por las generaciones futuras. Este paradigma ha cambiado la fisiología de la explotación destructiva de la sociedad a una que a largo plazo, fomente la protección del ambiente y sus habitantes¹⁶.

CONCLUSIONES

- Los impactos ambientales Físicos y Socioeconómicos generados por la erosión costera en Buenos Aires Norte, se presentaron con una magnitud fuerte y con grado negativo en la zona A, zona más cercana al litoral costero.
- Los impactos ambientales negativos más significativos en el ámbito Físicos generados por la erosión costera, en la zona próxima al litoral, zona A, de Buenos Aires Norte se presentaron en la estación 8 con un impacto negativo moderado de -70; y en la zona lejana al litoral, zona B, se presentó en la estación 1 con un impacto negativo débil de -12.
- Los impactos ambientales negativos más significativos en el ámbito socio- económico generado por la erosión costera, en la zona próxima al litoral, zona A de Buenos Aires Norte, se presentó en la estación 3 con un impacto negativo moderado de -55; y en la zona lejana al litoral, zona B, se presentó en la estación 1 con un impacto negativo débil de -6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carranza A. Causas y consecuencias de la erosión de playas. Instituto de ciencias del mar y limnología, circuito exterior, ciudad universitaria, Universidad Nacional Autónoma de México. 2010.
 2. Doody P, Ferreira M, Lombardo S, Lucius L, et al. Vivir con la erosión costera en Europa: sedimentos y espacio para la sostenibilidad. Comisión Europea. 2005.
 3. Merlotto A, Verón E, Sabuda F. Riesgo de erosión costera en el Balneario Parque Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires. *Párrafos Geográficos*. 2008; 7(1): 103-121.
 4. Del Río L, Benavente J, Gracia F, Anfuso G, Martínez J, et al. Cuantificación de procesos de erosión costera en el litoral Suratlántico español. Primeros resultados. Dpto. de Geodinámica. Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz-Puerto Real. España. *Geogaceta* 2003; 33:3.
 5. Guido P, Ramírez A, Godínez L, Cruz S, Juárez A. Estudios de la erosión costera en Cancún y la Riviera Maya. México. *Rev. Avances en recursos hídricos* 2009; 20: 41-55
 6. Rodríguez R, Beltrán H. Estudio de los procesos de erosión-sedimentación playa el Espino. República de El Salvador. Ministerio del Ambiente y Recursos naturales. El Salvador. 2012.
 7. Posada B, Henao W. Diagnóstico de la erosión costera en la zona costera del Caribe colombiano. *Rev INVEMAR-Colombia* 2008; 79: 79-97
 8. Merlotto A, Piccolo M, Bértola G. Riesgo a la erosión en las ciudades de Necochea y Quequén, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Contribuciones científicas GÆA*. 2011; 23: 151-158
 9. D'Amico G. Fragilidad de los espacios litorales: Lineamientos para comprender la Erosión costera inducida en el litoral Marítimo bonaerense. El caso de la localidad de mar del Tuyú. Argentina. *Rev Geografiando* 2009; 5(5): 169-186
 10. Sánchez G, Blas L, Chau G. Informe nacional sobre el estado del ambiente marino del Perú. Convenio IMARPE-CPPS. Programa CONPACSE III. Lima-Perú. 2010.
 11. Carbajal W, Castañeda J, Galán J, Ramírez P, De la Cruz P. Diagnóstico ambiental de la zona costera de Lambayeque. Instituto de mar del Perú. Laboratorio costero de Santa Rosa. Chiclayo, Lambayeque-Perú. 2004.
 12. Bocanegra C. Destrucción del litoral de Trujillo: Impacto de la transformación de la costa en la geomorfología litoral. Sociedad geográfica de Lima. 2011.
 13. Decreto supremo N° 022-2011-PCM. 2011. Decreto supremo que declara el estado de emergencia de los balnearios de Las Delicias, Buenos Aires y Huanchaco, ubicados en los distritos de Moche, Víctor Larco Herrera y Huanchaco, de la Provincia de Trujillo, en el departamento de La Libertad. Normas Legales: 2011.
 14. Cotán-Pinto S. Valoración de impacto ambiental. Ingeniería Energética y de Contaminación S.A. (INERCO). Sevilla. España. 2007.
 15. Canteras J, Cantera E, Pérez L, Soler M, Carralimos C. Impacto ambiental de regeneración de playas: La playa de Poniente (Gijón). *Rev Ingeniera del agua* 1995; 2(1): 223-243
 16. Montalvo J. Impactos ambientales generados por la construcción de un muelle para el atraque de buques de transporte de mineral, sobre el sistema marino litoral de Salaverry, Mayo-Diciembre 2009. Tesis de Maestro en Ciencias, Mención en Gestión Ambiental. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2011.
 17. MWH PERU S.A. Estudio de impacto ambiental semidetallado. Proyecto de almacenamiento y embarco de concentrado de minerales en puerto Salaverry. 2008.
 18. Maldonado H. Determinación del impacto erosivo en el litoral por la construcción del puerto de Salaverry y el Molo Retenedor de Arena, desarrollando un estudio de erosión. Tesis de Maestro en Ciencias, Mención en Gestión Ambiental. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2009.
 19. Capriles M. Evaluación de la erosión lineal costera en la ciudad de Lechera, estado Anzoátegui, Venezuela. *Rev Terra* 2009; 23(33): 13-38.
- Cendrero A, Sánchez-Arcilla A, Zazo C. Impactos sobre las zonas costeras. Evaluación Preliminar de los Impactos en España por Efecto del Cambio Climático. ed. Ministerio del Ambiente. Madrid, España. 2005.



Caracterización y evaluación de la variabilidad de doce colectas de *Phaseolus vulgaris* tipo reventon procedente de la provincia de Santiago de Chuco (Perú)

Characterization and variability evaluation of twelve collections of *Phaseolus vulgaris* “reventon type” from Santiago de Chuco Province (Peru)

Manuel F. Pesantes Vera y Juan Rodríguez Soto

Laboratorio de Fitogenética. Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se realizaron doce colectas de “ñuña” en la sierra de Santiago de Chuco, La Libertad (Perú) a fin de evaluar la variación morfológica y cuantitativa de sus granos, así como el comportamiento de sus cultivos bajo condiciones de costa norte de la Provincia de Trujillo (Perú). Se encontró gran variación morfológica respecto a la forma, brillo y color de los granos entre las colectas, alta variación para los caracteres asociados con el rendimiento y la calidad de los granos donde las entradas que presentaron mayor peso de 100 granos secos fueron SUNT 01 con 53.20 g, SUNT 03 con 58.50 g, SUNT 05 con 70.90 g y SUNT 08 con 66.00 g. Los mejores volúmenes, porcentaje de expansión y textura de los granos tostados lo presentaron las entradas SUNT 02, SUNT03, SUNT 05 y SUNT 11, siendo las entradas más sobresalientes para los caracteres antes mencionados SUNT 03 Y SUNT 05. Respecto al comportamiento fenotípico, las colectas cultivadas bajo condiciones agroecológicas de costa norte fueron las entradas SUNT01, SUNT 02, SUNT 05 y SUNT 11, las que desarrollaron mejor bajo estas condiciones.

Palabras clave: Variación morfológica, germoplasma, *Phaseolus vulgaris*

ABSTRACT

The morphological and quantitative variation of the grains and the behavior of their crops under north coast of the province Trujillo of twelve *Phaseolus vulgaris* collections from the mountains of Santiago de Chuco (La Libertad, Peru) were evaluated. It was found great morphological variation of shape, luster, and color of the grains between collections, similarly high variation for the characters associated with yield and grains quality was found where the accessions that showed higher dry weight of 100 grains were SUNT 01, con 53.20 g., SUNT 03 with 58.5 g, SUNT 05 with 70.90 and SUNT 08 with 66.00 g. Moreover, the best volume, percentage of expansion and texture of the burst grains are SUNT 02, SUNT 03 SUNT 05 Y SUNT 11 accessions. The most salient for these characters were SUNT 05 Y SUNT 03. Regarding the phenotypic collections grown under agroecological conditions of the north coast were SUNT 01, SUNT 02, SUNT 05 and SUNT 11 accessions that developed the best under these conditions.

Keyword: *Phaseolus vulgaris*, beans popping “ñuña”, germoplasm

INTRODUCCIÓN

En muchos lugares de América Latina y África al frejol, *Phaseolus vulgaris*, se le considera todavía como la carne de las poblaciones humanas de escasos recursos, por su contenido en proteínas (25%) y micronutrientes como hierro y ácido fólico¹, siendo interesante anotar que en las regiones de menor consumo de proteínas el consumo de proteínas de origen animal es también menor, mientras que del consumo de leguminosas es mayor²

América Latina es la principal región productora de frejol del mundo, con una producción de un 35%.³ En el Perú el área de cultivo es aproximadamente 75,000 Ha de las cuales el 49% se siembra en la sierra, 33% en la costa y el 18% en la selva⁴

Dentro de las diferentes variedades de frejol que se cultivan en nuestro país existe un tipo de frejol para tostar llamado reventón, conocido con el nombre de “ñaña”, “apa”, “numia”⁵, el cual constituye un recurso genético nativo único en la región andina desde Cajamarca en el norte del Perú hasta el Departamento de Chuquisaca en Bolivia⁶

Los granos de este tipo de frejol revientan cuando son calentados, existiendo una gran variabilidad de “ñañas” con respecto a la forma color y tamaño, así como su capacidad para reventar. Esta calidad de frejol no solo representa una gran fuente de proteínas sino que tiene la posibilidad de constituirse en un cultivo comercial de importancia^{6,7}

En el Perú la siembra de este recurso fitogenético poco explotado está limitado principalmente a la zona agroecológica yunga y quechua de los valles interandinos⁵, existiendo algunos reportes de este cultivo en condiciones de costa central⁸, así como estudios de caracterización fenotípica y ensayos comparativos de algunas variantes promisorias^{9,10}

En la serranía de la Región de la Libertad, donde se incluye la Provincia de Santiago de Chuco, se dispone de cultivos mezclados conformados por diversas variantes o tipos de ñaña, que constituyen una gran fuente de diversidad genética, los que facilitan su colección, selección y conservación, pudiendo usarse para iniciar programas de mejoramiento genético de este recurso vegetal.

En todo programa de mejoramiento genético de una especie vegetal cultivada es necesario disponer previamente de una colección o banco de genes donde se debe conservar la variación genética de la especie a mejorar, para lo cual esta colección debe estar conformada por un mayor número de colectas o variantes genéticas (entradas) existentes^{11,12}, donde cada variante o entrada debe ser sistemáticamente caracterizada a través de sus descriptores cualitativos así como mediante la evaluación de la variación fenotípica que presentan sus caracteres cuantitativos.

Al respecto, no se reportan estudios sobre la caracterización y evaluación de la variación de los distintos tipos de colectas de ñaña procedentes de la serranía de Santiago de Chuco realizadas en la Región de la Libertad, así como del comportamiento de estas colectas sembradas bajo condiciones de costa norte de Trujillo.

Por tal motivo, la presente investigación tuvo como objetivos: (i) caracterizar cualitativamente y evaluar la variación fenotípica de caracteres cuantitativos de doce colectas de semillas (una colección o banco de germoplasma incipiente) de ñaña procedentes de la Provincia de Santiago de Chuco, (ii) evaluar el comportamiento fenotípico de las doce colectas antes caracterizadas, cultivadas bajo condiciones agroecológicas de costa norte de la provincia Trujillo y (iii) iniciar la implementación de un banco de semillas (banco de germoplasma) ”ex situ” de ñaña procedentes de la sierra de la Región de la Libertad en la Cátedra de Fitogenética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Trujillo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron doce colectas diferenciadas de distintas semillas de “ñaña” en las provincia de Santiago de Chuco, las cuales fueron clasificadas y registradas con los nombres SUNT seguido de un numeral consecutivo del 01 al 12, donde S representa la procedencia de origen de la colecta (Stgo. de Chuco) y UNT representa a la entidad colectora (Universidad Nacional de Trujillo) conservándose dichas colectas en la cátedra de fitogenética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNT. Cada colecta de las semillas fue caracterizada según la forma, brillo y color, y otros de acuerdo a los

descriptores establecidos para el estudio de este recurso fitogenético por los organismos internacionales competentes^{13, 14, 15, 16}.

Se evaluó en cada colecta el peso de 100 granos, el volumen de 10 granos secos, volumen de los mismos 10 granos después de ser tostados o reventados medidos en alcohol de 96°; se consideró, además, la uniformidad en el tostado de los granos, el cual será expresado en porcentaje de apertura de las semillas al ser sometidas al calor, así como el porcentaje de expansión de los 10 granos reventados (medidos como la diferencia entre el volumen de los granos reventados y el volumen de los granos secos expresado en porcentajes) y la calidad o textura del grano tostado de acuerdo a lo recomendado para este carácter⁸.

Para estudiar la variabilidad fenotípica continua en cada colecta se evaluó los siguientes caracteres métricos: peso de las semillas (cg) longitud de las mismas (mm) y ancho de las semillas (mm) medidas a la altura o punto medio del hilio en 50 semillas tomadas al azar. Los datos obtenidos se analizaron empleando estimadores biométricos según lo establecido para estos caracteres^{17, 18} como son: media (X), varianza (S²), desviación estándar (S), error estándar (E.S.) y coeficiente de variación (C.V.)

Al mismo tiempo, en el campo de Fitogenética se realizó, además, el cultivo de estas colectas (previamente clasificadas y registradas) de acuerdo a las recomendaciones agronómicas recomendadas para el frejol¹⁹, con el objeto de evaluar el comportamiento de cada colecta bajo condiciones de costa de la Provincia de Trujillo, para lo cual se registraron los caracteres: porcentaje de emergencia, promedio de días a la floración, promedio de la altura de planta en floración, promedio de flores por planta y promedio de formación de vainas o frutos.

RESULTADOS

La caracterización mediante el uso de los descriptores de forma brillo y color de las semillas o granos de cada colecta de ñuña procedente de la provincia de Santiago de Chuco, según lo propuesto por los organismos internacionales, con sus adaptaciones correspondientes¹⁶ (Tabla 1, Fig. 1), se describe como sigue:

- **Colecta SUNT- 01:** Forma arriñonada (4). Brillo opaco (3). Color de la cubierta: I Modelo bicolor (2), II Tipo, rayado externo (2), III Fondo crema oscuro (7), IV Sobre fondo marrón claro (15).
- **Colecta SUNT- 02:** Forma arriñonada (4). Brillo satinado (5). Color de cubierta: I Modelo tricolor (3), II Tipo irregular (8), III Fondo ébano oscuro o marrón amarillento (10), IV Sobre fondo, crema con pintas marrón oscuro (15)
- **Colecta SUNT- 03:** Forma arriñonada (4). Brillo opaco (5). Color de cubierta: I Modelo bicolor (2), II Tipo irregular jaspeado (8), III Fondo blanquecino (2), IV Sobre fondo, negro (14) conocida como ñuña “pava”
- **Colecta SUNT-04:** Forma cuboides (3). Brillo brillante (7). Color de cubierta: I Modelo monocolor (1), II Tipo ausente (0), III Fondo marrón oscuro (10), IV Sobre fondo, ausente (0)
- **Colecta SUNT-05:** Forma arriñonada (4). Brillo opaco (3). Color de cubierta: I Modelo bicolor (2), II Tipo moteado irregular (8), III Fondo marrón amarillento (10), IV Sobre fondo, bayo (15)
- **Colecta SUNT- 06:** Forma ovalada (2). Brillo satinado (5). Color de cubierta: I Modelo monocolor (1), II Tipo ausente (0), III Fondo negro (14), IV Sobre fondo, ausente (0)
- **Colecta SUNT- 07:** Forma arriñonada (4). Brillo satinado (5). Color de cubierta: I Modelo bicolor (2), II Tipo moteado irregular (8), III Fondo rojo oscuro (9), IV Sobre fondo blanquecino (2) conocida como “ñuña” peruanita
- **Colecta SUNT-08:** Forma ovalado (2). Brillo opaco (3). Color de cubierta: I Modelo monocolor (1), II Tipo ausente (0), III Fondo blanco (1), IV Sobre fondo, ausente (0)
- **Colecta SUNT- 09:** Forma ovalada (2). Brillo satinado (5). Color de cubierta: I Modelo bicolor (2), II Tipo moteado irregular (8), III Fondo amarillo verdoso (4), IV Sobre fondo, crema con borde del hilio marrón oscuro (7 y 15)
- **Colecta SUNT- 10:** Forma ovalada (2). Brillo satinado (5). Color de cubierta: I Modelo bicolor (2), II Tipo rayado (7), III Fondo ébano oscuro (10), IV Sobre fondo, marrón oscuro (15)

- **Colecta SUNT-11:** Forma arriñonada (4). Brillo opaco (5). Color de cubierta : I Modelo bicolor (2), II Tipo moteado irregular (8) , III Fondo crema (2), IV Sobre fondo, marrón claro incluyendo el borde del hilio (15)
- **Colecta SUNT-12:** Forma cuboides (3). Brillo brillante (7). Color de cubierta: I Modelo monocolor (1), II Tipo ausente (0) , III Fondo marrón oscuro (15), IV Sobre fondo , ausente (0)

Las estimaciones estadísticas poblacionales para el carácter peso (Tabla 2) de las semillas o granos, expresado en centigramos (cg), de cada una de las colectas, accesiones o entradas, en donde se puede apreciar que el mayor peso promedio (\bar{X}) lo presentan SUNT O5 (71.56 cg) y SUNT 08 (64,44 cg) seguidos por los promedios de las entradas SUNT 03(59.00 cg) y SUNT01 (53.43 cg) observándose en tercer lugar que las colectas SUNT 02 (48.40 cg), SUNT 07 (49.00 cg) , SUNT 10 (48.80cg) y SUNT 11 (47.81 cg) y SUNT 12 (44.56 cg), presentándose un cuarto grupo de entradas las cuales tienen los pesos promedios más bajos: SUNT06 (37.13 cg) , SUNT04 (36.42 cg) y SUNT09 (34.22 cg).

Respecto a la variación (S^2) que existe en las colectas, es notoria la gran diferencia entre ellas, cuyos valores van de $S^2 = 80.00$ (SUNT 08) hasta valores de $S^2 = 3.39$ (SUNT O4), encontrándose el resto de las varianzas fenotípicas de las accesiones restantes entre valores de $S^2 = 45.80$ (SUNT 01) y $S^2 = 6.10$ (SUNT 06). Por otro lado, es notorio apreciar que las desviaciones estándar (S) presentan valores menores de 9.0, mientras que los errores estándar (E.S.) son inferiores a 2.0 para todas las entradas o colectas.

En relación a los coeficientes de variación (C.V.) que se muestran en el mismo cuadro, se observa que la mayoría de las accesiones presentan valores menores al 10 %, con excepción de las colectas SUNT 01 y SUNT 10 las cuales presentan un C.V. = 12 % y de SUNT 08 con un C.V.= 13 %. En lo que respecta a la normalidad de los datos el carácter estudiado presenta distribución normal con una PEI = 0.05 en cada una de las accesiones estudiadas.

Respecto a las estimaciones estadísticas poblacionales para las dimensiones largo y ancho de las semillas de cada una de las doce entradas expresadas en mm, se puede apreciar en el cuadro 3 la existencia de marcadas diferencias entre los valores promedios(\bar{X}) del largo de las semillas de un grupo conformadas por las colectas SUNT 03 (13.74mm) SUNT08 (13.63 mm) SUNT 01 (12.8 mm) SUNT 02 (12.65 mm) SUNT 11 (12.49 mm) y SUNT 07 (12.24 mm), respecto a los valores promedios de las accesiones de un segundo grupo, conformado por las entradas SUNT 04 (9.8 mm) ,SUNT 06 (9.53 mm) y SUNT 09 (9.00 mm); encontrándose las colectas restantes (SUNT 05 , SUNT 10 y SUNT12) con valores intermedios entre ambos grupos.

En relación a los valores promedios (\bar{X}) del ancho de los granos, todas las accesiones muestran valores muy próximos entre sí, comprendidos entre 7.5 mm (SUNT 09) y 8.54 mm (SUNT 12). En lo concerniente a los valores de la variación fenotípica (S^2), estos se presentan muy próximos entre sí tanto para el largo como para el ancho de la semilla en las doce colectas, de igual manera la desviación estándar (S) y el error estándar (E.S) se observan con valores menores a 1 para las dos dimensiones en cada una de las entradas.

En lo que concierne a los coeficientes de variación (C.V.) para las dimensiones largo y ancho, se observa que los valores presentados en cada una de las 12 accesiones son menores al 10%.

En la Tabla 4 se muestran los valores de los caracteres asociados con el rendimiento y la calidad de los granos, donde se observa que respecto al peso de 100 semillas expresados en gramos (g) son las colectas SUNT 05 (70.90 g) , SUNT 08 (66.00 g), SUNT 03 (58.50 g) y SUNT 01(53.20 g) las que presentan el mayor peso, seguidas de accesiones que presentan pesos próximos entre sí, como son SUNT 10 (49.00g), SUNT O7 (48.50g) SUNT 11 (47.50g) y SUNT 12 (45.00g), presentando las entradas restantes los menores pesos comprendidos entre 37.01g (SUNT 04) , 36.80 g (SUNT 06) y 35.00 (SUNT 09). Por otro lado, en los resultados relacionados con el volumen (mL) ocupado por 10 granos secos, se aprecia que los valores mayores los presentan las colectas SUNT 05 (5.5 mL), SUNT 08 (4.8 ml) y SUNT 03 (4.5 mL) , siendo las colectas con menor volumen SUNT 04 (2.9 mL) SUNT 09 (2.5) y SUNT 06 (2.4 mL), presentando el resto de entradas valores intermedios comprendidos entre 3.9 ml (SUNT 02) y 3.9 ml (SUNT 11).

En lo que concierne al volumen de 10 granos tostados se aprecia que el mayor volumen lo presentan las colectas SUNT 05 (8 ml) y SUNT 03 (7 mL) mientras que las entradas con menor volumen son SUNT 04 (4.5 mL), SUNT 09 (4mL) y SUNT 06 (3.2 mL) prestando las 7 accesiones restantes valores comprendidos entre 5 mL (SUNT 10) y 6 mL (SUNT 08).

Respecto a lo relacionado con el porcentaje de expansión de los granos que se presenta en el mismo cuadro 4, son las colectas SUNT 09 y SUNT11 las que presentan el mayor volumen de expansión correspondiente a un valor del 60%, siendo las entradas SUNT 01 (133%), SUNT 10 (132%), y SUNT 08 (125%) las que presentan los menores porcentajes; las colectas restantes presentan valores intermedios comprendidos entre un 44% (SUNT 03) y 55% (SUNT 03 y SUNT 04)

De acuerdo con el porcentaje aproximado de granos reventados o abiertos, fueron las accesiones SUNT 04 y 11 las que presentaron un 100% de abertura seguidas de las colectas SUNT 02,03,09,y10 con un 90%, siendo SUNT 06 (50%) la entrada con menor porcentaje de semillas reventadas. Las 5 accesiones restantes presentaron valores de un 70 y 80%.

Según la textura de los granos reventados o abiertos, se aprecia que son las colectas SUNT 02, 03, 05 y 11 la que presentan la mejor textura (3), siendo la entrada SUNT 08 (1) la con menor textura. Las restantes accesiones presentaron una textura intermedia (2).

En la Tabla 5 en se aprecia los valores porcentuales y valores promedios de cinco caracteres de las accesiones de “ñuña” cultivadas bajo condiciones agroecológicas de la costa norte de Trujillo, siendo notorio ver en este cuadro que las colectas SUNT 03, 09 Y 12 germinaron bajo estas condiciones de campo, observándose además que las colectas SUNT 02 (4.69%) y 06(3.13%) presentaron los menores porcentaje de emergencia, mientras que las accesiones con mayor porcentaje fueron SUNT 04 (87,5%) SUNT 08 (73.44%), SUNT 01 (64.06) y SUNT 05 (57.81%); observándose en el resto de entrada que los porcentajes de germinación se encuentran entre valores de 29% y 20%.

Para el carácter días a la floración se puede observar que los valores promedios se presentan muy próximos entre las distintas accesiones (63 y 70 días), mientras que el número de flores promedio por planta en primera floración presenta valores bastantes diferenciados entre las distintas colectas cultivadas, siendo 11 el número mayor de flores (SUNT 02) y 2 el número menor (SUNT 10).

Respecto al carácter altura promedio de planta a la floración, la mayoría de colectas cultivadas presentaron valores muy próximos comprendidos entre 26.12 cm y 30.20 cm siendo las accesiones con menor altura promedio la SUNT 11 con 22 cm y las de mayor altura SUNT 01(37.44 cm) y SUNT 08 (35.03 cm). Para el carácter promedio de vainas formadas se muestra que son escasas en todas las colectas con valores entre 4 y 7, siendo notorio que las entradas SUNT 06 y 10 presentaron floración pero no cuajado de frutos o vainas.

Tabla 1. Caracterización mediante descriptores de forma, brillo y color de las semillas de doce colectas distintas de *Phaseolus vulgaris* “ñuña” procedente de Santiago de Chuco (La Libertad, Perú)

DESCRIPTOR COLECTA	FORMA	BRILLO	COLOR CUBIERTA DE LOS GRANOS			
			I	II	III	IV
SUNT 01	4	3	2	7	7	15
SUNT 02	4	5	3	8	10	15
SUNT 03	4	3	2	8	2	14
SUNT 04	3	7	1	0	10	0
SUNT 05	4	3	2	8	10	7
SUNT 06	2	5	1	0	14	0
SUNT 07	4	5	2	8	9	2
SUNT 08	2	3	1	0	0	0
SUNT 09	2	5	2	8	4	7,15*
SUNT 10	2	5	2	7	10	15
SUNT 11	4	3	2	8	2	10
SUNT 12	3	7	1	0	15	0

Tabla 2. Estimaciones poblacionales para el carácter peso de semillas de doce colectas diferenciadas de *Phaseolus vulgaris* “ñuña” procedente de Santiago de Chuco (La Libertad, Perú)

COLECTAS O ACCESIONES	ESTIMADORES					
	X	S ²	S	ES	CV	No
SUNT 01	53.43	45.80	6.70	0.94	12.00%	*
SUNT 02	46.40	10.42	3.23	0.45	6.96%	*
SUNT 03	59.00	20.32	4.50	0.63	7.62%	*
SUNT 04	36.42	3.39	1.80	0.26	4.90%	*
SUNT 05	71.56	25.90	5.08	0.72	7.00%	*
SUNT 06	37.13	6.10	2.46	0.34	6.00%	*
SUNT 07	49.00	6.40	2.53	0.36	5.00%	*
SUNT 08	65.44	80.00	8.90	1.25	13.00%	*
SUNT 09	34.22	11.00	3.30	0.46	9.6%	*
SUNT 10	48.80	35.70	5.97	0.84	12%	*
SUNT 11	47.82	10.30	3.20	0.45	6.6%	*
SUNT 12	44.56	12.00	3.46	0.48	7.76%	*

NORMALIDAD PEI = 0.05



Fig 1. Variabilidad morfológica de los granos de las doce colectas de *Phaseolus vulgaris* “ñuña” procedente de Santiago de Chuco, Perú (la numeración corresponde al orden de las entradas)

DISCUSIÓN

Las marcadas diferencias morfológicas respecto a la forma brillo y color de las semillas lo que permite fácilmente, describir, clasificar, diferenciar y registrar las doce colectas o accesiones de *Ph. vulgaris* tipo reventón o “ñuña” investigadas podría deberse a que cada una de ellas estaría constituyendo variantes o poblaciones genéticamente independientes con características propias, las que son transmitidas a la descendencia en forma idéntica a la de los progenitores ; en razón de ser la “ñuña” una planta autogama (cleistogama) su sistema reproductivo estaría limitando la variación genética , la misma que l estaría favoreciendo la formación de líneas homocigotas dentro de cada accesión o colecta ²⁰. Lo planteado ha sido reforzado en la medida que las accesiones o entradas que fueron cultivadas bajo condiciones agroecológicas de costa norte de la Provincia de Trujillo, y que las semillas de sus descendientes presentaron las mismas características cualitativas de color, forma y brillo que las semillas de las colectas que se emplearon como progenitores.

Desde el punto de vista genético se reporta, en relación a las características morfológicas consideradas, que estas son codificadas por un loci (herencia monogénica) o, en ciertos casos como

el color de las semillas, por unos pocos loci u oligogenes ^{11,21}, sobre los cuales los factores ambientales tienen un efecto nulo o escaso sobre la expresión de estos genes. ²⁰. Se observa además que la forma arriñonada es la más frecuente y la forma cuboide la de menor frecuencia, mientras que para el carácter brillo o lustre de la semilla, de las doce colectas estudiadas la menos frecuente es la de lustre brillante encontrándose los brillos opaco y satinados en proporciones iguales. En relación a la manifestación de este carácter se reporta que se encuentra regido por un loci génico ¹¹

En relación al color de la cubierta de los granos o semillas, el modelo bicolor de tipo irregular es el más frecuente carácter cualitativo que está codificado por la expresión de alelos múltiples los cuales se recombinan e interaccionan con otros loci distribuidos en forma independiente ^{11,21}.

De acuerdo a los resultados de las estimaciones paramétricas poblacionales para el carácter peso de las semillas de cada una de las accesiones o poblaciones se establece que tienen validez y representatividad en razón a que los valores de sus errores estándar (E.S) de los valores promedios de las colectas son inferiores a 2^{22} ; siendo por otro lado notoria la existencia de marcadas diferencias entre las colectas, donde SUNT 05, 08, 03 y 01 presentan valores superiores a 50 cg. en relación al peso promedio de las ocho accesiones restantes, esto indicaría en cierta medida la existencia de diferencias significativas entre los valores promedios de las doce colectas, lo planteado anteriormente podría comprobarse mediante la aplicación de un diseño experimental adecuado (para reducir los efectos ambientales), un análisis de varianza (ANOVA) y las respectivas pruebas de comparación de valores promedio de las colectas tal como se recomienda para estos casos ^{17, 18}

De acuerdo a los resultados obtenidos para otras accesiones de "ñuñas" ¹⁶, presentando un bajo porcentaje de expansión las entradas SUNT 06 (133%), SUNT 08 (125%) y SUNT 10 (132%). Estas diferencias porcentuales están relacionadas, en cierta manera, en función del tamaño, y menor cantidad de humedad de los granos o semillas, debido a que los granos que presentan menor humedad dan mayor volumen de expansión al ser tostados que cuando recién son cosechados ¹⁶

Es notorio, por otro lado, de la existencia de valores bastantes diferenciados entre las varianzas fenotípicas (S^2), las cuales están comprendidas entre $S^2 = 80.00$ (SUNT 08) y valores extremadamente bajos como $S^2 = 3.39$ (SUNT 04). Lo que pondría de manifiesto que en cada colecta estarían presentándose arreglos génicos propios para este carácter cuantitativo, el cual, como se conoce está codificado por poligenes, cuya expresión es afectado por factores ambientales. ²³

En lo concerniente a los valores de los coeficientes de variación (C.V.) del peso de las semillas, estos se presentan menores al 10 % en la mayoría de las colectas con excepción de SUNT 01, (C.V.= 12% , SUNT 08 (C.V. = 13 %) y SUNT 10 (C.V.= 12 %), lo que indicaría la existencia de una heterogeneidad fenotípica entre los individuos de cada una de estas tres colectas, lo cual expresa en cierta medida la ausencia de homogeneidad genética entre los individuos, lo que se interpretaría como la existencia de diferentes líneas homocigotas dentro de cada accesión, en virtud al sistema reproductivo autógamo de esta especie, lo cual se podría comprobar mediante la realización de pruebas de progenie ²³ tal como se recomienda para estos casos.

Dimensiones de largo y ancho de semillas (mm) de cada colecta, se aprecia para la longitud de ocho colectas, las cuales presentan promedios superiores a 12 mm como SUNT01 con 12.80, SUNT 02 con 12.65, SUNT 03 con 13.74, SUNT 07 con 12.24, SUNT 08 con 13.63 y SUNT 11 con 12.49 mm, observándose diferencias bien marcadas con relación a las colectas SUNT 04 con 9.8, SUNT 06 con 9.53 y SUNT 09 con 9.00 mm; esto permite deducir probables diferencias significativas para el carácter longitud, lo cual debe ser confirmado mediante un análisis estadístico más recomendado para este caso.

En el análisis de los valores promedio del ancho de semillas, estos se presentan muy próximos, entre intervalos comprendidos de 9.14 mm (SUNT 05) y 7.5 mm (SUNT 09). En general indicaría en cierta medida la ausencia de asociación entre las variables de largo y ancho de semillas, lo cual estaría poniendo de manifiesto que la codificación de estos caracteres es por sistemas poligénicos independientes en cada una de las entradas; reforzaría este planteamiento el hecho de que los valores de las colectas con mayor longitud como son SUNT 08 con 13.74 mm cuyo ancho es 8.34 mm respecto a la colecta con menor longitud SUNT 08 con 9.00 mm cuyo ancho es 7.50 mm, no presentan diferencias bien marcadas respecto al ancho de la semilla; ocurriendo lo mismo con las accesiones restantes. Por otro lado, los errores estándar (E.S.) observados para las dos dimensiones estudiadas en cada colecta tienen valores menores de 2, lo que está indicando la representatividad del tamaño muestral.

Tabla 3. Estimadores poblacionales para las dimensiones largo y ancho (mm) de las semillas de doce colectas diferenciadas de *Phaseolus vulgaris* ‘ñuña’ procedente de Santiago de Chuco (La Libertad, Perú)

DESCRIPTOR COLECTA	DIMENSIONES	ESTIMADORES					
		X	S ²	S	ES	C.V	No
SUNT 01	L	12.8	0.123	0.35	0.05	2.7%	*
	A	8.37	0.312	0.55	0.08	6.6%	
SUNT 02	L	12.65	0.13	0.36	0.05	2.04%	*
	A	7.71	0.49	0.70	0.09	9.07%	
SUNT 03	L	13.74	0.12	0.34	0.04	2.47%	*
	A	8.34	0.18	0.42	0.06	5.00%	
SUNT 04	L	9.80	0.19	0.43	0.06	4.38%	*
	A	7.60	0.09	0.30	0.04	3.90%	
SUNT 05	L	11.36	0.22	0.46	0.06	4.15%	*
	A	9.14	0.09	0.30	0.04	3.28%	
SUNT 06	L	9.53	0.45	0.67	0.09	7.00%	*
	A	8.0	0.08	0.28	0.04	3.5%	
SUNT 07	L	12.24	0.16	0.40	0.06	3.26%	*
	A	7.92	0.12	0.35	0.05	4.42%	
SUNT 08	L	13.63	0.45	0.67	0.09	4.9%	*
	A	8.85	0.07	0.26	0.04	2.9%	
SUNT 09	L	9.00	0.13	0.36	0.05	4.00%	*
	A	7.50	0.12	0.35	0.05	4.66%	
SUNT 10	L	11.05	0.23	0.48	0.06	4.34%	*
	A	8.48	0.09	0.30	0.04	3.53%	
SUNT 11	L	12.49	0.68	0.28	0.04	2.24%	*
	A	7.69	0.09	0.30	0.04	3.90%	
SUNT 12	L	11.00	0.36	0.60	0.08	5.45%	*
	A	8.54	0.19	0.43	0.06	5.03%	

*NORMALIDAD PEI = 0.05

Respecto al coeficiente de variación (C.V.) sus valores se presentan menores al 10% para ambas dimensiones en cada entrada. Esto nos indicarían la existencia de homogeneidad fenotípica, la que sería en cierta manera la manifestación del grado de uniformidad genética existente para estos caracteres en cada una de las colecta por separado.

La evaluación de los caracteres relacionados con el rendimiento y la calidad de los granos en cada colecta, muestra, respecto al peso de 100 granos secos (g), que las colectas SUNT 05, con 70.90g, SUNT 08 con 66.00g, SUNT 03 con 58.50g, y SUNT 01 con 53.20g, presentan el mayor rendimiento en peso, siendo las de menor rendimiento en peso SUNT 04 con 37.01g, SUNT 06 con 36.80g, y SUNT 09 con 35.00g, presentando las colectas restantes valores comprendidos entre 49.00g y 46.00g.

En el análisis del volumen de 10 granos o semillas reventadas, las entradas evaluadas muestran diferencias notorias donde las colectas con mayor volumen son SUNT 05 (8mL), SUNT 09 (7mL) y SUNT 08 (6mL), seguido de SUNT 02 (5.8 mL), SUNT 07 y SUNT 012 (ambos con 5.5mL); siendo las entradas con menor volumen SUNT 06, SUNT 09 y SUNT 04, con 3.2, 4.00 y 4.5 mL, respectivamente. Según se reporta para el maíz reventón los factores que darían lugar a las diferencias de expansión serían el contenido de humedad, herencia de los genes que codifican para la formación de un endospermo elástico ²⁴. Estas diferencias también podrían deberse a la forma de las semillas, a la

cantidad y calidad del almidón almacenado en ellas, como a la presencia de una cubierta no elástica en los granos⁷

Tabla 4. Caracterización mediante descriptores de peso 100 granos, volumen, porcentaje y textura granos de doce colectas diferenciadas de *Phaseolus vulgaris* “ñuña” procedente de Santiago de Chuco (La Libertad, Perú)

DESCRIPTOR COLECTA	PESO DE 100 GRANOS (g)	VOLUMEN DE 10 GRANOS SECOS (ml)	VOLUMEN DE 10 GRANOS TOSTADOS	PORCENTAJ E (%) DE EXPANSIÓN DE GRANOS	PORCENTAJE (%) DE GRANOS REVENTADOS	TEXTURA DEL GRANO REVENTADO
SUNT 01	53.2	3.9	5.2	133	80	2
SUNT 02	46.6	3.9	5.8	149	90	3
SUNT 03	58.5	4.5	7.0	155	90	3
SUNT 04	37.0	2.9	4.5	155	100	2
SUNT 05	70.9	5.5	8.0	145	80	3
SUNT 06	36.8	2.4	3.2	133	50	1
SUNT 07	48.5	3.6	5.5	152	80	2
SUNT 08	66.0	4.8	6.0	125	70	1
SUNT 09	35.0	2.5	4.0	160	90	2
SUNT 10	49.0	3.8	5.0	132	90	2
SUNT 11	47.5	3.5	5.6	160	100	3
SUNT 12	22.5	3.8	5.5	144	80	2

El análisis de resultados de las estimaciones poblacionales para los valores promedio (\bar{X}) de las

Tabla 5. Estimación de porcentaje y valores promedios de cinco caracteres cuantitativos en colectas de *Phaseolus vulgaris* “ñuña” procedente de la sierra de Santiago de Chuco cultivadas bajo condiciones de costa de Trujillo (Perú)

COLECTAS O ACCESIONES	PORCENTAJES Y PROMEDIO DE CARACTERES CUANTITATIVOS				
	PORCENTAJE DE EMERGENCIA	X DÍA DE LA FLORACION	X NUMERO DE FLORES POR PLANTA	X ALTURA (cm) DE PLANTA EN FLORACION	X DE VAINAS FORMADAS
SUNT 01	64.06	65	9	37.44	7
SUNT 02	4.69	63	11	28.02	5
SUNT 04	87.5	65	6	30.20	4.5
SUNT 05	57.81	65	4	26.12	4
SUNT 06	3.13	70	3	29.80	-
SUNT 07	29.69	69	5	28.63	5
SUNT 08	73.44	65	7	35.03	6.5
SUNT 10	18.75	68	2	30	-
SUNT 11	20.30	66	4	22	4

En lo referente al porcentaje de volumen de expansión de 10 granos reventados, se observa que las colectas con mayor porcentaje son SUNT 09 (160%), SUNT 11 (160%), SUNT 03 (155%), SUNT 04 (115%), SUNT 07 (152%) y SUNT 02 (149%), las que se considerarían altas. Por otro lado, el tamaño del grano promedio del se relaciona con el fenómeno de expansión en la ñuña, es decir, a mayor tamaño del grano, la expansión será mayor.²⁵ Sin embargo, según nuestros resultados, las entradas SUNT 04 y SUNT 09, con valores promedio de 9.8 mm y 9 mm siendo las que mostraron un menor tamaño promedio, presentaron altos porcentajes de expansión (155% y 160%); lo que no concuerda con lo planteado anteriormente. Es necesario resaltar que los genotipos que presentan mayor porcentaje de expansión son los considerados de mayor potencialidad industrial.

En lo concerniente al análisis de resultados relacionados con la calidad del grano tostado o reventado, el cual está asociado con la fácil separación de la testa, la fractura de los cotiledones y la textura o consistencia del grano¹⁶, se observa que las colectas SUNT 02, 03 05 y 11 presentan un buen reventado y textura, mientras que las siete entradas siguientes presentaron textura intermedia aceptable al gusto; siendo la colecta SUNT 08 la única con una textura muy dura, la misma que presentó un porcentaje de expansión muy bajo. En general se observó que las colectas SUNT 03, 05 y 11 fueron sobresalientes en cuanto a su rendimiento, volumen del grano reventado, porcentaje de expansión y textura del grano reventado.

Se hace necesario reforzar que la existencia de esta variabilidad, observada en dichos caracteres, es de importancia a tener en cuenta en un plan de mejoramiento genético, pues permite o facilita la generación de nuevas variedades con mejores características de: rendimiento, volúmenes, porcentajes de expansión y calidad de granos reventados.

De acuerdo a los valores observados para las características cuantitativas que presentaron las colectas cultivadas bajo condiciones de costa de la Provincia de Trujillo, se observa que existe gran variación en los porcentajes de emergencia, donde se aprecia que las colectas SUNT 03, 09, y 12 no germinaron en el campo de cultivo, lo que indicaría falta de viabilidad de las semillas debido al efecto de factores ambientales adversos o por la susceptibilidad a agentes patógenos presentes en el suelo; se observó además que los porcentajes más sobresalientes de germinación se presentaron en las entradas SUNT 01 con 64.06 %, SUNT 04 con 87.5% , SUNT 05 con 57.81% y SUNT 08 con 73.44%. En relación al carácter días a la floración no se encontró marcadas diferencias, lo que indica falta de variabilidad entre colectas; encontrándose, en cambio, marcadas diferencias para el promedio de la altura de planta en la primera floración. Se observa, además, que para los caracteres número promedio de flores por planta y número promedio de vainas formadas por planta, los valores se presentan bastante bajos, esto se explicaría en cierta medida como una consecuencia de la interacción genotipo ambiente que está ocurriendo entre el genotipo particular que posee cada colecta y un medio ambiente con características agroecológicas muy diferente al de su procedencia (la serranía de Santiago de Chuco).

En general, la información en relación a las características fenológicas que prestan cada una de estas colectas cultivadas bajo condiciones agroecológicas de costa norte de la Provincia de Trujillo, reviste importancia debido a que la producción de la “ ñuña” se concentra en pequeños cultivos de las zonas de tierras altas del Perú y Bolivia²⁶, surgiendo frente a esto la interesante posibilidad de cultivar y desarrollar la producción de este recurso en zonas distintas a las tradicionales, para lo cual se recomienda establecer programas de investigación y proyección.

CONCLUSIONES

- Existe una gran variabilidad morfológica entre los granos de las doce colectas de " ñuña" procedentes de la sierra de Santiago de Chuco.
- Existen marcadas diferencias entre los valores promedio para el carácter peso de las semillas entre las colectas.
- Las colectas SUNT 01, 08 Y 10 presentaron menor uniformidad fenotípica para el carácter peso de los granos.
- Las doce colectas estudiadas presentan uniformidad genética para las dimensiones largo y ancho de las semillas.
- Las colectas SUNT 03, 05, 08 Y 11 mostraron los valores más altos para el peso de 100 granos secos.
- Los mayores volúmenes, porcentajes de expansión y mejor textura de 10 granos reventados lo presentaron las colectas SUNT 02, 03, 05 y 11.
- Las entradas SUNT 01, 02, 05 y 08 presentaron un mejor desarrollo fenológico al ser cultivadas bajo las condiciones de costa de Trujillo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carneza LL. Unidad de Recursos Genéticos CIAT. Colombia. 2002
2. CIAT. Seminario. El potencial del frejol y otras Leguminosas de grano comestible en América Latina. Colombia.1973
3. Gutiérrez P, Infante M, Pinchinat A. Situación del Cultivo de frejol en América latina. CIAT. Colombia. 1975
4. Zambrano L. Comparativo de Rendimiento de Siete Líneas de Frejol de grano negro. CANAAN. Ayacucho. 1999
5. Tapia ME. Semillas andinas: El banco de oro. CONCYTEC .Lima- Perú .1993
6. Voysest O. Un cultivo ancestral avanza a la modernidad. CIAT. Colombia.2000.
7. National Research Council. Nunas – popping beans. In: Lost crops of the Incas. Little Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide cultivation. National Academy Press. Washington D.C. p. 78-95. 1989.
8. Gallegos L. Caracterización fenotípica de 22 variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*) tipo ñuña en la Costa Central. Tesis Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima-Perú. 133 p. 1988.
9. Alvarado, Z. Caracterización y correlaciones fenotípicas de frejol reventón (*Phaseolus vulgaris*) en la localidad de Caracancha (Huarochiri-Lima) Tesis UNALM. Lima- Peru165 p. 1997.
10. Meléndez, A. Ensayos comparativos de 4 variedades de frijol reventón en Lima .Tesis UNALM. Lima-Perú. 64 p. 1965.
11. Sánchez – Monge. E. Fitogenética. INIA .Ministerio de Agricultura 2da. Ed. Madrid- España. 1974
12. Cubero, J.I. Introducción a la Mejora genética vegetal. Edit. Mundi-Prensa .2da.Ed. Madrid- España. 2003
13. IBPGR. *Phaseolus vulgaris*. Descriptors. 1982
14. CIAT. Standars Systems for the Evaluation of Bean Germplasm.1987
15. UPOV. Descriptors for *Phaseolus*. Technical Guidelines. 2005
16. Cruz BJ, Camarena F, Boudoin JP, Huaranga A, Blas R. Evaluación Agro morfológica y caracterización Molecular de la "ñuña" (*Phaseolus vulgaris* L.) IDESIA 2009; 27(1): 29- 40
17. Calzada BJ. Métodos Estadísticos para la Investigación. Ed. 2da. Edit. Jurídica. Lima-Perú. 1970
18. Lisson L. Estadística aplicada a la Biología Experimental. Edit. EUDEBA, Buenos Aires. Argentina. 1976.
19. Cantoral QE. Manejo del cultivo de Frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) E.E. Donoso INIA. Lima-Perú. 1995.
20. Allard RW. Principio de la mejora Genética de Plantas. 4 ed. Edit. Omega S.A. Barcelona-España. 1980.
21. Brauer O. Fitogenética Aplicada. Edit. Limusa-Wiley. México D.F. 1969.
22. Blas W. Comportamiento biométrico de una población híbrida resultante del cruzamiento entre líneas consanguíneas incipientes de *Zea mays*. L. Var. Eberta "maíz perla". Trabajo de Habilitación. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 1993.
23. Phoelman J. Mejoramiento Genético de las cosechas .Edit. Limusa S.A. México D.C. 1970
24. Juhenheimer RW. Maíz variedad mejorada. Métodos de cultivo y producción de semillas. Edit. Limusa, México D.F. 1981.
25. Van Been J, Kornegay J, Lareo L. Nutritive value of the Ñuña popping Bean. Econ Bot 1992; 46(2): 164-170
26. Otárola JM, Ligarreto G, Romero A. Comportamiento de frejol común (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo reventón por características Agronómicas y de calidad del grano. Agron Colombiana 2006; 24(1): 7-16.



Efecto citotóxico y genotóxico del aspartame^R a diferentes tiempos y concentraciones en el ciclo celular de *Allium cepa*

Cytotoxic and genotoxic effects of aspartame^R at different times and concentrations in the cell cycle of *Allium cepa*

Fátima Zavala De La Cruz, Juan César Muro Morey, José A. Saldaña Jiménez, Gina Zavaleta Espejo y Fiorela Luján Gonzáles

Laboratorio de Biología de la Reproducción. Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

El aspartame^R es un edulcorante artificial que presenta sospechosos efectos secundarios tóxicos. Por tal motivo, el objetivo de la presente investigación es determinar el efecto citotóxico y genotóxico del aspartame a diferentes tiempos y concentraciones en el ciclo celular de *Allium cepa*. Se expusieron bulbos enraizados de *A. cepa* a soluciones de aspartame a 0,1, 0,3 y 0,4 mg/mL y un control y un testigo durante 24 horas. Se observó una disminución del Índice mitótico y de fases en relación inversa al aumento de la concentración de aspartame; asimismo, se observó un aumento del índice de buds nucleares directamente al aumento de aspartame. Se concluye que el aspartame presenta efecto citotóxico disminuyendo el IM y genotóxico aumentando la frecuencia de buds nucleares.

Palabras clave: Aspartame, *allium cepa*, efecto citotóxico-genotóxico

ABSTRACT

The aspartame^R is an artificial sweetener having suspected toxic side effects. Therefore, the objective of this research is to determine the cytotoxic and genotoxic effects of aspartame concentrations and at different times in the cell cycle of *Allium cepa*. Enraizados bulbs of *A. cepa* to aspartame solutions at 0.1, 0.3 and 0.4 mg / mL and a control and a control were exposed for 24 hours. Mitotic index decreased phase and inversely with the increasing concentration of aspartame was observed; also increasing the rate of nuclear buds directly to increased aspartame was observed. It is concluded that aspartame has cytotoxic effect by decreasing the IM and genotoxic increasing the frequency of nuclear buds.

Keywords: Aspartame, *Allium cepa*, genotoxic-cytotoxic effect

INTRODUCCIÓN

El aspartame es un edulcorante artificial es 180-200 veces mayor que la de la sacarosa y es consumida por millones de personas en aproximadamente 6000 productos como las bebidas gaseosas, goma de mascar, jugos de frutas, gelatinas y jaleas. Se ha asociado con muchos problemas de salud cuando se ingiere después de haber estado expuesto durante más de 30 minutos a temperaturas mayores de 40°C^{1,2}. Es una neurotoxina compuesta por 3 componentes: ácido aspártico 40%, fenilalanina 50% y metanol 10%; de ellos, el metanol es extremadamente tóxico, es fácilmente absorbido después de la ingestión, inhalación o exposición dermal y metabolizado por el hígado en formaldehído³.

La estabilidad del aspartame depende del pH y de la temperatura del medio, es estable a pH 3-5, su mejor estabilidad está a pH de 4.3, es menos estable a pH > 5 y también se hace menos estable con el calor⁴. Dicho endulzante se encuentra naturalmente en carnes, legumbres, productos lácteos y frutas. Fue descubierto en 1965 por James Shlatter⁵. Su uso se inicio hace más de 25 años y está aprobado en más de 90 países. Es un constituyente de más de 6,000 productos, y cuenta con la aprobación de la FDA (por sus siglas en inglés de Food and Drug Administration) en los EE.UU⁶.

Se ha reportado que los aminoácidos del aspartame actúan de manera individual o combinada en el sistema nervioso central (SNC) provocando efectos adversos que incluyen alteraciones neuronales, desórdenes conductuales y enfermedades neurodegenerativas. Si bien, no se ha determinado los mecanismos de acción en estos eventos, se ha descrito que la función de ambos aminoácidos en el SNC es de tipo excitador y que el incremento plasmático de ambos aminoácidos provenientes de la ingesta de alimentos y bebidas elaboradas con este edulcorante, ocasiona sobre excitación neuronal debido a la entrada de iones Ca²⁺ en la célula, favoreciendo una cascada de reacciones con generación de radicales libres (RL)⁷. El consumo habitual del aspartame no sólo puede provocar enfermedades, sino también adicción clínica⁸.

Todo producto que contengan ASP debe ser debidamente etiquetados, en atención a los que presentan la enfermedad hereditaria fenilketonuria, que son sensibles a fenilalanina (uno de los metabolitos componentes)⁹. La fenilketonuria clásica (PKU) se produce por defecto del gen que codifica la enzima fenilalanina hidroxilasa (FAH) ubicado en el cromosoma 12q22-24.1. Se caracteriza por presentar niveles de fenilalanina (FA) en la sangre arriba de 20 mg/dl. Si esta enfermedad no es diagnosticada y tratada precozmente, ocasiona deterioro progresivo en el sistema nervioso central, produciendo retardo mental moderado o profundo¹⁰.

En el Instituto Ramazzini de Italia se estudiaron siete grupos de ratas que fueron alimentadas administrándoles concentraciones de 0 a 100,000 ppm de aspartame en la dieta, desde la 8va semana de vida hasta que se produjo la muerte natural. Las ratas fallecidas fueron sometidas a una biopsia completa para revisar el estado de sus órganos. Como resultado observaron por primera vez de forma experimental que, el aspartame aumenta la incidencia de tumores malignos, incrementa la aparición de linfomas y leucemias, aumenta la incidencia de carcinomas de pelvis renal y uréteres, y por último, aumenta la incidencia de Schwannomas de nervios periféricos; por lo tanto, según la fundación Ramazzini APM es un compuesto multicarcinogénico, donde los efectos son evidentes en dosis diaria de 20 mg/Kg de masa corporal, mucho menor que el actual consumo diario aceptable de 40 mg/Kg y 50 mg/Kg de masa corporal para Europa y Estados Unidos respectivamente¹¹.

En 1938 el uso de *Allium cepa* se introdujo como un sistema de prueba biológico para evaluar los efectos citogenéticos de la colchicina. Desde entonces ha sido un material biológico de amplio uso, debido al crecimiento rápido de sus raíces y la respuesta de su material genético a la presencia de citotóxicos; siendo de esta manera frecuentemente utilizada sus meristemos, para estudios de dinámica celular¹².

Teniendo en cuenta los mencionados antecedentes, es necesario establecer su potencial citotóxico y genotóxico, es por eso que el objetivo de la presente investigación está orientado a determinar el efecto del aspartame a diferentes concentraciones sobre el ciclo celular de *A. cepa*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico

Se utilizó bulbos de *Allium cepa*, de la variedad roja arequipeña, de buen estado fitosanitario, de forma ovalada, tamaño mediano y un peso aproximado de 90 gramos cada uno, los que se adquirirán en el mercado “mayorista” de la ciudad de Trujillo – Perú.

Material Químico

Se utilizó Aspartame en polvo como edulcorante comercial, a concentraciones de 0.00, 0.1, 0.30 y 0.40 mg/mL.

Obtención de raicillas de *Allium cepa*

Se extrajeron las catáfilas y raicillas secas a los bulbos de cebolla, en la parte ecuatorial de los mismos se introdujo 3 ó 4 palitos mondadientes distribuidos equidistantemente para suspender el bulbo en un vaso con agua potable, permitiendo que establezca contacto con el disco germinativo, y así estimular el crecimiento de nuevas raíces.

El tiempo que se dispuso para el enraizamiento de los bulbos de *Allium cepa* fue de 72 horas, con un recambio diario de agua potable a cada vaso, obteniéndose así las raicillas de 2 – 3 cm aproximadamente, necesarias para la investigación.

Exposición de las raicillas de *A. cepa* a las soluciones de Aspartame:

Se prepararon soluciones de Aspartame en vasos de precipitación, donde se dispusieron de la siguiente manera:

- Para el primer tratamiento se utilizó 200 ml de agua potable como testigo a las cero horas.
- Para el segundo tratamiento se utilizó 200 ml de agua potable como testigo a las 24 horas.
- Para el tercer tratamiento se utilizó 20 mg de Aspartame sobre 200 ml de agua potable, para obtener una concentración de 0.1 mg/ml.
- Para el cuarto tratamiento se utilizó 60 mg de aspartame sobre 200 ml de agua potable, donde se obtuvo una concentración de 0.30 mg/ml.
- Para el quinto tratamiento se utilizó 80 mg de aspartame, sobre 200 ml de agua potable, donde se obtuvo una concentración de 0.40 mg/ml.

La exposición de los bulbos enraizados de *A. cepa* a los tratamientos fueron durante 24 horas según un diseño anidado en el que se consideraron 3 bulbos por tratamiento y 3 raicillas por bulbo.

Obtención de los preparados citológicos

Finalizada la exposición de las raicillas de *A. cepa* a las soluciones de aspartame, se procedió a cortar y disponer en viales de vidrio conteniendo fijador carnoy, seguidamente se procedió a la coloración de las raicillas con Orceina acética y HCL 1N en proporción 9:1 respectivamente a 60° C, durante 15 minutos.

Luego, se colocó las raicillas en laminas portaobjetos, se aisló los ápices radiculares, se cubrió con laminillas cubreobjetos y se procedió a realizar la técnica de Squash o aplastamiento la cual se fundamenta en ejercer una presión uniforme con la yema del pulgar sobre la laminilla cubreobjetos, evitando la formación de burbujas.

Recuento celular

Los preparados citológicos se observaron a 400 aumentos en un microscopio compuesto Olympus CX21, donde se llevó a cabo el recuento de aproximadamente 3000 células por lámina, registrando el número de células en interfase, mitosis y posibles células con alteraciones.

Análisis estadístico

Se hizo mediante análisis de varianza ANAVA para comparar los tratamientos del diseño experimental y la Prueba de Duncan, para comparar parejas de tratamientos tomando en cuenta el orden que ocupan en función del rendimiento promedio.

RESULTADOS

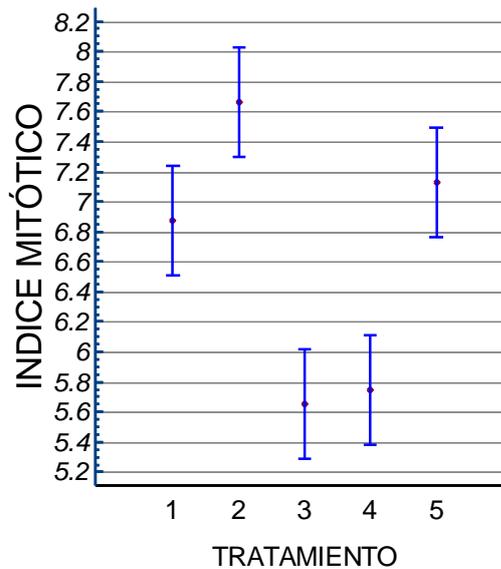
Se observaron valores disminuidos del Índice mitótico de *A. cepa* en los tratamientos a 0,2 y 0.3 mg/mL con respecto a los grupos control (Fig. 1), Asimismo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los valores de profase (Fig. 2), metafase (Fig. 3), anafase (Fig. 4) y telofase (Fig. 5).

Se observó un incremento progresivo del índice de buds nucleares en relación al control a medida del aumento de la concentración de Aspartame^R.

DISCUSIÓN

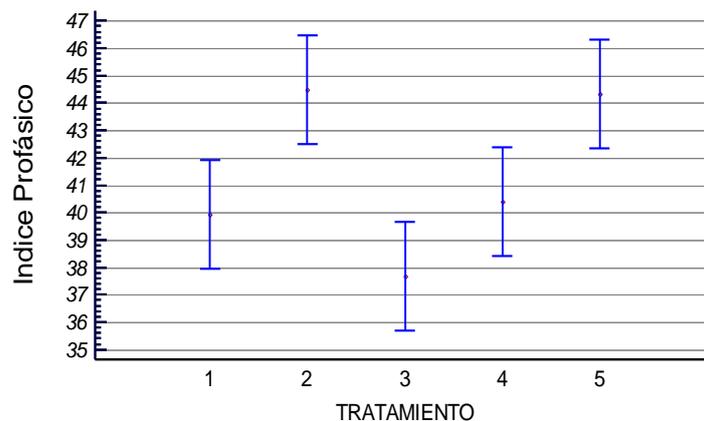
El empleo de edulcorantes acalóricos como sustitutos de todo o parte del contenido en azúcares de comidas y bebidas, ha tenido su máxima expansión en los últimos 35 años y en la actualidad, el Aspartamo (E951) y sal de Aspartamo-Acesulfamo (E962) son edulcorantes autorizados por la Unión Europea (UE)¹³.

La disminución del índice Mitótico (IM) de los tratamientos a 0,3 y 0,4 mg/mL de aspartame^R podría deberse a alteraciones en la maquinaria molecular que controla el paso de la célula de interfase a mitosis por efecto del edulcorante en análisis; consecuentemente conllevando a alteraciones de los índices de fases en células meristemáticas de *A. cepa*.



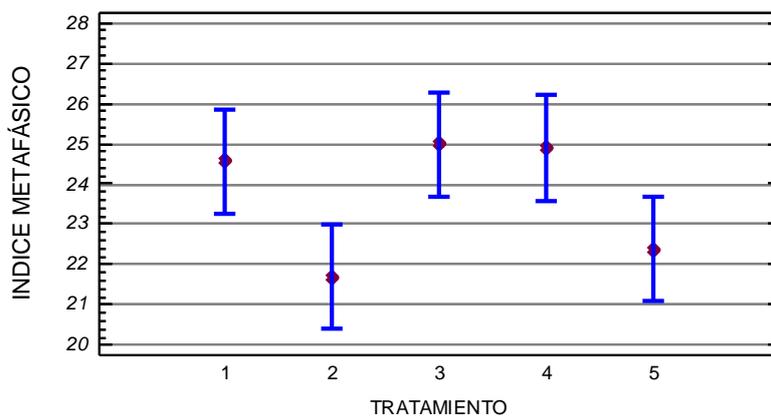
T ₁ = 0.0 mg/mL – 0 horas	T ₄ =0.3 mg/mL– 24 horas
T ₂ = 0.0 mg/mL – 24 horas	T ₅ =0.4 mg/mL– 24 horas
T ₃ = 0.1 mg/mL– 24 horas	

Fig. 1.- Índice mitótico en células meristemáticas de ápices radiculares de *Allium cepa* expuestos a diferentes concentraciones de aspartame^R durante 24 horas



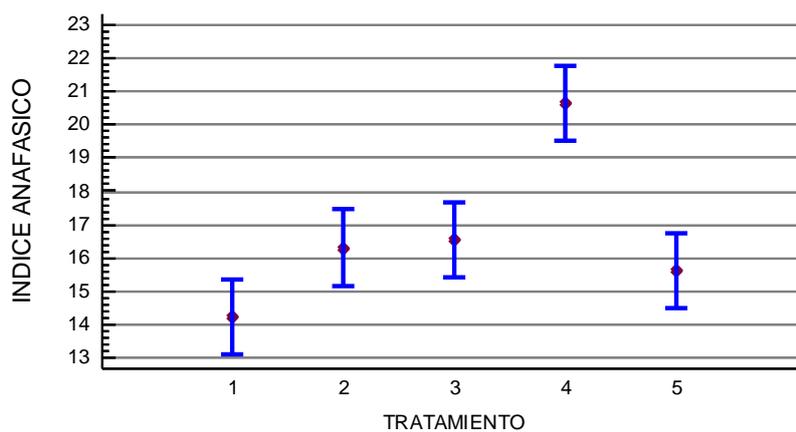
T ₁ = 0.0 mg/mL – 0 horas	T ₄ =0.3 mg/mL– 24 horas
T ₂ = 0.0 mg/mL – 24 horas	T ₅ =0.4 mg/mL– 24 horas
T ₃ = 0.1 mg/mL– 24 horas	

Fig. 2.- Índice Profásico en células meristemáticas de ápices radiculares de *Allium cepa* expuestos a diferentes concentraciones de aspartame^R durante 24 horas.



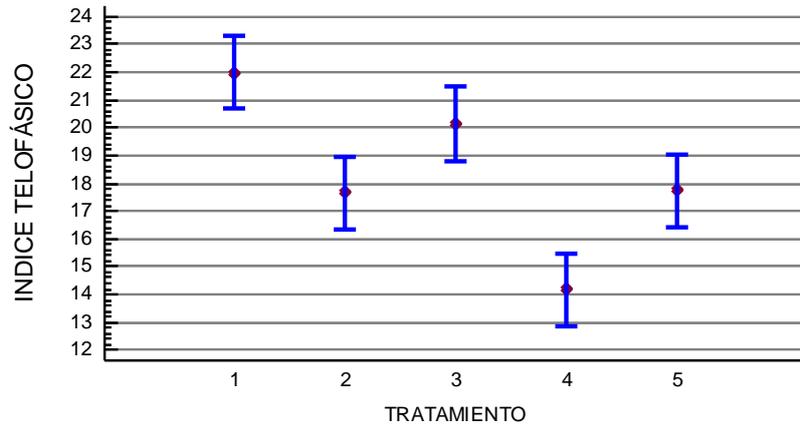
T ₁ = 0.0 mg/mL – 0 horas	T ₄ =0.3 mg/mL– 24 horas
T ₂ = 0.0 mg/mL – 24 horas	T ₅ =0.4 mg/mL– 24 horas
T ₃ = 0.1 mg/mL– 24 horas	

Fig. 3.- Índice Metafásico en células meristemáticas de ápices radiculares de *Allium cepa* expuestos a diferentes concentraciones de aspartame^R durante 24 horas.



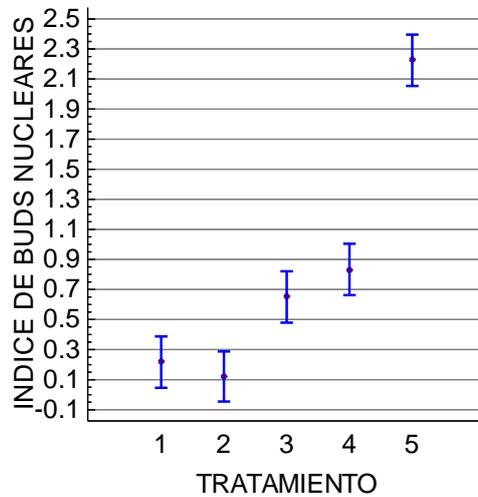
T ₁ = 0.0 mg/mL – 0 horas	T ₄ =0.3 mg/mL– 24 horas
T ₂ = 0.0 mg/mL – 24 horas	T ₅ =0.4 mg/mL– 24 horas
T ₃ = 0.1 mg/mL– 24 horas	

Fig. 4.- Índice Anafásico en células meristemáticas de ápices radiculares de *Allium cepa* expuestos a diferentes concentraciones de aspartame^R durante 24 horas.



T ₁ = 0.0 mg/mL – 0 horas	T ₄ =0.3 mg/mL– 24 horas
T ₂ = 0.0 mg/mL – 24 horas	T ₅ =0.4 mg/mL– 24 horas
T ₃ = 0.1 mg/mL– 24 horas	

Fig. 5.- Índice Telofásico em células meristemáticas de ápices radiculares de *Allium cepa* expostos a diferentes concentrações de aspartame^R durante 24 horas.



T ₁ = 0.0 mg/mL – 0 horas	T ₄ =0.3 mg/mL– 24 horas
T ₂ = 0.0 mg/mL – 24 horas	T ₅ =0.4 mg/mL– 24 horas
T ₃ = 0.1 mg/mL– 24 horas	

Fig. 6.- Índice de Buds nucleares em células meristemáticas de ápices radiculares de *Allium cepa* expostos a diferentes concentrações de aspartame^R durante 24 horas.

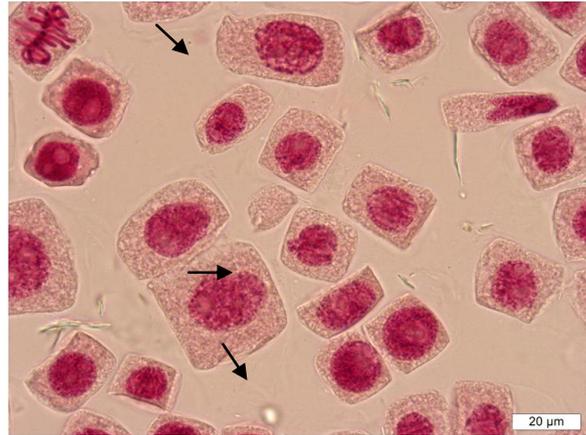


Fig. 7.- Buds nucleares en células meristemáticas de ápices radiculares de *Allium cepa* expuestos a diferentes concentraciones de aspartame^R durante 24 horas.

Las alteraciones observadas en la dinámica del ciclo celular en células meristemáticas de *A. cepa* encuentran sustento con la nefrotoxicidad fetal en ratas asociada con la disminución del peso fetal, incremento del diámetro, perímetro y área nuclear de células de los glomérulos, túbulos contorneados distal y proximal y ductos colectores al ser tratados con 14mg de aspartame por kg de peso durante nueve, diez y once días¹⁴.

El incremento progresivo de Buds Nucleares en función al aumento de la concentración de Aspartame^R evidencia la posible genotoxicidad de este edulcorante cuyo probable origen es el resultado de la eliminación de material genético excedente derivado de procesos de poliploidización por efecto de una hiperamplificación del DNA en la fase o por efecto de una respuesta fisiológica celular seguido de micronúcleos o minicélulas^{15,16}.

Otros mecanismos, consideran que la formación de nuclear buds es resultado de roturas de puentes anafásicos, o de cromosomas con migración retrasada que no son incluidos totalmente en el núcleo principal, y que estarían sustentadas por la presencia de centrómero o telómero positivo en losbuds¹⁶.

Los buds nucleares como alteraciones nucleares y las alteraciones de la dinámica celular encontrados en este estudio podrían deberse también a metabolitos residuales como producto de descomposición del aspartame^R dado que libera fenilalanina, ácido aspártico y metanol, que se metaboliza en una molécula de formaldehído, sustancia altamente reactiva clasificada como carcinógeno. Sin embargo, las cantidades ingeridas de estas sustancias peligrosas, suelen estar muy por debajo de los niveles de riesgo. Por lo tanto, no es raro que cantidades muy pequeñas de edulcorantes puedan modificar la microbiota, ya que estas actúan como la primera línea de defensa intestinal y están por lo tanto en contacto directo con el edulcorante y sus compuestos metabólicos. Durante la realización de una dieta hipocalórica para el control del peso con el uso de edulcorantes como el aspartamo se puede alterar el funcionamiento óptimo de la microbiota intestinal^{13,17}.

CONCLUSIONES

- El Aspartame^R disminuye el índice Mitótico y de fases de células meristemáticas de *Allium cepa* expuesta durante 24 horas.
- El Aspartame^R aumenta el índice de Buds nucleares progresivamente al aumento de su concentración en células meristemáticas de *A. cepa* expuesta durante 24 horas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Galdámez M. Cuantificación de aspartame en las bebidas carbonatadas de dieta de tres marcas que se expenden en supermercados de la ciudad de Guatemala .Tesis de Pregrado; Universidad de San Carlos de Guatemala. 2011
2. Cruzado S, Figueroa L, Guzmán A, Hernández D, et al. Efectos a nivel conductual y citogenético de los edulcorantes artificiales que con tienen aspartame en ratones de la especie *mus musculus*. Universidad nacional autónoma de México. 2005
3. Morales J. Cuantificación de Aspartame y Acesulfame-k por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Tesis de Pregrado; Universidad de Honduras. 2007.
4. Hernández A, Palomo E, Santos A. Dulzura Percibida de Aspartame y Sacarosa en Yogur. *Naturaleza y Desarrollo* 2004; 2(1): 11-15
5. Gayol, F. Un análisis del consumo de aspartamo desde la perspectiva de programas de investigación. *Problemas del Conocimiento en Ingeniería y Geología*, Vol. I Editorial Universitat, Córdoba, 2003.
6. Calzada R, Ruíz M, Altamirano N, Padrón M. Características de los edulcorantes no calóricos y su uso en niños. *Acta Pediátrica México* 2013; 34:141-153.
7. Labra N, Vences A, Hernández N, Gómez J, et al. Efecto de aspartame, fenilalanina y ácido aspártico sobre los niveles de glutatión y peroxidación de lípidos en cerebro de rata. *Arch Neurocienc* 2008; 13(2): 79-83.
8. Roberts HJ. Aspartamo. *Revista de Medicinas Complementarias. Medicina Holística*. N° 65. 1995.
9. Zhu Y, Guo Y, Ye M, James F. Separation and Simultaneous Determination of Four Artificial Sweeteners in Food and Beverages by Ion Chromatography. *J Chromatograph* 2005; 1085:143-146.
10. Cornejo V, Manríquez V, Colombo, M, Mabe P, et al. Fenilquetonuria de diagnóstico neonatal y lactancia materna. *Rev Méd Chile* 2003; 131: 1280-1287.
11. Soffritti M, Belpoggi F, Degli D, Lambertini L, et al. First Experimental Demonstration of the Multipotential Carcinogenic Effects of Aspartame Administrated in the Feed to Sprague-Dawley rats. *Environ Health Perspectives* 2006; 114(3): 379-385.
12. Kram W. Efectos citotóxicos de extractos crudos de “Tirica”. Test de *Allium cepa* .FEQYN-UNAM-Modulo de Farmacia y Bioquímica. Catedras De Microbiología Gral (C.Bioq.) y Farmacotecnia I y II (C.Fcia.). 2005
13. García-Almeida JM, Casado GM, García Alemán J. Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. *Nutr Hosp* 2013; 28(Supl. 4):17-31.
14. Martins MRI, Azoubel R. Effects of aspartame on fetal kidney: A morphometry and stereological study. *Int J Morphol* 2007; 25(4): 689-694.
15. Fernandes TC, Mazzeo DEC, Marin-Morales MA. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to triXuralin herbicide. *Pesticide Biochem & Physiol* 2007; 88: 252-259.
16. León-Incio J, Prieto Z, Quijano-Jara C, Fernández R, et al. Efecto genotóxico del dicromato de potasio en eritrocitos de sangre periférica de *Oreochromis niloticus* (tilapia). *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2008; 25(1): 51-58
17. Zaninovic V. Emergencias en salud pública. *Colombia Médica* 2002; 33(3): 129-130.



Efecto antagónico *in vitro* de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinerea* procedente de cultivos de *Vitis vinífera*

In vitro agonist effect of *Clonostachys rosea* on the growth of *Botrytis cinerea* from cultures of *Vitis vinifera*

Manuel R. Rodríguez Lacherre y Julio R. Chico Ruíz

Laboratorio de Fitopatología. Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo.

rola_rob10@hotmail.com

RESUMEN

En el Perú como en el resto del mundo, existen numerosos hongos que causan enfermedades disminuyendo la productividad agrícola. El control fúngico se hace mediante el uso de sustancias químicas que producen deterioro del medio ambiente. La presente investigación tiene como objetivos: (i) determinar el efecto antagónico de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinerea*, hongo patógeno de frutos de *Vitis vinifera* Red globe "vid" de interés económico, entre Enero a Noviembre del 2013 y (ii) establecer una metodología que permita la fácil determinación de *B. cinerea* como hongo causante de enfermedad "podredumbre gris" en los frutos de "vid". Se observó que todas las colonias de *C. rosea* mostraron alta capacidad antagónica (grado 1 en las Escala de Elias y Arcos, 1984) y un grado 4 de micoparasitismo en la misma escala (completo y efectivo). Se concluye que la *C. rosea* presenta un efectivo efecto antagónico sobre *B. cinerea* y que la metodología empleada permite una fácil determinación del parasitismo de *V. vinifera* por *B. cinerea*.

Palabras claves: Hongos, antagonismo, *Clonostachys rosea*, *Botrytis cinerea*.

ABSTRACT

In Peru, as in the rest of the world, there are numerous fungi that cause diseases declining agricultural productivity. Fungal control is done through the use of chemical substances producing environmental degradation. This research aims to: (i) determine the antagonistic effect of *Clonostachys rosea* on *Botrytis cinerea*, pathogenic fungus fruits of *Vitis vinifera* Red globe "vid", from January to November, 2013 and (ii) establish a methodology that allows easy identification of *B. cinerea* fungus as cause disease, "gray rot" in the fruits of "vid". It was observed that all the colonies of *C. rosea* showed antagonistic High Capacity (grade 1 in the Scale of Elias and Arcos, 1984) and a grade 4 mycoparasitism on the same scale (full and effective). We conclude that *C. rosea* presents an effective antagonistic effect on *B. cinerea* and used methodology allows easy determination of parasitism in *V. vinifera* by *B. cinerea*.

Keywords: fungi, antagonism, *Clonostachys rosea*, *Botrytis cinerea*, *Vitis vinifera*.

INTRODUCCIÓN

En el Perú la vid, *Vitis vinifera*, es considerada como importante cultivo frutícola que se produce durante todo el año, sobre todo en Piura, y tiene a Estados Unidos, el Reino Unido y los países bajos como los principales mercados importadores^{1,2}. Sin embargo, además, de los deterioros enzimáticos y desintegraciones, los hongos desempeñan un papel fundamental como causantes de podredumbres^{3,4,5}.

Al mismo tiempo, uno de los efectos más importantes de los ataques de hongos sobre la parte comestible de la uva es la inducción a la **micotoxicosis**; es decir, enfermedades ocasionadas por el consumo de alimentos invadidos por hongos que producen sustancias tóxicas denominadas micotoxinas, que pueden causar graves enfermedades a nivel hepático, renal, del aparato circulatorio y de los órganos hematopoyéticos, aun cuando sean ingeridos en dosis pequeñas⁴.

Durante años se han empleado fungicidas sintéticos para controlar patógenos postcosecha; sin embargo, se ha observado que estos compuestos causan resistencia en microorganismos, incluyendo a los hongos y representan un potencial riesgo para la seguridad del medio ambiente y la salud humana. En la búsqueda de alternativas naturales para el control de pudriciones postcosecha se ha valorado el empleo de extractos vegetales, antagonismo microbiano (control biológico) y el quitosano^{5,6}.

El control biológico con microorganismos antagonistas comenzó a ser investigado de forma constante a partir de los años 80^{5,6}. Se ha utilizado *Trichoderma harzianum* en el control de hongos como *Botrytis cinerea* en uvas postcosecha, controlando parcialmente la enfermedad *in situ*. También se ha usado contra *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en “manzanas”, protegiendo durante dos meses al fruto *in situ*^{7,8,9}.

Una alternativa no química para el combate de estas enfermedades es el uso del biocontrolador *Clonostachys rosea* (= *Gliocladium roseum*), hongo habitante del suelo con elevado potencial antagonístico que coloniza las plantas vivas como endófito, digiere el material en el suelo como saprofito y también es conocido como un parásito de otros hongos y de nematodos^{9,10}. Los mecanismos de biocontrol atribuidos a *C. rosea*, son: micoparasitismo, competencia por los nutrientes y antibiosis, siendo el micoparasitismo el principal mecanismo de acción de este hongo; este biocontrolador cubre al hongo, ataca y penetra en sus células, causándole un daño extensivo alterando y degradando la pared celular, causa retracción de la membrana plasmática y desorganización del citoplasma^{11,12,13,14,15}.

No se ha registrado trabajo alguno en el Perú respecto del control biológico de *C. rosea* sobre *B. cinerea*, hongo productor de “podredumbre gris” enfermedad en frutos de *V. vinifera*. Teniendo en cuenta este antecedente y ante el peligro potencial que representa para la salud pública la acción de este hongo como productor de micotoxinas en la parte comestible, se planteó una investigación dirigida a: (i) determinar el efecto antagonístico de *Clonostachys rosea f. rosea* sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea* aislado de *V. vinifera* cultivada en el proyecto CHAVIMOCHIC (Perú), y (ii) implementar una metodología que permita la fácil determinación de *B. cinerea* como causante de enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material de estudio

- Cepa de *Clonostachys rosea f. rosea*, proporcionada por la Sub-Dirección de Control Biológico del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA-Perú).
- Cepa de *Botrytis cinerea* (Pers.) Fr., se obtuvo en campo, fue transportada y cultivada en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad.
- Plantas de *Vitis vinifera* var. Red Globe “vid” obtenidas en el viñedo de la Agrícola Santa Marcela E.I.R.L. Guadalupe, Pacasmayo. La Libertad.

Toma de muestra

Se llevó a cabo el muestreo aleatorio, recolectando aquellos frutos maduros que muestren síntomas y signos de enfermedad fúngica, como: necrosis, pudrición, presencia de esporas, micelio, etc. Las muestras fueron transportadas en cajas de cartón, previamente acondicionadas con papel y algodón, al Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Trujillo, para su análisis correspondiente.

Procesamiento

Utilizando estereoscopio y microscopio compuesto, se procedió a examinar las muestras por extracción directa de las estructuras fúngicas presentes o realizando cortes histológicos de las partes lesionadas, buscando fructificaciones fúngicas. Las estructuras fúngicas encontradas se sembraron en medios de cultivo contenidos en placas Petri y tubos de ensayo, e incubadas a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizaron monocultivos de cada una de las estructuras fúngicas que iban creciendo, y luego, a partir de ellos se llevaron a cabo los microcultivos correspondientes para su determinación final^{10,11,12}.

En las placas Petri preparadas con anterioridad y que contenían Agar Sabouraud-Dextrosa al 4%, se depositaron discos de micelio (2 mm de diámetro) de cada aislamiento de *Cl. rosea* y de *B. cinerea* en posiciones opuestas, y equidistantes; de tal modo que, quedasen enfrentados uno al otro a 5 cm. de distancia aproximadamente.

En las placas de los testigos se inoculó en el centro de la placa, un fragmento de micelio de cada uno de los hongos a evaluar. Los ensayos se repitieron cinco veces.

Análisis de la muestra

Se tomaron nota de las características que mostraban las lesiones causadas por el hongo fitopatógeno y las que presentan éstos, tanto en la macro, mono y microcultivo; es decir, color, aspecto de la colonia, textura, crecimiento vegetativo y elementos de reproducción.

Determinación de la especie

Se llevó a cabo, teniendo en cuenta las características de los macro y microcultivos del hongo hallado, confrontándolas con las claves taxonómicas existentes para este tipo de hongos fitopatógenos^{10,11,19,21}.

Control biológico “in vitro” (Prueba de antagonismo o cultivos duales)

La prueba de antagonismo se realizó utilizando placas Petri conteniendo 10 ml de medio de cultivo DSA al 4%, en donde se sembraron el hongo *Cl. rosea* en un extremo y el hongo *B. cinerea* en el otro extremo de la placa (aproximadamente a 7 cm de distancia) Se utilizaron 5 placas de Petri por experiencia, incubándolas a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y, posteriormente, se realizaron observaciones y mediciones cada 24 horas hasta que el desarrollo fúngico cubrió completamente la placa Petri. En las placas testigos se inocularon de manera individual, los hongos a evaluar.

Los ensayos se repicaron cinco veces por cada enfrentamiento; al final de la incubación a temperatura ambiente, se evaluó el grado de antagonismo mediante la escala que aparece en la Tabla 1, creada por Elías y Arcos (1984)¹².

Tabla 1. Escala creada por Elías y Arcos (1984) para evaluación de la capacidad antagónica, de acuerdo a la medida de la invasión de la superficie, colonización y esporulación del antagonista sobre cada uno de los hongos fitopatógenos.

Grado	Capacidad antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
1	Invasión de $\frac{1}{4}$ de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
2	Invasión de $\frac{1}{2}$ de la superficie de la colonia hongo patógeno.
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno, esporulación sobre ella.

Asimismo, se evaluó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR), empleando la fórmula de Ezziyyani ⁽¹⁸⁾ $\text{PICR} = (R_1 - R_2)/R_1 \times 100$, donde R_1 es el radio del patógeno testigo y R_2 es el radio del patógeno en enfrentamiento.

Mecanismo de acción de *Clonostachys rosea* sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea* hongo patógeno en frutos de “vid”

Una vez que *Cl. rosea* alcanzó invadir al hongo postcosecha, se tomó una porción de los hongos con parte de medio de cultivo en la franja de unión, se colocó en un portaobjetos con una gota de azul de Amann y se observó al microscopio compuesto el mecanismo de acción del biocontrolador.

Diseño experimental ¹³

Se realizó un diseño completamente al azar, con un número de tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento más, incluyendo a ambos microorganismos como testigos: uno del otro-

RESULTADOS

Evaluación del Antagonismo in vitro

Durante el tiempo que duró el experimento a nivel de laboratorio se pudo observar que todas las colonias alcanzaron el grado 2, (según escala de Elías y Arcos (1984), con tendencia a grado 1; es decir, altamente antagonistas pues lograron poco a poco colonizar y esporular la totalidad de la superficie del patógeno.

Evaluación del Micoparasitismo

Todas las colonias presentaron, al final de la experiencia, un grado 4 de micoparasitismo, que según escala de Elías y Arcos corresponde a un mico parasitismo completo y efectivo.

Evaluación de la Antibiosis (Halo de inhibición y PICR)

No se pudo observar la formación de ningún halo entre las colonias en confrontación. No obstante, el efecto antibiótico se pudo cuantificar mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR).

Evaluación de la competencia por sustrato o nutrientes

Una marcada competencia por sustrato fue analizada en todas las placas de enfrentamiento dual, lo que indicaría un claro mecanismo de acción antagónica y elevada virulencia de *C. rosea* sobre *B. cinerea*.

Después de las observaciones realizadas al microscopio, se determinó que el mecanismo de acción de *Cl. rosea* como biocontrolador sobre *B. cinerea* aislados e identificado en frutos de la “vid” fue el de micoparasitismo. Las hifas de *Cl. rosea* cubrieron a las hifas del hongo a controlar, degradando el micelio del hongo controlado.

Tabla 1: Mediciones promedio del diámetro de los monocultivos de *Clonostachys rosea* y *Bothritis cinerea*, a 3, 7, 10, 13 y 15 días de sembrado.

Tratamientos Días	T1	T2
	<i>Clonostachys rosea</i> (cm)	<i>Bothritis cinerea</i> (cm)
3	2,0	3,9
7	3,4	4,8
10	4,6	7,2
13	6,7	8,0
15	8,0	8,6

Fuente: Datos obtenidos en trabajo de laboratorio y en gabinete.

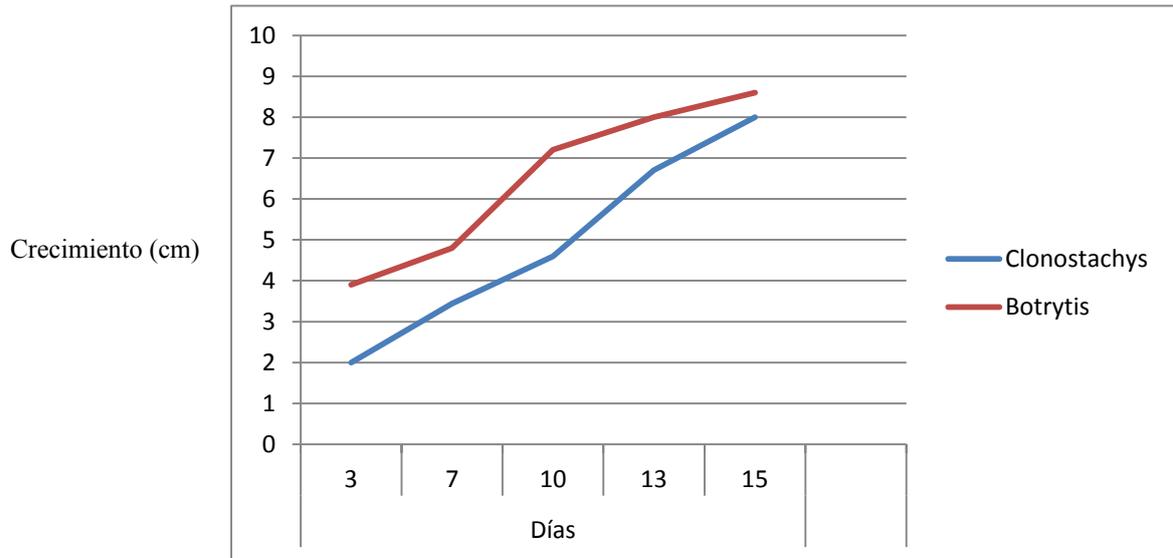


Fig. 1: Mediciones promedio del diámetro de los monocultivos de *Clonostachys rosea* y *Botrytis cinerea*, a 3, 7, 10, 13 y 15 días de sembrado.

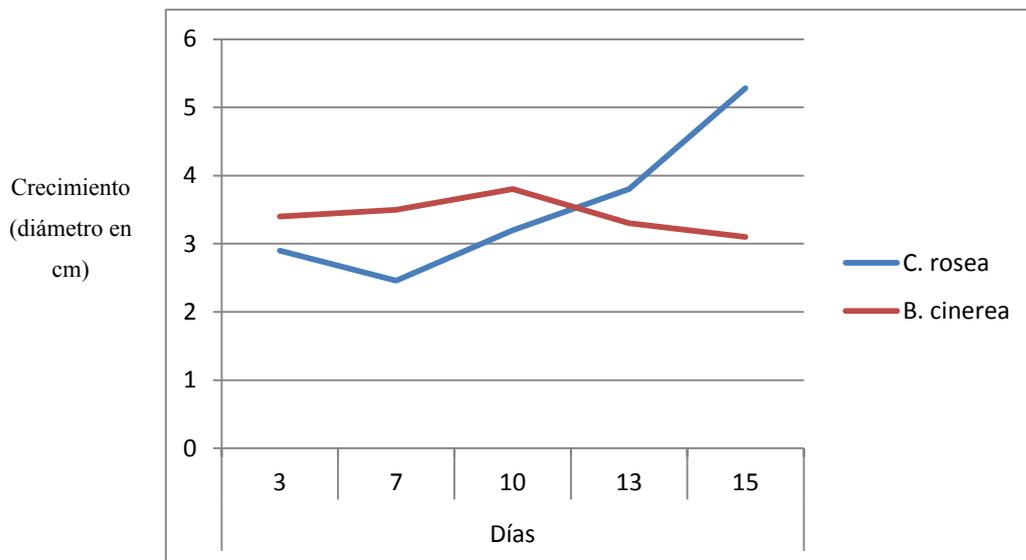


Fig. 2: Medición promedio del diámetro del cultivo dual de *Clonostachys rosea* vs *Botrytis cinerea*, a 3, 7, 10, 13 y 15 días de sembrado

Tabla 2: Medición promedio del diámetro del cultivo dual de *Clonostachys rosea* vs *Botrytis cinerea*, a 3, 7, 10, 13 y 15 días de sembrado.

Cultivo dual		T3	
Días		<i>C. rosea</i> vs. <i>B. cinerea</i>	
3		2,90	3,40
7		2,46	3,50
10	3,20	3,80	
13		3,80	3,30
15		5,28	3,10

Fuente: Datos obtenidos en trabajo de laboratorio y en gabinete.

Tabla 3: Evaluación del porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Clonostachys rosea* sobre *B. cinerea*, a 3, 7, 10, 13 y 15 días de sembrado.

CULTIVO DÍAS	<i>Botrytis cinerea</i> PICR (%)
3	12,80
7	27,08
10	47,2
13	58,75
15	63,95

Fuente: Datos obtenidos en trabajo de laboratorio y en gabinete.



Fig. 3: Inhibición del crecimiento radial de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinerea*, a los 15 días de sembrado.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que *Cl. rosea* inhibe el crecimiento miceliar del hongo fitopatógeno *B. cinerea*. En las mediciones a los 15 días de sembrado de *Cl. rosea* sobre *B. cinérea*, se determinó que hay diferencia significativa en el crecimiento de ambos. Asimismo, al comparar los tratamientos *Cl. rosea* sobre *B. cinerea* enfrentados, se observa la diferencia significativa en su crecimiento, esto nos muestra claramente la inhibición del hongo fitopatógeno.

Esto coincide con lo encontrado por otros autores en sus investigaciones, quienes determinaron que el control de *B. cinerea* por *G. roseum* en “fresa” (tanto en hojas como en frutos) siempre fue igual o superior al logrado con fungicidas^{9,13,14}. Asimismo, según los datos obtenidos se puede observar que el porcentaje de inhibición (PICR) de *B. cinerea* es moderado con un grado de antagonismo de tipo 2.

Según Rivera Fonseca¹⁵, *B. cinerea* presenta enzimas antioxidantes, además de producir cutinasa y poligalacturonasa que lo hace ser más resistente al ataque por *Cl. rosea*; es por ello, que al día 10 se observó que la colonia de *B. cinerea* se resiste y trata de desplazar a *Cl. rosea*; en este momento se da un incremento en la incidencia de la enfermedad y hace que se note más el efecto del biocontrolador en el combate de la misma.

Entre las enzimas líticas que produce *Cl. rosea* se reportan las quitinasas, glucanasas, proteasas y celulasas, algunas están relacionadas con el fenómeno de la antibiosis y micoparasitismo al degradar la pared celular y parasitar al hospedero²².

Guédez et al¹⁷, señalan que la cantidad de metabolitos producida por el controlador depende de los nutrientes y no siempre está relacionada con la habilidad para controlar la enfermedad. Sin embargo,

García et al¹⁸; indicó una correlación positiva entre la cantidad de enzimas y el porcentaje de micoparasitismo, y reducción de la enfermedad.

Las condiciones que pueden afectar el desempeño de *G. roseum* como biocontrolador están: la concentración del inóculo del antagonista y del patógeno; y las condiciones ambientales; al respecto, mencionan que *Cl. rosea* incrementa su actividad supresiva según se incrementa la temperatura de 10 a 25°C, y que a partir de los 15°C la germinación de los conidios del biocontrolador es mayor al 80%, incrementándose también con el aumento de temperatura. Debido a ello, la cepa de *Cl. rosea* creció menos que la cepa del hongo patógeno; pero, esto no influyó en la inhibición; porque, *C. rosea* sólo actúa efectivamente cuando es aplicado al mismo tiempo o antes de que ocurra la infección por parte de *B. cinerea* o cualquier otro patógeno¹⁵.

Al respecto, Mont¹⁹, refiere que *Cl. rosea* tiene una alta capacidad de competencia por el sustrato; como consecuencia de ello, el organismo afectado tiende a entrar en un estado de latencia, que podría ser por deficiencia de nutrientes o la presencia de cierto nivel de sustancias inhibitorias, lo cual impide que siga creciendo; coincidiendo, con los resultados obtenidos en el presente trabajo, como lo demuestra la notable acción inhibitoria que ejerce *Cl. rosea* sobre *B. cinerea*.

Cl. rosea mostró una alta capacidad para parasitar a *B. cinerea*; además, presenta una alta actividad competitiva frente al fitopatógeno, al impedirle su crecimiento en el mismo sustrato. Al respecto, se ha mencionado que el éxito de los antagonistas en la planta también puede ser gobernada por su capacidad de colonizar y utilizar los sustratos en la superficie de la planta, permitiendo que compita efectivamente con los fitopatógenos¹⁹.

Al respecto, se debe tener en cuenta que el micoparasitismo es un proceso complejo de quimiotropismo cuya acción antifúngica específica es desconocida; sin embargo, se ha propuesto una serie de etapas por la que *Cl. rosea* lleva el antagonismo, las cuales son: (a) reconocimiento, (b) penetración de la hifa, (c) invasión y secreción de enzimas hidrolíticas²⁰, siendo éste último el de mayor interés, ya que no se ha determinado con exactitud el mecanismo mediante el cual se controla la expresión de cada una de las enzimas involucradas; así como, su orden. Durante la etapa de reconocimiento, se lleva a cabo un proceso de quimiotropismo, el cual es mediado por el reconocimiento de lectinas, que se encuentran incorporadas en el hongo fitopatógeno, y cuando el micoparásito reconoce al hongo, las hifas de *Cl. rosea* lo atrapan y lo rodean formando estructuras apresoras²¹.

Asimismo, en cuanto a la penetración de la hifa, ésta se realiza mediante la degradación de la pared celular del hongo fitopatógeno, por medio de la secreción de enzimas que actúan sinérgicamente, y a las que se les denomina en conjunto como las enzimas degradadoras de pared celular, conformado por β -1,3-glucanasas, quitinasas y proteasas, las cuales se inducen por la presencia de las paredes celulares de hongos fitopatógenos²².

Hernández-Lauzardo et al²¹ señalan, al respecto, que en el micoparasitismo, la formación y secreción de estas enzimas es el paso fundamental para la destrucción del hongo fitopatógeno, y que el mecanismo de acción del hongo antagonista, que en éste caso es *Cl. rosea*, puede ser variable y depende del hongo a controlar y del aislamiento. Asimismo, indican que *Cl. rosea* protege las plantas contra *B. cinerea* mediante la supresión de la producción de esporas; además, que se han encontrado a sus hifas alrededor del micelio, que penetran y crecen dentro de las hifas y conidias de *B. cinerea*.

Cabe señalar, que el estudio del controlador *Cl. rosea* es muy limitado y poco conocido sobre todo en el Perú. Hasta el momento los resultados indican la capacidad inhibitoria de *Cl. rosea* sobre *B. cinerea*; por lo tanto, el presente trabajo es un modelo para seguir investigando en busca de un biocontrolador para diferentes hongos fitopatógenos que causan daño económico en cultivos de “vid” en el Perú.

CONCLUSIONES

- El grado de antagonismo de *Cl. rosea* sobre *B. cinerea* corresponde al grado 2.
- El porcentaje de inhibición (PICR) de *B. cinerea* por *Cl. rosea*, a los 15 días de sembrado, fue de 63,95%.
- *Cl. rosea* demostró, en cultivos duales, ser un efectivo controlador biológico de *B. cinerea* en cultivo de “vid”, inhibiendo el crecimiento del fitopatógeno mediante su capacidad antagonica.
- Los mecanismos de acción antagonica efectiva de *C. rosea* sobre *B. cinerea* son el micoparasitismo, antibiosis y competencia por sustrato o nutrientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agrobanco. Cultivo de la vid. Lima-Perú. 2008. www.agrobanco.com.pe/cultivo/delavid.pdf.
2. Reyes M, Gómez-Sanchez I, Espinoza C, Bravo F, Ganoza L. Tablas Peruanas de composición de alimentos. 8ª ed. Instituto Nacional de Salud. Lima-Perú. 2009.
3. Agrios C. Fitopatología. 3ª ed. México DF: Edit. Limusa S.A. 2004.
4. Fraire-Cordero M, Yáñez M, Nieto D, Vázquez G. Hongos patógenos en fruto de “fresa” (*Fragaria ananassa* Duch.) en postcosecha. Rev Mex Fitopatol 2003; 2: 285-91
5. Umaña G. Control biológico de enfermedades postcosecha de frutas. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica. En: III Congreso de Fitopatología. 1996.
6. Hernández-Lauzardo A, Bautista-Baños S, Velásquez-Del Valle S. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Rev Mex Fitopatol 2007; 25: 66-74
7. Llácer G, López M, Trapero A, Bello A. Patología Vegetal. 2ª ed. México DF: Edit. Grupo Mundi-Prensa, S.A. 2000.
8. Molina G, Zaldúa S, Gonzáles G, Stowasser S. Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. Laboratorio de Patología Forestal. Universidad de Concepción. Chile. 2006.
9. Chávez N, Wang A. Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la “fresa” mediante *Gliocladium roseum*. Rev Agron Costarricense 2004; 28(2): 73-85
10. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Manual de procedimientos para verificación de calidad de agentes biológicos para el control de plagas agrícolas, producidos por laboratorios en convenio con el SENASA. Directiva General N° 24/2001-SENASA-DGSV-PNCB. Lima. Perú. 2001.
11. Barnett H, Hunter B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4ª ed. The American Phytopathological Society, S.A. EE.UU. 1998.
12. Ezziyyani M. Biocontrol mediante una combinación de microorganismos antagonistas. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia-España. 2004.
13. Peng G, Sutton J, Evan P. Effectiveness of honeybees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. Canadian J Plant Pathol 1992; 14(2):117-129.
14. Sutton J, Yu H. *Gliocladium roseum*: a cosmopolitan antagonist of *Botrytis cinerea* and other pathogens in crops. In: Cong Annual APS, División Caribe. San José, Costa Rica. 1997.
15. Rivera-Fonseca A. Evaluación y caracterización de la actividad antifúngica de la especie *Quillaja Saponaria* Mol. cultivada *in vitro* en *Botrytis Cinerea* Pers. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Temuco, Chile. 2007.
16. Yu H, Sutton J. Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. Canadian J Plant Pathol 1997; 19(3):237-246
17. Guédez CL, Cañizalez L, Castillo C, Olivar R. Efecto antagonico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* spp). Rev RSVM 2009; 29:34-38
18. García S, Landeras E, Alzugaray R, Braña M. Podredumbre gris de la “vid”. Consejería del medio ambiente y desarrollo rural. Principado de Asturias. España. 2007.
19. Mont R. Manejo integrado de las enfermedades de las plantas. SENASA. Lima-Perú. pp. 50-56. 2002.
20. Vazques-Garcidueñas S, Leal-Morales C, Herrera-Estrella A. Analysis of the β -1, 3-glucanolytic system of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. App Environ Microbiol 1998; 64(4): 1442-1446
21. Hernández-Lauzardo A, Bautista-Baños S, Velásquez-Del Valle M. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Rev Mex Fitopatol 2007; 25: 66-74
22. Ordoñez V. Producción de enzimas microbianas y sus aplicaciones en la industria. En: II Cong Intern Microbiol Indust. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. 2000.



Efecto del Temephos sobre la respuesta inmune innata y adaptativa de *Mus musculus* BALB/c inoculado con *Candida albicans*

Effect of Temephos on the innate and adaptive immune response of *Mus musculus* BALB/c inoculated with *Candida albicans*

Manuela Luján Velásquez, Raúl Anhuamán Azabache, Jaime Agreda Callirgos, Jaime Agreda Gaitán, Eduardo José Muñoz Ganoza y Gerardo Alayo Espinoza

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

RESUMEN

Se determinó el efecto de tres concentraciones de Temephos sobre la respuesta inmune innata y adaptativa del ratón, *Mus musculus* BALB/c, inoculados con *Candida albicans*. Para ello, se trabajó con cuatro grupos de animales: tres experimentales, a los cuales se les administró Temephos en dosis de 0.1, 1 y 10 mg/kg de peso por tres días consecutivos y un grupo control, al cual se le administró buffer fosfato salino estéril, en el tercer día los ratones fueron inoculados con una suspensión de *C. albicans* a una concentración de 9×10^8 . A las 24 horas de la inoculación se realizó el recuento diferencial de leucocitos en sangre periférica, se evaluó el peso de órganos linfoides como timo y bazo, así como, la actividad fagocítica de los macrófagos peritoneales y la producción de anticuerpos. Se detectó que conforme aumenta la concentración de Temephos disminuyen el porcentaje de neutrófilos y linfocitos en sangre, el peso de órganos linfoides como el timo y el bazo y la actividad fagocítica de los macrófagos peritoneales; sin embargo, no se encontró variación en los títulos de anticuerpos producidos por los ratones de los cuatro grupos. Se concluye que, a concentraciones elevadas, el Temephos afecta al sistema inmunológico de *M. musculus* BALB/c.

Palabras clave: Plaguicidas, Temephos, Sistema inmune, Recuento Diferencial de Leucocitos sanguíneos, Fagocitosis, Timo, Bazo.

ABSTRACT

Effect of three concentrations of Temephos on the innate and adaptive immune response of *Mus musculus* BALB/c inoculated with *Candida albicans* was determined. For this, the animals were distributed in four groups: three experimental groups, to which they was administered Temephos in doses of 0.1, 1 and 10 mg/kg of weight for three consecutive days and a control group inoculated with sterile phosphate buffer saline. On the third day, the mice were inoculated with a suspension of *C. albicans* to a concentration of 9×10^8 . After 24 hours of inoculation, was a differential count of leukocytes in peripheral blood, it was determined the weight of lymphoid organs such as thymus, spleen, and evaluated the phagocytic activity of peritoneal macrophages and production of antibodies. It was determined that increases with the concentration of Temephos decrease the percentage of neutrophils and lymphocytes in the blood, the weight of lymphoid organs such as the thymus and spleen, and the phagocytic activity of the peritoneal macrophages and that was not found variation in the titles of antibodies produced by the mice of the four groups. Elevated concentrations of Temephos, in conclusion, affects the *Mus musculus* BALB/c immune system.

Keywords: Pesticides, Temephos, Immune System, Differential count of blood Leukocytes, phagocitosis, Thymus, Spleen, antibody.

INTRODUCCIÓN

Debido a su alta actividad biológica y en algunos casos de su persistencia en el ambiente, el uso de plaguicidas puede causar efectos adversos a la salud humana y al ambiente^{1,2,3}. La exposición a ciertos plaguicidas puede deprimir el sistema inmunológico, cuyas evidencias se basan en estudios experimentales de cultivos de células inmunes humanas, en pruebas con animales de laboratorio, estudios con animales silvestres como peces, aves y mamíferos marinos, en algunos estudios epidemiológicos, y en observaciones clínicas de reacciones alérgicas en el ser humano⁴.

Los insecticidas organoclorados: lindano, aldrín, dieldrín, clordano y heptacloro; los organofosforados: diclorvos, malatión, paratión etílico y clorpirifos; así como, los carbamatos: carbofuran, aldicarb y carbarilo, han sido registrados dentro de las sustancias que alteran el sistema inmunológico de diversas especies animales⁵.

En efecto, se ha descrito que la exposición a muchos plaguicidas produce cambios significativos en la estructura y función del sistema inmunitario, incluidas: la reducción y alteración de la actividad de linfocitos T, reducción de la respuesta proliferativa de linfocitos, reducción de la actividad de las células agresoras y alteración de los niveles de anticuerpos en la circulación. Ejemplo de ello, es que la exposición a los plaguicidas organoclorados aldrín y dieldrín, reduce la resistencia de los ratones a las infecciones virales, mientras que el DDT disminuye la producción de anticuerpos en especies tanto de mamíferos como de aves^{5,6}.

Investigaciones epidemiológicas han ligado los disolventes con la esclerodermia, otras han asociado sustancias como el mercurio y algunos pesticidas como factor de riesgo ocupacional en el desarrollo del lupus eritematoso sistémico⁶, un moderado incremento del riesgo de la misma enfermedad por cosas tales como la exposición a productos del tratamiento del pelo (tintes, permanentes)⁷, el uso de anticonceptivos orales⁸. En ratones, han mostrado posibles efectos ligados a la enfermedad en el disolvente tricloroetileno. La terapia hormonal sustitutiva ha sido asociada moderadamente al desarrollo del lupus y de la esclerodermia, la esclerosis múltiple, a sustancias como el clordano, los pesticidas (como los organofosforados) o disolventes⁹.

En relación a los plaguicidas organofosforados y los carbamatos, estudios clínicos han determinado la posibilidad de que estos se unan con las esterases y alteren esas proteínas vitales unidas a las membranas que ayudan a las células del sistema inmunitario a interactuar con los organismos extraños y destruirlos. En efecto, el paratión retrasa la generación de anticuerpos y suprime la respuesta de la célula-T en los cultivos celulares, mientras que una exposición crónica de baja intensidad al malatión puede debilitar varias respuestas diferentes del sistema inmunológico; por su parte, el larvicida batex, que es usado en el control de vectores, ha mostrado tener poco efecto nocivo sobre el sistema inmune, aunque, constituyen alto riesgo para niños y ancianos con sistema inmune deficiente^{10,11}.

En el Perú, para el control del vector transmisor del dengue se emplea el Temefos (Fosforotionato de o, o, o, o'-tetrametil-o, o'-tio-di-p-fenileno) o Abate que es un larvicida organofosforado usado a nivel mundial en campañas de salud pública para el control de larvas de mosquitos en sus criaderos, especialmente de los géneros *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*, *Simulium*, *Mansonía*, *Psorophora* y *Culiseta*, vectores de enfermedades que afectan al ser humano, tales como paludismo o malaria, dengue, tifo y oncocercosis^{12,13}. En la provincia de Trujillo se ha usado intensamente temefós a partir del 2000, cuando se presentaron los primeros casos de dengue en los distritos de esta provincia, llegando a presentar un índice aéxico de 23%; en la actualidad, la enfermedad se ha extendido a otras zonas del país^{14,15}.

La toxicidad de temefos es moderada a extremadamente tóxico para aves, en ellas se han observado los siguientes síntomas de intoxicación: lagrimeo, miosis, salivación, erizamiento de las plumas, congestión traqueal, debilidad muscular, astenia, ataxia, inmovilidad, taquicardia, taquipnea, temblores y muerte. El faisán, paloma y gorrión se encuentran entre las especies de pájaros más susceptibles al Temefos; sin embargo bajo condiciones de uso recomendado este plaguicida no constituye un riesgo para las aves silvestres. Para los organismos acuáticos muestra una toxicidad variable, en insectos y crustáceos es moderada a extremadamente alta, en peces de ligera a extremadamente alta, la toxicidad depende del tipo de formulación; el compuesto grado técnico es moderadamente tóxico, mientras que el concentrado emulsionable y el polvo humectable son alta a extremadamente tóxicos^{12,13}.

Debido al intenso uso de insecticidas, existe un creciente interés de las agencias regulatorias internacionales de evaluar sus efectos sobre el sistema inmune, basado en observaciones de

poblaciones expuestas, que han presentado diferentes alteraciones inmunológicas manifestadas como alergias y grados variables de inmunosupresión, manifestaciones que han sido corroboradas en estudios con animales de laboratorio, en los cuales se ha podido identificar en algunos casos las células y muchas de las vías afectadas^{16,17}. Se sabe, por ejemplo, que los organofosforados paratión, malatión, diclorvos, dimetoato afectan la inmunidad humoral, celular y los mecanismos inespecíficos, así como, una reducción y alteración en las poblaciones de células T, reducción de la respuesta de los linfocitos, disminución de la actividad de las células agresoras naturales y reducción de las concentraciones de anticuerpos circulantes¹⁸. Hay evidencia también que estos cambios pueden ir acompañados por incremento en el riesgo de enfermedades infecciosas y cánceres asociados con la inmunosupresión; aunque la evidencia no es concluyente, sí es suficiente para provocar una preocupación seria y tomar medidas que prevengan la exposición⁵.

Teniendo en cuenta la importancia que reviste el conocimiento de los efectos adversos de los plaguicidas, en particular de aquellos que el MINSa utiliza con elevada intensidad en la zona norte del Perú, se realizó una investigación tendiente a evaluar el efecto del Temephos sobre la respuesta inmune innata y adaptativa de *Mus musculus* BALB/c inoculados con *C. albicans*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material de estudio

- 20 ejemplares de *Mus musculus* BALB/c “ratón” obtenidos en el Instituto Nacional de Salud y divididos para el estudio, en cuatro grupos de igual número
- Cultivo en medio Sabouraud de *Candida albicans* proporcionado por la Cátedra de Micología de la Universidad Nacional de Trujillo (Perú)
- Temephos (Fosforotionato de o, o, o, o'-tetrametil-o, o'-tio-di-p-fenileno) en polvo proporcionado por el MINSa

Siembra de *Candida albicans* y Preparación del antígeno.

Se sembró *Candida albicans* en Agar Sabouraud y se incubó a 37°C por 24 horas. Luego de ese tiempo se procedió a cosechar en solución salina fisiológica, se le dio tratamiento térmico de 100°C por 30 minutos. Posteriormente se estandarizó a una concentración de 9×10^8 cel/mL.

Evaluación del efecto del Temephos sobre la respuesta inmune innata y adaptativa de *Mus musculus* BALB/c.

Para la evaluación del efecto de Temephos, el tratamiento se realizó de la siguiente manera durante tres días:

- Grupo control, no se administrará Temephos, únicamente PBS.
- Grupo 1: Se le aplicó 0.1 mg/Kg de Temephos en PBS vía oral Grupo 2: Se le aplicó 1 mg/ Kg del Temephos en PBS vía oral Grupo 3: Se le aplicó 10 mg/ Kg de Temephos en PBS vía oral

A los cuatro grupos de ratones, luego de la dosificación con Temephos, en el día 3 fueron inoculados vía intramuscular con 1 mL de antígeno de *C. albicans* previamente preparado a una concentración de 9×10^8 cel/mL¹⁸.

Evaluación del efecto de Temephos

A las 24 hs luego de la inoculación con *C. albicans*, se evaluaron los siguientes parámetros: Conteo global de leucocitos, conteo diferencial de leucocitos, peso relativo de timo y bazo, estudio de función opsonofagocítica de macrófagos peritoneales y determinación de los niveles de anticuerpos anti-*C. albicans*¹

• Recuento diferencial de leucocitos

- Para la realización del recuento diferencial de los leucocitos, se tomaron muestras de sangre de cada uno de los ratones correspondientes a los cuatro grupos de trabajo, se realizaron frotis los cuales fueron coloreados mediante tinción Wright¹⁹. Luego, se realizó el conteo de cada tipo de leucocito, estableciendo el porcentaje en base a un total de 100 leucocitos
- Estudio de la actividad fagocítica de los macrófagos peritoneales.
- A dos ratones de cada grupo, se les inoculó, 0,5 mL de suspensión de *C. albicans* con una concentración de 4×10^6 bact. /mL por vía intraperitoneal, luego de 6 horas se sacrificó a los ratones obteniéndose con una torunda líquido peritoneal posteriormente para la realización de los

frotis que fueron coloreados mediante la técnica de Giemsa. El porcentaje de fagocitosis se determinó en base al número total de células que han fagocitado²⁰.

- **Determinación del peso de timo y bazo.**
- Los ratones restantes fueron sacrificados, a los cuales se les extirpó el timo y bazo para determinar el peso de cada uno de estos órganos¹¹.
- **Determinación de la producción de anticuerpos anti- *C. albicans***
- Para la producción de anticuerpos, luego de la primera inoculación, a los 7 días se realizó una nueva inoculación de los ratones con *C. albicans*
- **Evaluación de la producción de anticuerpos**
- Para la evaluación de la producción de anticuerpos se tomaron muestras de sangre para la obtención de suero, a los 7 días después de cada inoculación. Luego, se determinó la producción mediante la prueba de aglutinación cualitativa y posteriormente se determinó los títulos de anticuerpos anti-*C. albicans*.

Tratamiento estadístico.

El análisis estadístico se realizó mediante las pruebas de Análisis de Varianza “ANOVA” y pruebas de Tukey, empleando el paquete estadístico MINITAB versión 14²¹.

RESULTADOS

En la evaluación del efecto de tres concentraciones de Temephos sobre la respuesta inmune innata de *Mus musculus* BALB/C inoculados con *C. albicans*, se observó que el número de leucocitos, en los animales dosificados con las dosis de Temephos, presentan tendencia a la disminución de neutrófilos y linfocitos conforme aumenta la concentración de Temephos dosificada, mientras que el número de monocitos se mantuvo constante (Tabla 1). En el análisis de varianza y en la prueba de Tukey se encontró que existe diferencia significativa entre los porcentajes de neutrófilos y de linfocitos de los diferentes grupos. En el análisis de varianza y en la prueba de Tukey no se encontró diferencia significativa entre los grupos para los porcentajes de monocitos.

En relación al efecto de Temephos sobre los órganos linfoides como el timo y el bazo, se encontró que el peso de estos órganos disminuyeron levemente en los ratones que fueron dosificados con Temephos respecto a los ratones del grupo control conforme aumenta la concentración de este plaguicida (Tabla 2). En el análisis de varianza no se encontró diferencia significativa entre el tamaño de estos órganos evaluados, sin embargo, en la prueba de Tukey, de comparación entre grupos se observa diferencia significativa entre el grupo control y el grupo experimental 3 y entre los grupos experimentales 1 y 3.

En la evaluación de la actividad fagocítica, se observó que en los animales tratados con las dosis de Temephos, los macrófagos peritoneales experimentaron una disminución en la actividad fagocítica conforme aumenta la concentración de Temephos, tal como se aprecia en la Tabla 3. Lo cual se confirma con el análisis de varianza donde se encontró diferencia significativa entre los grupos evaluados, excepto en los grupos 2 y 3 de acuerdo a la prueba de Tukey.

En la evaluación del efecto de las tres concentraciones de Temephos sobre la producción de anticuerpos anti-*C. albicans* por *M. musculus*, se encontró que los títulos de anticuerpos obtenidos en los grupos experimentales fueron semejantes que los del grupo control (Tabla 4), no existiendo diferencia estadística significativa.

DISCUSIÓN

Desde la Segunda Guerra Mundial los insecticidas químicos han sido ampliamente difundidos en la prevención de enfermedades transmitidas por vectores y en la agricultura para el control de plagas. Un estudio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) mostró que la mayor demanda de plaguicidas para el control de vectores de enfermedades de importancia en salud pública en áreas urbanas, fue la de insecticidas en las formas de concentrado emulsionable o concentrados de volumen ultra bajo¹⁰. En estas áreas los organoclorados han sido progresivamente reemplazados por piretrinas, piretroides y organofosforados (clorpirifos, diclorvos, fenitrotión, fentión, malatión y temefós)²².

Tabla 1. Porcentaje promedio de leucocitos en sangre de *Mus musculus* BALB/c dosificados con diferentes concentraciones de Temephos

Leucocitos	Porcentaje promedio (%) de leucocitos de <i>Mus musculus</i> BALB/C según la concentración de Temephos			
	Grupo Control	Grupo experimental		
		1 0.1mg/Kg	2 1mg/Kg	3 10mg/Kg
Monocitos	11	12	10	12
Neutrófilos	48	45	36	29
Linfocitos	40	43	38	29
Eosinófilos	1	0	1	0

Tabla 2. Peso relativo del timo y del bazo de *Mus musculus* BALB/C dosificados con diferentes concentraciones de Temephos

Grupos de tratamiento con Temephos	Peso promedio (mg) del timo y del bazo de <i>Mus musculus</i> BALB/c	
	Timo	Bazo
Control	0.25	0.4
Experimental 1 (0.1mg/Kg)	0.22	0.38
Experimental 2 (1mg/Kg)	0.21	0.35
Experimental 3 (10mg/Kg)	0.19	0.29

Tabla 3. Porcentaje promedio de macrófagos peritoneales de *Mus musculus* BALB/c dosificados con diferentes concentraciones de Temephos, con actividad fagocítica y sin actividad fagocítica frente a *Candida albicans* en la prueba de actividad fagocítica, In vivo

Grupos de tratamiento con Temephos	Porcentaje de macrófagos peritoneales	
	Con actividad fagocítica	Sin actividad fagocítica
Control	62.2	37.8
Experimental 1 (0.1mg/Kg)	45.6	54.4
Experimental 2 (1mg/Kg)	42.8	57.2
Experimental 3 (10mg/Kg)	37.9	62.1

Tabla 4. Porcentaje promedio del título de anticuerpos anti-*Candida albicans* producidos por *Mus musculus* BALB/c, de acuerdo a la concentración de Temephos

Grupos de Trabajo según Concentración de Temephos (mg/ Kg)	Título de anticuerpos anti- <i>C.albicans</i>
Control (0 mg/Kg)	80
Experimental 1 (0.1mg/Kg)	80
Experimental 2 (1mg/Kg)	80
Experimental 3 (10mg/Kg)	40

Actualmente, existe un creciente interés de las agencias regulatorias internacionales de evaluar sus efectos sobre el sistema inmune, basado en observaciones de poblaciones expuestas, que han presentado diferentes alteraciones inmunológicas manifestadas como alergias y grados variables de inmunosupresión¹⁶.

Numerosas investigaciones reportan afectaciones de la inmunidad humoral, celular y los mecanismos inespecíficos, producidas por organofosforados como: paratión, malatión, diclorvos, dimetoato¹⁸. Lo que concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación en la que la administración del organofosforado Temephos, demostró que la disminución en los porcentajes promedios de leucocitos, adquiere importancia a medida que se aumenta la concentración de Temephos, tal como lo demuestra la evaluación estadística en la prueba de análisis de varianza que indica diferencia significativa entre los porcentajes promedios de neutrófilos y linfocitos en los ratones administrados con 1 y 10 mg/Kg de Temephos en relación con los ratones del grupo control que no fueron administrados con esta sustancia. Resultado que difiere de Aportela y cols¹¹ quienes al utilizar Batex encontraron un aumento de neutrófilos a concentraciones mayores de esta sustancia, pero concuerda con los porcentajes de monocitos que no mostraron alteración en los grupos de ratones evaluados.

En relación al peso del timo y del bazo, el análisis de varianza indica que no hay diferencia significativa entre los pesos de los órganos evaluados de los ratones administrados con diferentes concentraciones de Temephos y el grupo control que no fueron administrados con esta sustancia.

En los ratones administrados con las dosis de Temephos, se produjo una disminución evidente en el porcentaje de fagocitosis (actividad fagocítica) por los macrófagos peritoneales, el análisis estadístico establece una diferencia significativa entre los ratones que no fueron administrados con Temephos con los administrados con 10 mg/kg. Estas células fagocíticas presentan gran capacidad de generación de radicales libres, razón por la cual cuentan con eficaces defensas como la enzima glutatión peroxidasa y catalasa y cuando existe una sobreproducción, como puede suceder luego de la exposición a Temephos, se saturan los mecanismos enzimáticos defensivos que disminuyen la capacidad de protección y producen daños importantes que pueden afectar su función como células presentadoras de antígenos y por consiguiente la subsecuente activación de linfocitos *T* y *B*²³.

Los mecanismos a través de los cuales las sustancias organofosforados producen inmunosupresión no han sido totalmente definidos, pero si se han demostrado los daños a nivel celular y en menor medida a nivel bioquímico tal como los indican^{24,25,26}.

Sin embargo, en la evaluación del efecto del Temephos sobre la inmunidad humoral en relación a la producción de anticuerpos anti- *C.albicans* no se encontró diferencia entre el título de anticuerpos producidos por los ratones del grupo control que no fueron dosificados con Temephos y los títulos de anticuerpos producidos por los ratones de los grupos experimentales que fueron dosificados con Temephos. Este resultado puede deberse a que el Temephos únicamente fue dosificado en tres oportunidades y los ratones no estuvieron expuestos por mucho tiempo a esta sustancia, por lo que no afectó su sistema inmunológico.

En esta investigación los resultados obtenidos deben ser considerados de importancia ya que dan indicio del daño producido a nivel del sistema inmunológico, por lo que las investigaciones deben ser

ampliadas y establecer una mayor exposición al Temephos y evaluar su efecto sobre el sistema inmunológico.

CONCLUSIONES

- No se encontró variación en el título de anticuerpos anti-*C.albicans* producidos por *Mus musculus* BALB/c dosificados con tres diferentes concentraciones de Temephos empleadas.
- Por lo que se concluye que a concentraciones elevadas de Temephos se afecta al sistema inmunológico

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vega, S. Toxicología I: evaluación epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, OPS, OMS, 69 pp. 1985.
2. Benerjee B. The influence of various factors on immune toxicity assessment of pesticide chemical. *Toxicol Letters* 1999; 107: 21-31.
3. Maroni M, Fait A, Colosio C. Risk assessment and management of occupational exposure to pesticides. *Toxicol Letters* 1999; 107: 145-153.
4. Committee of the environmental and occupational health assembly of the American Thoracic Society. Health effects of outdoor air pollution. State of the art. Part 1. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 3-50
5. Repetto R, Baliga S. Pesticides and the Immune System: The Public Health Risks. World Resources Institute: Washington, D.C., 1996.
6. Cooper GS. Occupational risk factors for the development of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2004; 31: 1928-1933.
7. Cooper GS. Smoking and use of hair treatments in relation to risk of developing systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2001; 28 (12): 2653-2656.
8. Mayes MD. Epidemiologic studies of environmental agents and systemic autoimmune diseases. *Environmental Health Perspectives* 1999; 107 (55).
9. Parks CG, Cooper GS. Occupational exposures and risk of systemic lupus erythematosus: a review of the evidence and exposure assessment methods in population and clinic based studies. *Lupus* 2006; 15 (11): 728-736
10. Hill EF. Organophosphorus and carbamates pesticides, In: D. J. Hoffman, B. A. Rattner, G. A. Burton Jr. and J. Cairns Jr. (Eds), *Handbook of Ecotoxicology*, CRC Press, Inc., Florida, 243-274 . 1995.
11. Aportella P, Batista A, Betancourt E, Font O, Colón M, Urdaneta L. Efecto de dosis única Batex sobre el sistema inmune en ratones B6D2FI. *Anuario Toxicol* 2001; 1(1): 78-84.
12. Cabezas C. Dengue en el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Rev peru med exp salud pública* 2005; 22 (3): 24-28.
13. Protocolo para determinar la susceptibilidad o resistencia a insecticidas de mosquitos de la especie *Aedes aegypti*. Documento propuesto por la Red Latinoamericana de Control de Vectores. Ciudad de Iguazú, 23 de octubre de 2005. Disponible en: www.mundosano.org/documentos.
14. Chávez J, Córdova O, Vargas F. Niveles de susceptibilidad de temefos en el vector transmisor del dengue en Trujillo, Perú. *An Fac Med Lima*. 2005;66 (1):53-56.
15. Pereira E. Resistencia de *Aedes aegypti* a temefos en comunas del estado de Ceará. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39(3): 259-263.
16. WHO. Environmental Health Criteria 93: Chlorophenols other than pentachlorofenol. World Health Organization. 1989. Geneva, 207 pp.
17. Desi I, Varga L, Farkas L. Studies on immunosuppressive effect of organochlorine and organophosphoric pesticides in subacute experiment. *J Hyg Epidem. Microbiol Immunol*. 1978; 22:115-22.
18. Alzamora L, Galván P, Alvarez E, Torres D, Colona E, Aliaga M, Marcelo A. Producción de IFN γ en cultivos de linfocitos humanos por efecto de los extractos metanólicos de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum*, Chacón (Brassicaceae). *Rev peru biol* 2007; 13(3): 207-209.
19. Rose N, Friedman H. *El Laboratorio en Inmunología Clínica*. 2da ed. Edit. Médica Panamericana. Bs. As. Argentina. 1984.
20. Bellanti JA. *Inmunología II*. 3era. ed. Edit. Panamericana. 1986.
21. Córdova Z. *Estadística Inferencial -Aplicaciones*. Lima – Perú. Edit. Moshera.S.R.L. 1999.
22. WHO. Urban vector and pest control: eleventh report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series No. 767), 1988.

23. Abbas AK, Lichtman AH. *Inmunología Celular y Molecular*. 5ta ed. Edit. GEA Consultoría. Madrid – España. 2006.
24. Rodgers K. The immunotoxicity of pesticides in rodents. *Human and Experimental. Toxicology*. 1995; 14: 111-3.
25. Wiltout RW, Ercogivich CD, Ceglowski WS. Humoral immunity in mice following oral administration of selected pesticides. *Bull Environm Contam Toxicol* 1978;20: 423-31.
26. World Health Organization (WHO). *Environmental Health Criteria 180: Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals*. Geneva 1996;110-2.



Susceptibilidad al lambda-dialotrina y patrones de esterasas en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura)

Susceptibility to lambda-cyhalothrin and esterase patterns in natural populations of *Aedes aegypti* in the districts of Laredo (La Libertad) and Sullana (Piura)

Judith Roldán y Juan Guzmán

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

RESUMEN

Se determinó la susceptibilidad al lambda-dialotrina de las poblaciones naturales de *Aedes aegypti* con el estado actual de las esterasas. Para ello se utilizaron 480 zancudos hembras de *Ae. aegypti* procedentes de poblaciones naturales de Sullana (Piura) y Laredo (La Libertad) y una cepa de referencia Rockefeller. La susceptibilidad fue determinada mediante el método de la botella propuesto por el CDC, para ello se estableció un grupo control (etanol absoluto) y un grupo problema (lambda-dialotrina 10µg/botella) con cuatro repeticiones de 20 zancudos cada uno; las esterasas fueron determinadas mediante un SDS – PAGE y sometidas a los sustratos alfa naftil acetato y beta naftil acetato. Se encontró un elevado porcentaje de mortalidad de poblaciones adultas de *Ae. aegypti* del distrito Laredo y Sullana al ser expuestas al insecticida; asimismo se identificaron 14 bandas de esterasas, de las cuales once presentan afinidad por el alfa naftil acetato y tres por el beta naftil acetato; se identificó una esterasa con mayor intensidad de coloración (E6). Por lo tanto, se concluye que las poblaciones hembras de *Ae. aegypti* Laredo y Sullana presentan susceptibilidad a lambda-dialotrina y que presentan 13 bandas no comunes (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E10, E11, E13, E14) y una banda común (E12) en relación a la población Rockefeller.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, susceptibilidad, lambda-dialotrina, Sullana, Laredo, esterasas.

ABSTRACT

Susceptibility to lambda-cyhalothrin in natural populations of *Aedes aegypti* with the current state of the esterases was determined. To do this, we used 480 female mosquitoes *Ae. aegypti* from natural populations of Sullana (Piura) and Laredo (La Libertad) and a reference strain of Rockefeller. The susceptibility of lambda-cyhalothrin was determined by the method of the bottle proposed by the CDC, for that it was set up a control group (absolute ethanol) and a problem group (lambda-cyhalothrin 10µg/bottle) with four repetitions of 20 mosquitoes each, the esterases were determined by SDS - PAGE and subjected to alpha naphthyl acetate substrates and beta naphthyl acetate. We found a high percentage of mortality of the adult populations of *Ae. aegypti* from Laredo district and Sullana when exposed to the insecticide; also were identified 14 esterase bands, eleven of which have affinity for the alpha naphthyl acetate and three by the beta naphthyl acetate, it was also identified one strongly staining esterase (E6). Therefore, it is concluded that female populations of *Ae. aegypti* from Laredo and Sullana presented susceptibility to lambda-cyhalothrin and present 13 no common bands (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E10, E11, E13, E14) and a common band (E12) regarding to Rockefeller population.

Keywords: *Aedes aegypti*, susceptibility, lambda-cyhalothrin, Sullana, Laredo, esterases

INTRODUCCIÓN

Los programas de control de vectores buscan interrumpir el desarrollo de mosquitos antropofílicos, dentro de ellos *Aedes aegypti*, a través de estrategias^{61,2,3,4,5,6}. Una de las acciones prioritarias realizadas por autoridades de salud es el control químico; al ser utilizado en larvas y adultos es un elemento indispensable para los programas de control del dengue. En la selección del producto químico y su concentración adecuada se debe considerar el costo de aplicación del insecticida, su eficacia biológica contra el vector, la facilidad de manipulación y aplicación además de su toxicidad en especies no involucradas⁷. Existen cuatro grupos de insecticidas que constituyen el 90% del mercado en salud pública: los organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides.

Los piretroides interfieren con las funciones del sistema nervioso y actúan sobre el axón en los sistemas central y periférico mediante la interacción con los canales de sodio y su forma de acción pueden ser de cuatro tipos: sobre-excitación nerviosa sin contracciones musculares, daño de los nervios motores, contracciones musculares de larga duración y obstrucción total de los impulsos nerviosos. La muerte puede sobrevenir a causa de la combinación de dos o más de estos mecanismos o de la sucesión de los cuatro³.

El insecticida lambdacialotrina es un piretroide fotoestable que afecta a la fibra nerviosa mediante la unión a una proteína que regula el canal de sodio. Cuando los canales de sodio no pueden cerrarse por acción del insecticida, las células nerviosas producen descargas repetitivas y eventualmente causar temblores seguidamente de parálisis y muerte del insecto. Uno de los principales obstáculos en la aplicación del control químico, lo constituye la resistencia que ha desarrollado este vector a una variedad cada vez más elevada de insecticidas organosintéticos¹³⁻¹⁴. En la última década fueron desarrolladas algunas pruebas bioquímicas que permiten la identificación de las enzimas detoxificadoras¹⁹: la glutatión – S – transferasas (GST), la superfamilia del citocromo P450 monooxigenasas (P450) y las esterasas (EST).

Las esterasas son hidrolasas que tienen la capacidad de romper enlaces éster de compuestos xenobióticos²⁰. Las esterasas son ubicuas e importantes en el metabolismo de diferentes clases de compuestos exógenos y endógenos, puesto que desempeñan un número crucial de funciones en el desarrollo y conducta del insecto: degradación odorante y funciones relacionadas en la digestión, reproducción y síntesis de muchas moléculas como las feromonas, pero la principal función es la de proporcionar mecanismos de protección al convertir sustancias tóxicas en hidrosolubles²⁰.

La importancia de conocer el grado de susceptibilidad del insecticida empleado mediante bioensayo (método CDC) es que se obtiene una respuesta toxicológica directa del *Ae. aegypti* a una dosis del insecticida empleado; además, los datos obtenidos son integrados a una serie de pruebas bioquímicas aplicadas a la misma población de mosquitos. La electroforesis en gel de poliacrilamida permite determinar los patrones de esterasas en las poblaciones en estudio mediante la presencia de bandas de esterasas que fueron nombradas A o B, de acuerdo a la especificidad de la reacción con los sustratos inespecíficos de la enzima α y β naftil acetato⁴⁰.

El presente trabajo se logró comparar la susceptibilidad al lambdacialotrina de las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* con el estado actual de las esterasas como mecanismo de resistencia empleando poblaciones naturales procedentes de la Provincia de Laredo (La Libertad) y de la Provincia de Sullana (Piura).

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de insectos.

Se utilizó una población de *Aedes aegypti* recolectado de criaderos naturales en diferentes estadios larvarios y pupas, en el distrito de Laredo de la provincia de Trujillo; Región La Libertad – Perú y del distrito de Sullana de la provincia de Piura; Región Piura - Perú; y una cepa de referencia Rockefeller, suministrada por el programa de entrenamiento y control de enfermedades tropicales (PECET - Colombia) en estadio de huevo.

Insecticida utilizado.

Lambdacialotrina con 97,8% de pureza²³, proporcionados por la Dirección Ejecutiva de Salud Ambiental (DESA), procedente de sus respectivos lotes.

Se estableció un grupo problema (10µg/botella) de los distritos estudiados (Laredo y Sullana) y un grupo testigo (etanol absoluto) para cada uno de ellos. Para la impregnación del insecticida lambdacialotrina y del etanol en las botellas de vidrio se usó el método de impregnación de botellas propuesto por Brogdon y Mac Allister³³.

Los bioensayos se realizaron siguiendo el método de la botella del CDC³³. Cada bioensayo consistió en dos réplicas del tratamiento (A1 y B1) y un testigo (T1) para cada población en estudio; una réplica estuvo representada por una botella donde se colocaron 20 hembras del mosquito G1 con tres días a doce días de vida²¹ para exponerlo a la dosis diagnóstica del insecticida (10 µg) y tiempo diagnóstico que se estableció a partir de la cepa de referencia Rockefeller (35 minutos).

Determinación de alfa y beta esterasas mediante electroforesis.

Para determinar las esterasas inespecíficas presentes en los especímenes de *Ae. aegypti* se utilizaron los métodos propuestos por Rodríguez *et al*⁷⁻³⁹.

RESULTADOS

En las Fig. 1 y Fig. 2 se detallan el porcentaje de mortalidad de las poblaciones de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller expuestos durante 60 minutos al piretroide lambdacialotrina fueron similares (Figs. 1 y 2).

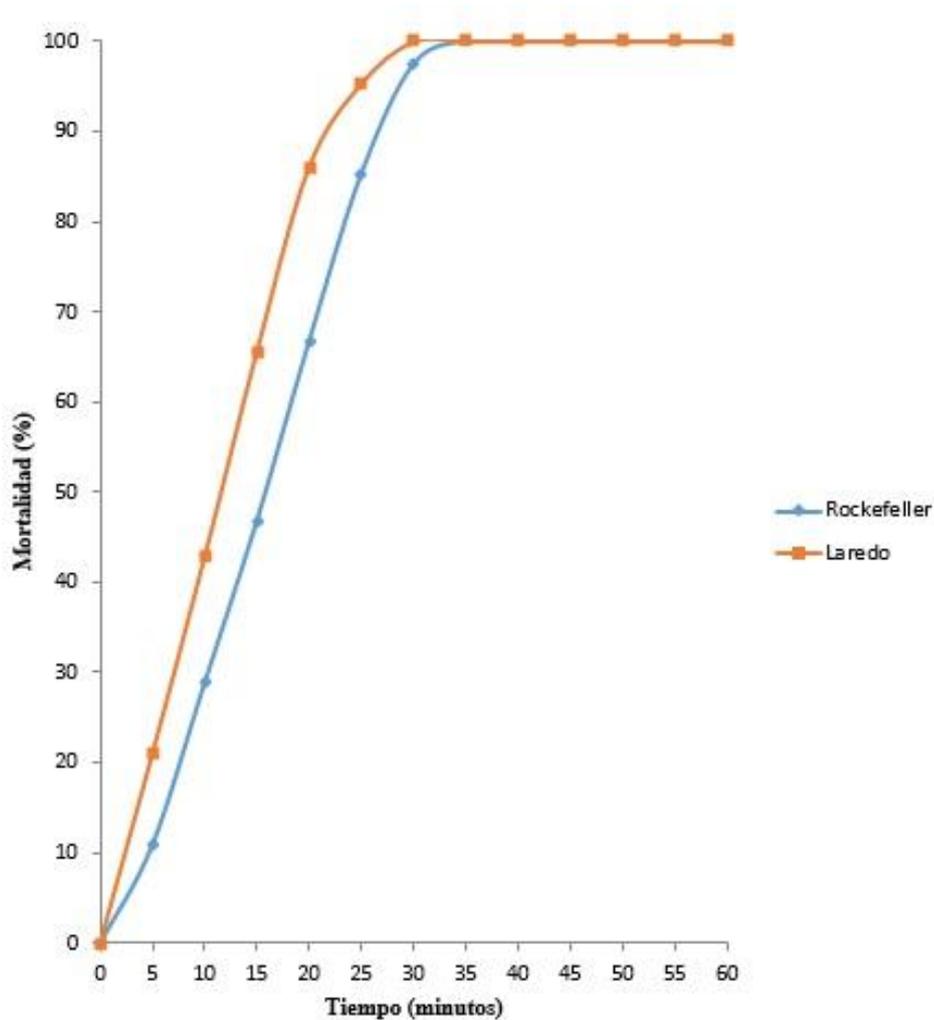


Fig. 1. Porcentaje de mortalidad en relación al tiempo de adultas hembras e *Aedes aegypti* procedentes de los criaderos naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú) y la cepa de referencia Rockefeller, expuestas al insecticida lambda-cialotrina (10g/botella) a través del método de la botella impregnada (CDC)

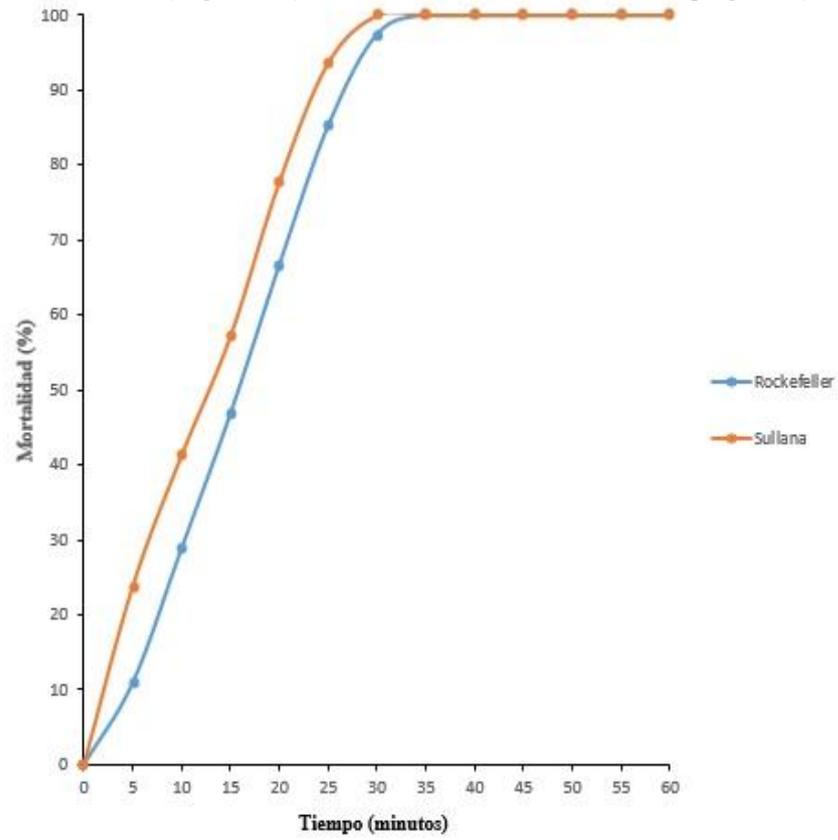
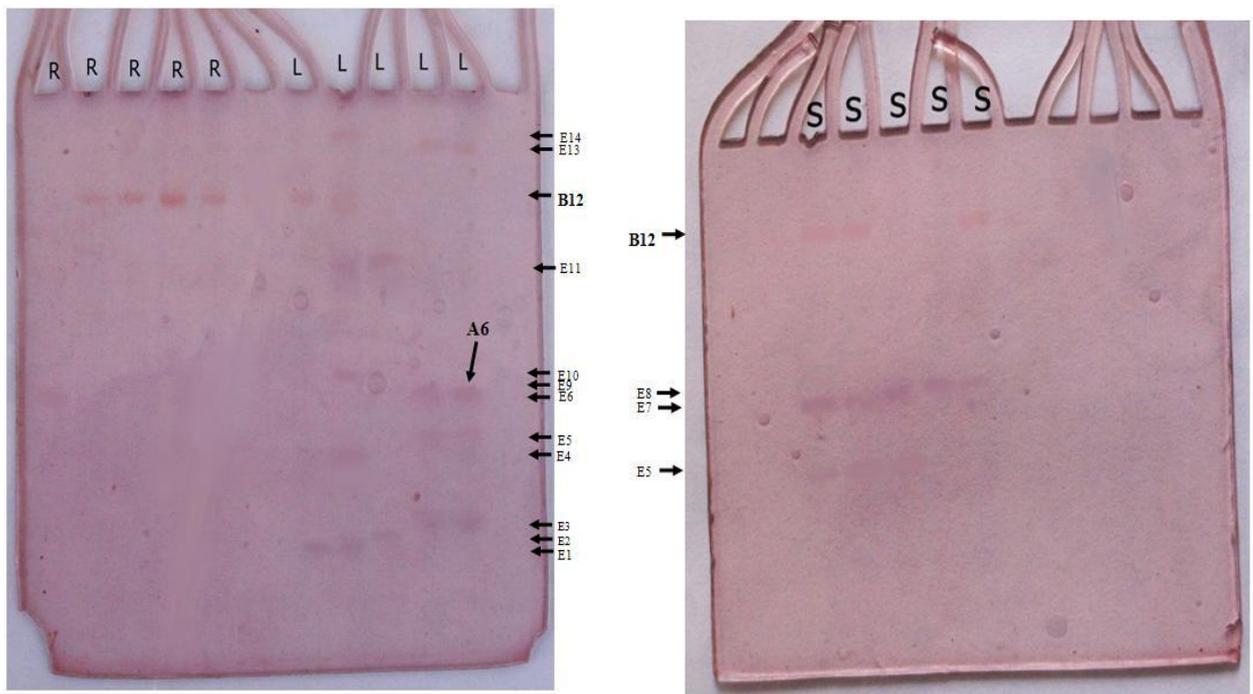


Fig. 2. Porcentaje de mortalidad en relación al tiempo de adultas hembras e *Aedes aegypti* procedentes de los criaderos naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú) y la cepa de referencia Rockefeller, expuestas al insecticida lambda-cialotrina (10ug/botella) a través del método de la botella impregnada (CDC)



L: población Laredo, R: cepa de referencia Rockefeller

S: población Sullana

Fig. 3. Patrones de esterases no específicas en SDS-PAGE de adultos hembras de *Aedes aegypti* procedentes de criaderos naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller

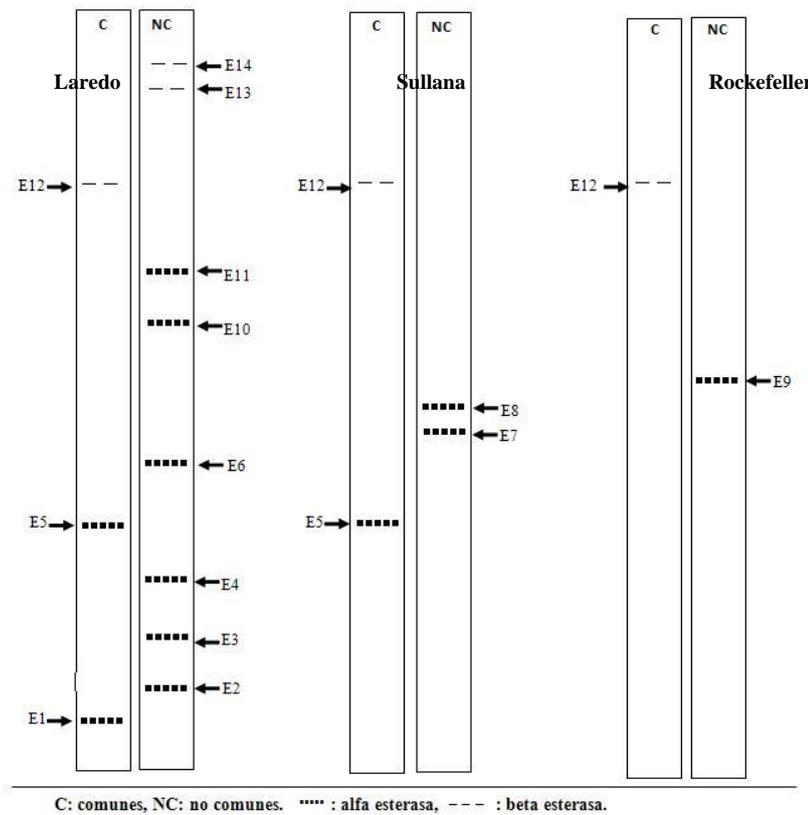


Fig. 4. Diagrama de patrones de esterases no específicas observadas en SDS-PAGE (Fig. 3) de adultos hembras de *Aedes aegypti* procedentes de criaderos naturales del distrito de Laredo (Trujillo, Perú), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller

Tabla 1: Bandas de esterases no específicas (ENE) observadas en poblaciones adultas hembras naturales de *Aedes aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller.

Poblaciones	Esterasas		Movilidad relativa (Rm)		Afinidad por el sustrato		Intensidad	
	Comunes	No comunes	Comunes	No comunes	Comunes	No comunes	Comunes	No comunes
Laredo	E5 ^b	E1	0.730	0.952	α -NA	α -NA	+++	+
	E12 ^{b,c}	E2	0.238	0.936	β -NA	α -NA	++	+
		E3		0.888		α -NA		++
		E4		0.777		α -NA		+
		E6		0.634		β -NA		+++
		E10		0.523		α -NA		+
		E11		0.396		α -NA		++
		E13		0.126		β -NA		+
	E14		0.111		β -NA		+	
Sullana	E5 ^a	E7	0.730	0.619	α -NA	α -NA	++	++
	E12 ^{a,c}	E8	0.238	0.603	β -NA	α -NA	++	++
Rockefeller [*]	E12 ^{b,c}	E9	0.238	0.587	β -NA	α -NA	+	+

a: Laredo, b: Sullana, c: Rockefeller; *: Cepa de Referencia

DISCUSIÓN

El tiempo en los intervalos de observación nos ofrece un seguimiento más detallado de los porcentajes de mortandad en los ensayos. Brogdon⁴¹ recomienda la lectura de datos cada 15 minutos. Valderrama *et al*²¹ realizó cada 10 minutos la medición de datos. El presente trabajo estandarizó la lectura de datos cada 5 minutos como se detalla en la Fig. 1 y Fig. 2. El rango de edad establecido por la RELCOV (Red Latinoamericana en Control de Vectores) en su protocolo del 2005 al emplear hembras adultas de primera generación es de uno a tres días de edad; sin embargo, para la realización de este trabajo se utilizaron hembras de primera generación no mayores a 12 días y no menores a tres días siguiendo el parámetro realizado por Valderrama²¹.

En el presente trabajo se determinaron el porcentaje de mortalidad en zancudos adultos hembras de *Ae. aegypti* del distrito de Laredo y Sullana con la cepa de referencia Rockefeller al exponerse a lambdacialotrina 10µg siguiendo el método de la botella del CDC³⁶. La alta mortalidad de hembras de *Ae. aegypti* de Laredo y Sullana, como se observa en las Fig 1 y Fig 2 expuestas a este piretroide, puede deberse a que estos xenobióticos actúan uniéndose a una proteína de los canales de sodio en el nervio provocando una lenta reacción sobre el cierre del canal de sodio, por tanto inducen una prolongación de apertura del canal por lo que los iones entran al axón en descargas repetidas causando excitación y eventualmente parálisis, es decir, una continua estimulación nerviosa^{11, 44}. Actualmente casi todos los investigadores que hablan de resistencia, coinciden en aceptar la hipótesis de la resistencia preadaptativa, lo cual significa que los plaguicidas por si mismos no producen resistencia, pues lo que hacen es simplemente seleccionar individuos resistentes ya presentes en la población natural de la plaga⁴⁵, los cuales adquieren tal condición genética, probablemente, debido a los factores ambientales y no por el efecto de los insecticidas. Así los individuos tolerantes confieren resistencia a sus progenitores a través de los genes, por lo que las generaciones subsiguientes del insecto serán resistentes también al insecticida. Con este concepto, se puede tomar la posibilidad que en las poblaciones de *Ae. aegypti* de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura) no exista individuos que hayan desarrollado resistencia y que el insecticida esté actuando en el sitio blanco, es decir, que el componente activo de los insecticidas penetre el exoesqueleto, que atraviese los tejidos intermedios, llegando a su diana y ejerciendo su acción sobre éste sin ningún tipo de inconveniente, momento en el cual el insecto evidencia la intoxicación y cae derribado.

Las esterasas son consideradas como agentes indicadores de resistencia cuyos mecanismos de degradar compuestos piretroides es importante en la presentación de resistencia y su evaluación debe ser cuidadosamente analizada. Estas enzimas son herramientas importantes para el análisis de la diferenciación genética y las relaciones evolutivas de los insectos, sobre todo en los estudios bioquímicos y ecológicos. En el presente trabajo, las esterasas han sido identificadas mediante su metabolismo al alfa y beta naftil acetato, las cuales sirven para clasificarlas como alfa esterasas y beta esterasas respectivamente. Se obtuvo la movilidad relativa de cada banda con la finalidad de clasificar las enzimas estudiadas como se aprecia en la Tabla 1. siguiendo la metodología propuesta por Sousa et al⁴². Se identificaron un total de 14 bandas, de las cuales once presentan afinidad por el sustrato alfa naftil acetato y tres por el beta naftil acetato (Tabla 1). La medición de la actividad de las esterasas en las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) es importante en el seguimiento de los mecanismos de resistencia al insecticida piretroide lambdacialotrina y que, junto con la vigilancia de control, se lograría evitar cambios significativos en la susceptibilidad a este insecticida²⁰.

Las esterasas tienen un diverso rango de sustratos (esteres), las cuales se clasifican de acuerdo a su afinidad con los sustratos (preferencia y especificidad); además las pruebas de

inhibición de la caracterización bioquímica de las esterasas ha sido utilizada para clasificar una variedad de ellas en insectos del género *Aedes*^{20, 46}. La presencia de bandas de esterasas en el gel de poliacrilamida en las poblaciones naturales de especímenes adultos de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura), así como en cepa de referencia Rockefeller susceptible a insecticidas, indicaría que en las bandas no comunes E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E10, E11, E13, E14 (Tabla 1) estarían evidenciando esterasas posiblemente involucradas en funciones de detoxificación de xenobióticos^{40, 43} porque no se encuentran en la cepa susceptible Rockefeller. Las bandas comunes reflejarían la presencia de esterasas que estaría participando en diversas funciones como en el comportamiento reproductivo, feromonas y el metabolismo hormonal, digestión y la neurotransmisión^{40, 43}.

La clasificación de las esterasas realizado en base al valor de movilidad relativa (Rm) permitió determinar a esterasas comunes y no comunes en las dos poblaciones naturales adultas de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) y una cepa susceptible a insecticidas Rockefeller, observándose una banda fuertemente teñida A6 (Rm = 0.634) solo en la población de Laredo, lo que evidenciaría una hiperactividad de esta enzima. Por otro lado, dentro de las esterasas comunes en las tres poblaciones (adultos de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo - La Libertad y de Sullana - Piura así como en cepa de referencia Rockefeller susceptible a insecticidas) se encontró a la esterasa B12 con un Rm de 0.238, la cual también ha sido reportado por Vargas *et al*³ como B2 (Rm = 0.23) en poblaciones de Sullana (Piura) y por Chávez *et al*¹ en poblaciones del distrito El Porvenir (La Libertad); la presencia de esta esterasa en la población de Rockefeller estaría posiblemente involucrada en diversos procesos biológicos como reguladores de la hormona juvenil, digestión y reproducción⁴⁶; mas no en procesos de resistencia porque es una cepa susceptible a insecticidas; esto explicaría el 100% de mortalidad encontrado en los bioensayos de las poblaciones naturales de de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) (Fig. 1 y Fig. 2)

Cabe indicar que existen diversos trabajos en clasificar a las esterasas debido a su importancia en determinar la variación genética (permite clasificar poblaciones), así como su importancia en la generación de funciones de resistencia a insecticidas. Bisset *et al*⁷ han clasificado como esterasa A4 en poblaciones adultas de *Ae. aegypti* en Cuba y Venezuela con un valor de Rm de 0.779 con alta frecuencia además de otra esterasa denominada A6 con una movilidad relativa de 0.61 en poblaciones de Venezuela, la cual ha sido correlacionada con la resistencia a organofosforados. También se ha identificado la presencia de la esterasa A4 con Rm de 0.78 solo en poblaciones de Cuba²⁹.

Es importante monitorear permanentemente el estado de susceptibilidad a este piretroide en las poblaciones debido a que el uso excesivo del insecticida puede ocasionar resistencia, aumentando las poblaciones que presentan un nivel mayor de estas enzimas en un menor tiempo que las que no poseen esta condición, ya que la presión ejercida por el insecticida puede seleccionar a individuos que presentan enzimas. La resistencia metabólica debido a esterasas es uno de los mayores problemas en poblaciones de vectores porque su presencia ha sido correlacionada con la resistencia a dos principales clases de insecticidas como organofosforados y piretroides²⁰.

CONCLUSIONES

- Las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad) y de Sullana (Piura) son susceptibles a lambdacialotrina.
- Las poblaciones de *Ae. aegypti* procedentes de los distritos de Laredo (La Libertad), Sullana (Piura) y la cepa de referencia Rockefeller presentaron 13 bandas no comunes (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E13 y E14) y una banda común (E12).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salvatella R. *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) Notificación de su presencia en Uruguay. Rev Med Uruguay. 1997; 13: 118 – 121.
2. Basso C. Abordaje ecosistémico para prevenir y controlar al vector del dengue en Uruguay. Basso C, editor. Montevideo: Universidad de la República; 2010.
3. Bobadilla MC. Perfil de resistencia y mutación “kdr” asociada a insecticidas piretroides en *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) de Veracruz, México. (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. 2010: 14 – 23.
4. Chávez J, Vargas J, Vargas F. Resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) del Perú. Rev Perú Biol. 2005. 12: 161 – 164.
5. Omar CR, Nélida LG. Variabilidad genética de *Aedes aegypti* en algunas áreas del Perú usando Single Stranded Conformational Polymorphism (SSCP). Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2004. 21 (3): 157 – 166.
6. TDR/ World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva. Suiza. 2009.
7. World Health Organization. Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1. Geneva: World Health Organization; 2006.
8. Perez EE, Molina D. Resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. Bol Mal Salud Amb. 2009; 44 (1): 143 – 150.
9. Fernicola N. Toxicología de los insecticidas organoclorados. Bol of Sanit Panam. 1985. 98: 10 – 19.
10. Ramirez JA, Lacasaña M. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medios de la exposición. Arch Prev. 2001; 4(2) : 67 – 75.
11. Anaya Y. Evaluación de la susceptibilidad a insecticidas en *Aedes aegypti* capturados en el municipio de Sincelajo, Departamento de Sucre, Colombia. Tesis para optar el título de Biólogo con énfasis en Biotecnología. Universidad de Sucre, Facultad de Educación y Ciencia. 2008.
12. Rodríguez M. Estudio de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). (Tesis Doctoral). La Habana: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. Cuba. 2008:21-36.
13. Vargas F, Córdova O, Alvarado A. Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2006; 23 (4): 259-263.
14. World Health Organization. Resistance of Vectors and Reservoirs of disease to pesticides. Geneva: World Health Organ Tech Rep Ser 737; 1986.
15. World Health Organization. Seventh Report of the WHO Expert committee on insecticides. Geneva: World Health Organ Tech Rep Ser 125; 1957.
16. Bisset J. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Rev Cub Med Trop. 2002; 54 (3): 202-219.
17. Hemingway J, Ranson H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Annu Rev Entomol. 2000; 45: 371-391.
18. Molina de Fernández D, Figueroa LE, Pérez E. Resistencia múltiple a insecticidas en *Anopheles marajoara* Galvao & Damasceno, 1942 en zonas agrícolas. Salud & Desarrollo Social. 2007; 3:19-29.
19. Brogdon WG, Beach RF, Stewart JM, Castanaza L. Microplate assay analysis of the distribution of organophosphate and carbamate resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus*. Bull WHO. 1988; 66(3): 339 – 346.
20. Montella RI, Schama R, Valle D. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance – A Review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012. 107(4): 437 – 449.
21. Valderrama EI, González R, Jaramillo GI. Evaluación de la susceptibilidad de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) a un insecticida organofosforado y un piretroide en cuatro poblaciones del valle del Cauca, mediante dos tipos de bioensayos. Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle. 2008; 9(2): 1 – 11.
22. Rodríguez DC, Ocampo NJ, González IF. Selección artificial de resistencia a lambda-dialotrina en *Aedes aegypti* y resistencia cruzada a otros insecticidas. Revista Colombiana de Entomología. 2012; 38: 100 – 107.
23. Bisset JA, Rodríguez MM, San Martín JL, Romero JE y Montoya R. Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. Rev Panam Salud Pública. 2009. 26 (3): 229 – 234.

24. Álvarez L, Castillo C, Oviedo M, Briceño F. Diferencia en la susceptibilidad a la deltametrina en poblaciones de *Aedes aegypti* de Trujillo, Venezuela. Boletín de Malaria y Salud Ambiental. 2008; 48 (2): 169 – 175.
25. Bisset J, Rodríguez M, Cáceres L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. Rev Cubana Med Trop. 2003; 55 (3): 191-195.
26. Bisset JA, Magdalena Rodríguez M, Fernández D, Palomino M. Resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de 2 provincias del Perú. Rev Cubana Med Trop. 2007; 59 (3): 202 – 208.
27. Bisset JA, Rodríguez MM, Molina D, Díaz C, Soca LA. Esterasas elevadas como mecanismos de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. Rev Cubana Med Trop. 2001; 53: 37 – 43.
28. Severini C, Romi R, Marinucci M, Guillemaud T and Raymond M. Esterasas A5 -B5 in organophosphate-resistant *Culex pipiens* from Italy. Med Vet Entomol. 1997; 11: 123 – 126.
29. Bisset JA, Rodríguez M, Armas Y. Comparación de 2 poblaciones de mosquitos de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba con diferentes conducta de reposo. Rev Cubana Med Trop. 2005; 57(2): 143 – 150.
30. Bisset JA, Rodríguez MM, Díaz C y Soca LA. Evolución de la resistencia a insecticidas en *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) en una área de La Habana. Rev Cubana Med Trop. 2000; 52(3): 180 – 185.
31. Chavéz JC, Roldán J, Vargas F. Niveles de resistencia a dos insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del Perú. Rev Colomb Entomol. 2005; 31: 75 – 78.
32. Montada D, Castex M, Suarez S, Figueredo D, Leyva M. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Rev Cub Med Trop. 2005; 57(2):137-42.
33. Brogdon W, McAllister J. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time – mortality determinations in glass bottles. J Mosq Control Assoc. 1998; 14(2): 159 – 164.
34. Zamora E, Balta R, Palomino M, Brogdon W, Devine G. Adaptation an evaluation of the bottle assay for monitoring insecticide resistance in disease vector mosquitoes in the Peruvian Amazon. Malar. 2009; 8:208.
35. Yean L, Zairi J. Effects of sublethal dose of *Bacillus thuringiensis* H – 14 exposure on *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). PerniagaanPh'ng'@ P& Y Design Network, Malaysia. 2005; 1: 295 – 300.
36. Reyes F, De la Garza H y Flores A. Efecto de concentraciones subletales de Abate sobre algunos parámetros biológicos de *Aedes aegypti*. Salud Pública de Mex. 1992; 34: 406 – 412.
37. Rodríguez M, Bisset J, Molina D, Díaz C, Sosa L. Adaptación de los métodos en placa de microtitulación para la cuantificación de la actividad de esterases y glutatión – s – transferasa en *Aedes aegypti*. Rev Cubana Med Trop. 2001; 53(1): 32 – 36.
38. Rodríguez M, Bisset J, Molina D, Díaz C, Sosa L. Resistencia a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado Malation. Rev Cubana Trop. 2003; 55(2): 105 – 111.
39. Rodríguez M, Bisset J, Hernández H, Ricardo Y, French L, Pérez O, *et al.* Caracterización parcial de la actividad de esterases en una cepa de *Aedes aegypti* resistente a temefos. Rev Cubana Med Trop. 2012; 64(3): 256 – 267.
40. Gamarra M. Niveles de resistencia al Temefos y Lambdacialotrina en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* procedente de los distritos de La Esperanza, Florencia de Mora y El Porvenir (Trujillo; La Libertad – Perú). Tesis para optar el título de Biólogo – Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas. 2013.
41. Brogdon WG. Chapter 4. 3. 3. CDC Bottle Bioassays. En: Methods in *Anopheles* Research. (Staff MR4, eds). CDC, Atlanta USA. 2007.
42. Sousa – Polezzi C, Melara de Campo H. Effect of phenobarbital on inducing insecticide tolerance and esterase changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Genet Mol Biol. 2004; 27(2): 275 – 283.
43. Santocolma L, Chaves B, Brochero H. Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. Rev Panam Pública. 2010; 27(1): 66 – 73.
44. Miller AT, Adams EM. Mode of action of pyrethroids. In: Coats JR, editor. Insecticide mode of action. New York: Academic Press; 1982.
45. Cremlin R. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. México DF: Limusa. 1982.
46. Lima – Catelani AR, Ceron CR, Bicudo HE. Variation of genetic expression during development, revealed by esterase patterns in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Biochem Genet. 2004. 42: 69 – 34.



Antígenos de excreción-secreción de tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* detectados por Western Blot usando sueros de pacientes con parasitosis confirmada

Excretory-secretory antigens of trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* detected by Western blotting using sera from patients with confirmed parasitoses

Hermes Escalante¹, César A. Jara² y Renzo Mayhuay²

¹Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. ²Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo

RESUMEN

La enfermedad de Chagas, enfermedad parasitaria causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi*, se caracteriza por su endemidad y silencioso proceso sin manifestaciones clínicas por tiempo prolongado, a veces décadas, de cuya cronicidad resultan episodios fatales. El parásito posee varias formas evolutivas y dos huéspedes: un vertebrado (hombre y otros mamíferos) y otro invertebrado, el vector (triatominos). Debido a que no se cuenta con un diagnóstico serológico estandarizado que permita el análisis confiable de poblaciones en riesgo de modo tal que pueda proponerse la implementación de tratamientos oportunos, se planteó una investigación dirigida a identificar a los antígenos de excreción-secreción de los tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* obtenidos por metaciclógenesis de epimastigotas cultivados a partir de tripomastigotas metacíclicos aislados de *Panstrongylus chinai* naturalmente infectado en el valle Chamán (La Libertad) mediante la técnica de Western blot utilizando sueros de pacientes con enfermedad de Chagas confirmada. Para ello, los cultivos de epimastigotas se hicieron en medio BHI/PYLB, la metaciclógenesis en Grace's Insect Medium (Sigma) suplementado con suero bovino fetal y la obtención de productos excretados-secretados en Eagle's Minimum Essential Medium (Sigma). Se obtuvo 60% de metaciclógenesis a tripomastigotas con patogenicidad comprobada en ratones BALB/c, asimismo, 24 bandas reactivas mediante el Western blot, con pesos moleculares variables entre 13.8 y 97.4 KDa y dos grupos de bandas de mayor reactividad: de 21 a 31 y de 45 a 100 KDa. De ellas, la banda de 43.7 KDa también apareció cuando se cruzaron con sueros de pacientes con toxoplasmosis y leishmaniasis.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, *Panstrongylus chinai*, Western blot

ABSTRACT

Chagas disease, parasitic disease caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, is characterized by its endemicity and silent process without clinical manifestations long time, sometimes decades, of which are fatal chronic episodes. The parasite has several evolutionary forms and two hosts: a vertebrate (man and other mammals) and other invertebrate, vector (Triatominae). Because there is no standardized serological diagnosis that allows reliable analysis of populations at risk so that you can propose the implementation of appropriate treatments, research aimed at identifying *Trypanosoma cruzi*-trypomastigotes excreted-secreted antigens obtained by metacyclogenesis of epimastigotes grown from metacyclic trypomastigotes isolated from naturally infected *Panstrongylus chinai* from Chaman Valley, La Libertad, Peru by Western blot using sera from patients with confirmed Chagas disease. Cultures of epimastigotes were made in BHI/PYLB-medium, metacyclogenesis in Grace's Insect Medium (Sigma) supplemented with fetal bovine serum and excreted-secreted products were obtained in Eagle's Minimum Essential Medium (Sigma). 60% metacyclogenesis to trypomastigotes were obtained and pathogenicity-test were made using BALB/c mice, also were found 24 reactive bands by Western blot, with variable molecular weights between 13.8 and 97.4 KDa and two sets of bands of a higher reactivity: 21 to 31 and 45 to 100 KDa. Of these, 43.7 kDa band also appeared when crossed with sera from patients with toxoplasmosis and leishmaniasis.

Keywords: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, *Panstrongylus chinai*, Western blot

INTRODUCCIÓN

Trypanosoma cruzi, agente etiológico de la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, infecta a aproximadamente 10 millones de personas en el continente americano, con marcadas diferencias en áreas endémicas, donde otras 90 millones se encuentran en riesgo; esta parasitosis, incluida dentro de las dolencias desatendidas y considerada la tercera parasitosis más frecuente a nivel mundial después de la malaria y la esquistosomiasis, se caracteriza por ser incurable, causar pérdidas económicas por incapacidad laboral y muerte repentina de personas con apariencia sana y en plena capacidad productiva y ser emergente en varios países no americanos debido a las migraciones^{1,2,3}

Ica, Arequipa, Moquegua y Tacna en el sur y Piura, Cajamarca y Amazonas en la zona nor-oriental son los departamentos en donde se ha registrado casos autóctonos de la enfermedad de Chagas en el Perú, con aproximadamente 700 mil personas infectadas y más de un millón en riesgo de infección por *T. cruzi*, sobre todo en zonas tradicionalmente catalogadas como endémicas (Arequipa, Moquegua y Tacna) en donde esta enfermedad es considerada emergente en zonas urbanas hacia donde se ha desplazado el vector: *Triatoma infestans*^{4,5,6,7,8,9}; en otros departamentos, como Lambayeque y La Libertad, aun cuando no se han registrado casos humanos se ha encontrado al parásito en animales y el vector, *Pnastrongylus chinai*, y serología positiva en humanos y animales sinantrópicos^{4,5,9,10}.

La enfermedad de Chagas se transmite principalmente a través de vectores, insectos triatominos, y secundariamente por transfusión sanguínea, vía oral, trasplante de órganos y de madre a hijo (congénita); su evolución incluye una fase aguda, poco evidente, y una fase crónica de larga duración dentro de la cual se encuentra una fase denominada indeterminada porque los parásitos no se hacen evidentes, pero sí la serología positiva, sin embargo, a diferencia de otras parasitosis, es más patógena en la etapa crónica porque órganos vitales como el corazón, esófago y colon degeneran, se agrandan (megas) y dejan de funcionar^{1,2,3}.

Dependiendo de la fase, se han implementado numerosas técnicas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas; por ejemplo, durante la aguda tienen gran validez las técnicas parasitológicas, entre ellas: examen en fresco, gota gruesa, micro-hematocrito, xenodiagnóstico y la de Strout^{3,11,13} y durante la fase crónica adquieren relevancia las técnicas serológicas^{11,14,15}. De ellas, la técnica de ELISA indirecta y la hemaglutinación indirecta mantienen su utilidad porque son usadas sobre todo para determinar la negatividad serológica de sangre destinada a las transfusiones¹¹, sin embargo, en estudios epidemiológicos o en diagnóstico rutinario de laboratorio, sobre todo ELISA que se ha sido diseñada en numerosos kits comerciales, ha tenido discrepancias por su gran variabilidad respecto del tipo de antígeno usado¹⁴. Por esa razón, se ha optado por usar la técnica de Western blot, que ha demostrado tener mayor sensibilidad y especificidad que las demás técnicas diseñadas para la detección de anticuerpos^{3,13,15}.

Al igual que otras técnicas, la de Western blot puede llevarse a cabo utilizando antígenos de distinta naturaleza, tales como extractos y los antígenos somáticos, sin embargo, se ha determinado que los antígenos de excreción-secreción, que son productos del metabolismo y se obtienen de parásitos vivos son los que mejores resultados generan tanto en diagnósticos rutinarios en el laboratorio como en estudios epidemiológicos^{16,17,18,19,20}

Teniendo en cuenta que la enfermedad de Chagas constituye uno de los principales problemas de salud en la mayoría de países latinoamericanos por causar infección grave en niños, incapacidad en adultos y potencialmente la muerte súbita y que en la zona norte del Perú se desconoce su real magnitud siendo necesario contar con una técnica de diagnóstico confiable, asimismo, que no se han propuesto trabajos de investigación con antígenos de poblaciones procedentes de esta zona, se propuso una investigación dirigida a responder la siguiente interrogante: ¿cuáles son los pesos moleculares, en Kilodaltons, de los antígenos de excreción-secreción de los tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* obtenidos por metaciclogenesis de epimastigotas cultivados a partir de tripomastigotas metacíclicos de *Panstrongylus chinai* naturalmente infectados en el valle Chamán, La Libertad, detectados por la técnica de Western blot utilizando sueros de pacientes con enfermedad de Chagas confirmada?

MATERIAL Y MÉTODOS

Parásitos:

En el estudio se utilizó una población de epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* denominada C1, obtenida a partir de tripomastigotas metacíclicos aislados de excreciones de *Panstrongylus chinai* capturados en el valle de Chamán, ubicado en la provincia de Chepén (La Libertad, Perú) y mantenidos por cultivos sucesivos en medio NNN^{5,12}. Asimismo, nueve ejemplares machos de dos meses de edad de *Mus musculus* BALB/c adquiridos en el Instituto Nacional de Salud y criados en condiciones de seguridad alimentaria y en jaulas diseñadas para tal fin^{11,19}

Sueros:

Se han utilizado sueros de pacientes confirmados con: la enfermedad de Chagas, toxoplasmosis, cisticercosis, hidatidosis y leishmaniosis, proporcionados por el Instituto Nacional de Salud (Lima Perú) y un suero de un recién nacido, natural de Trujillo (Perú) proporcionado por el Laboratorio de Análisis Clínicos ESCALABS, para ser usado como control negativo.

Obtención de tripomastigotes de *T. cruzi*

Cultivo de epimastigotes de *T. cruzi*

Las formas epimastigotes C1 de *T. cruzi* proporcionados fueron cultivadas en 20 tubos de 25x150mm, estériles, con medio bifásico constituido por BHI, fase sólida (10mL), y PYLB fase líquida (7mL). La siembra se hizo a partir de dos tubos procedentes del mantenimiento de la cepa, a razón de 0.5 mL por tubo.

Previamente, se realizó el recuento de los parásitos inmersos en 1mL de inóculo que se sembró, utilizando una cámara hemocitométrica de Neubauer. El lote de cultivo fue dejado a temperatura ambiente (22 ± 4 °C) durante 15 días, para lograr el nivel máximo de replicación de epimastigotes.

Inducción de la Metaciclogénesis *in vitro* de *T. cruzi*^{21,22}

A partir de un lote, después de 15 días, se extrajeron los medios líquidos en tubos estériles de 13x100mm., tratando de retirar los parásitos confinados en la base del tubo, para luego centrifugarlos a 4000 rpm por 5 min. Inmediatamente después, se descartó el sobrenadante de cada tubo y los precipitados se reagruparon en un solo tubo hasta formar aprox. 2mL.

Se realizaron dos procesos de lavado con PBS 1x estéril, para lo cual se agregó al tubo resultante 4 o 5 ml. de PBS utilizando un gotero estéril, haciendo que la biomasa se resuspenda y entonces nuevamente ser centrifugado a 4000 rpm por 5 min (repetir una vez más), con la finalidad de eliminar residuos del medio de cultivo de proliferación. Para realizar un tercer lavado el PBS estéril fue aditivado con Penicilina G sódica 1 000 000 UI (0.5 mL/100mL) y Gentamicina 160 mg (0.25mL/100mL).

Los epimastigotes lavados fueron transferidos al medio de transformación Grace's Insect Medium SIGMA®, pero previamente fueron sometidos a un cuarto lavado con el medio a experimentar de la misma manera que el primer lavado y también fueron evaluados en vitalidad y cantidad mediante recuento en cámara de Neubauer, extrayendo una gota de la suspensión.

Finalmente, se acondicionaron 4 o 5 tubos de 13x100mm provistos con tapones de jebes estériles, para repartir equitativamente el volumen de pellet obtenido y añadirle seguidamente Grace's Insect Medium en proporción 1:5. Se suplementó el medio con Suero Bovino Fetal al 20% y aditivado con antibióticos convenientes: Penicilina G sódica 1 000 000 UI (0.5 mL/100mL) y Gentamicina 160mg (0.25mL/100mL).

Los tubos resultantes fueron dejados a temperatura ambiente y en cámara oscura durante 140 horas. Transcurrido este periodo se realizó la verificación de la presencia de tripomastigotes y de los especímenes no transformados totalmente, mediante observación directa sobre lamina en microscopio o usando cámara de Neubauer. La muestra extraída también se utilizó para realizar coloraciones, utilizando colorante Wright y así confirmar la existencia de tripomastigotes y calcular un porcentaje de transformación según el campo de observación.

Para verificar la patogenicidad se realizaron inoculaciones progresivas de los parásitos transformados, a ratones *Mus musculus* BALB/C machos, de 21 días de nacidos, vía intraperitoneal. La evaluación de la patogenicidad se realizó a partir de los 25 días post-inoculación por observación de signos como erizamiento del pelo, caída del tren posterior, incontinencia urinaria y agrandamiento del hígado y bazo¹⁰

Obtención de antígenos excreción/secreción de tripomastigotes *T. cruzi*¹⁹

Cultivo de tripomastigotes *T. cruzi*

Cumplidas 140 horas, se centrifugaron los tubos de transformación a 4000 rpm por 5 min, y se descartaron los sobrenadantes. Posteriormente para depurar residuos del medio anterior, los sedimentos fueron lavados en PBS 1x estéril, una vez y finalmente en Eagle's Minimum Essential Medium SIGMA® (MEM), centrifugándolos a 4000 rpm por 5 minutos. La biomasa de tripomastigotes reagrupados fueron traspasados a un solo tubo de 13x100mm., nuevo y estéril, provisto con tapón de jebes estéril, con Minimum Essential Medium Eagle (MEM) en proporción 1:3 y aditivado con Penicilina G sódica 1 000 000 UI (0.5 mL/100mL) y Gentamicina 160 mg (0.25mL/100mL), a 37°C durante 20 horas.

Cumplido el tiempo de incubación, se centrifugaron los tubos a 4000 rpm por 5 min para separar los antígenos de excreción-secreción producidos, presentes en el sobrenadante, los cuales serán almacenados en tubos Eppendorf a -20°C debidamente rotulados. Según disponibilidad, previamente se añadieron inhibidores de proteasas⁽²⁷⁾.

Determinación de la concentración de proteínas²²

Para determinar la concentración de proteína total, presente en el volumen de antígeno producido, se hizo necesaria la preparación de una curva de calibración, empleando una proteína patrón, que generalmente suele ser seroalbúmina bovina diluidas convencionalmente en solución salina. Siendo así, la concentración de antígenos de excreción-secreción se determinó usando el método colorimétrico de Bradford y mediante el análisis espectrofotométrico⁽²⁶⁾.

El análisis espectrofotométrico se realizó en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Genesys 10Bio. Se calibró el blanco de agua destilada estéril. Posteriormente se obtuvo la relación entre la absorbancia a 260 nm y la absorbancia a 280 nm (DO 260 / 280) para determinar la calidad.

Identificación de antígenos por electroinmuno-transferencia

Se hizo siguiendo el protocolo establecido en el Lab. ESCALABS, en concordancia con trabajos previos²³, con las siguientes particularidades: cada suero fue preparado a la dilución 1/50 en PBS-TWEEN®20, se conformó un "pool" de sueros de pacientes que presenten *T. cruzi* en sangre; otro "pool" de sueros de pacientes parasitosis diversas e independientemente toxoplasmosis, leishmaniosis; y sueros de recién nacidos como control negativo. Se colocaron 500uL de la solución bloqueadora preparada previamente y 10uL de los sueros previstos, en cada uno de los canales de ensayo. Las tiras de nitrocelulosa con los antígenos de excreción-secreción, fueron enumeradas en orden progresivo y colocadas en placas, las mismas que fueron incubadas durante 1 hora con agitación constante. Posteriormente se realizaron tres lavados con PBS-TWEEN®20; a temperatura ambiente, todas durante 5 mins. y con agitación constante.

Evaluación y determinación de los pesos moleculares de los antígenos de excreción-secreción de tripomastigotes²³

La determinación de los pesos moleculares de los antígenos de excreción-secreción de tripomastigotes de *T. cruzi* se realizó de acuerdo a lo propuesto anmidiendo la distancia recorrida de las bandas de bajo peso y relacionándolas con marcadores de bajo peso molecular conocido, de igual manera para las bandas de mediano y alto peso molecular; para lo cual fue necesario encontrar la movilidad relativa (RF) del marcador y de los antígenos en estudio.

RESULTADOS

Se encontró que para una adecuada transformación de los epimastigotas a tripomastigotas en medio Grace's Insect debió utilizarse una población de aproximadamente 9×10^7 epimastigotes/mL, logrando una metacicloogénesis (Fig. 1) del 60% durante 140 horas a temperatura ambiente (22 ± 4 °C).



Fig. 1. Formas intermedias de *Trypanosoma cruzi*: con kinetoplasto posterior al núcleo (izquierda, coloración Wrigth), con cuerpo estilizado y membrana ondulante desarrollada (derecha, coloración Giemsa) x 1000A.

Se encontró 24 bandas antigénicas: 13.8, 14.7, 17.8, 19.6, 20.1, 22.9, 23.1, 25.0, 26.0, 30.0, 31.6, 32.5, 33.0, 34.0, 35.5, 36.0, 39.8, 42.7, 46.5, 57.5, 69.4, 76.1, 90.5, 97.4 KDa, con dos grupos de mayor reactividad: 21 a 31 KDa y de 45 a 100 KDa (Fig. 2)

Cuando se evaluaron las tiras individuales con TESA frente a pool de sueros de pacientes con Toxoplasmosis, Hidatidosis, Fasciolosis, Cisticercosis, Leishmaniosis, además de un pool de sueros positivos a la Enfermedad de Chagas procedente de zona endémica Boliviana; y sus respectivos controles positivo (C+) y negativo (C-), se encontró que una banda de bajo peso molecular 43.7 KDa, tiene reacción cruzada frente al pool de Toxoplasmosis y con menor intensidad frente al pool de Leishmaniosis (Fig. 3).

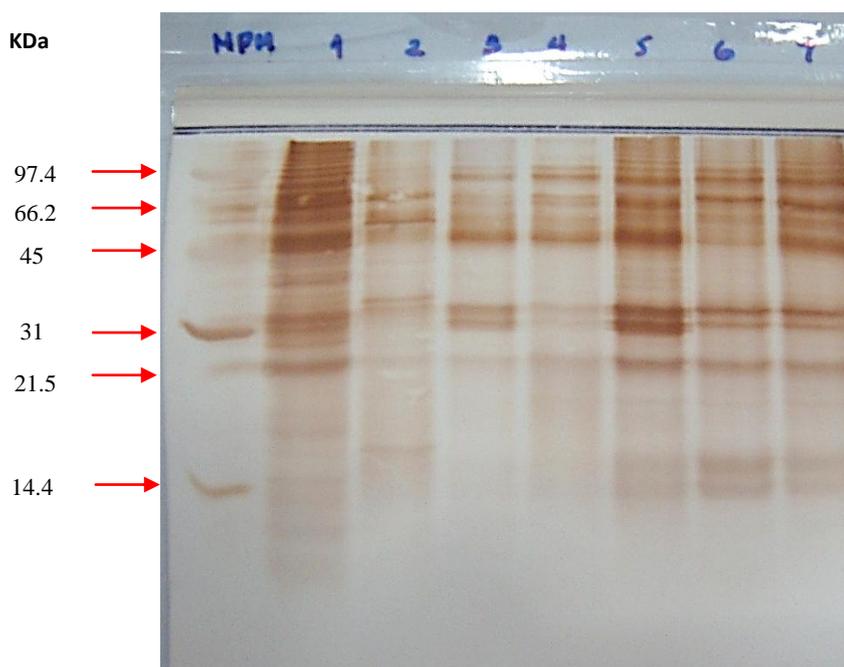


Fig. 2. Bandas reactivas resultados del Western blot de los antígenos de excreción-secreción de tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, obtenidos por metaciclógenesis de epimastigotas cultivadas en BHI a partir de tripomastigotas metacíclicos aislados de *Panstrongylus chinai* parasitados naturalmente en el valle Chamán (La LIObertad, Perú) MPM: marcador de peso molecular. Canal 1: Antígenos de excreción/secreción de epimastigotas (ESEA) de la cepa C1 de *T. cruzi*. Canales 2,3,4: Antígenos de excreción/secreción de tripomastigotas (TESA) de la cepa C1 de *T. cruzi*, obtenidos a 37°C. Canales 5,6,7: Antígenos de excreción/secreción de tripomastigotas (TESA) de la cepa C1 de *T. cruzi*, obtenidos a T° ambiente, reconocidos por Electroinmunotransferencia, usando un pool de sueros positivos a la enfermedad de Chagas.

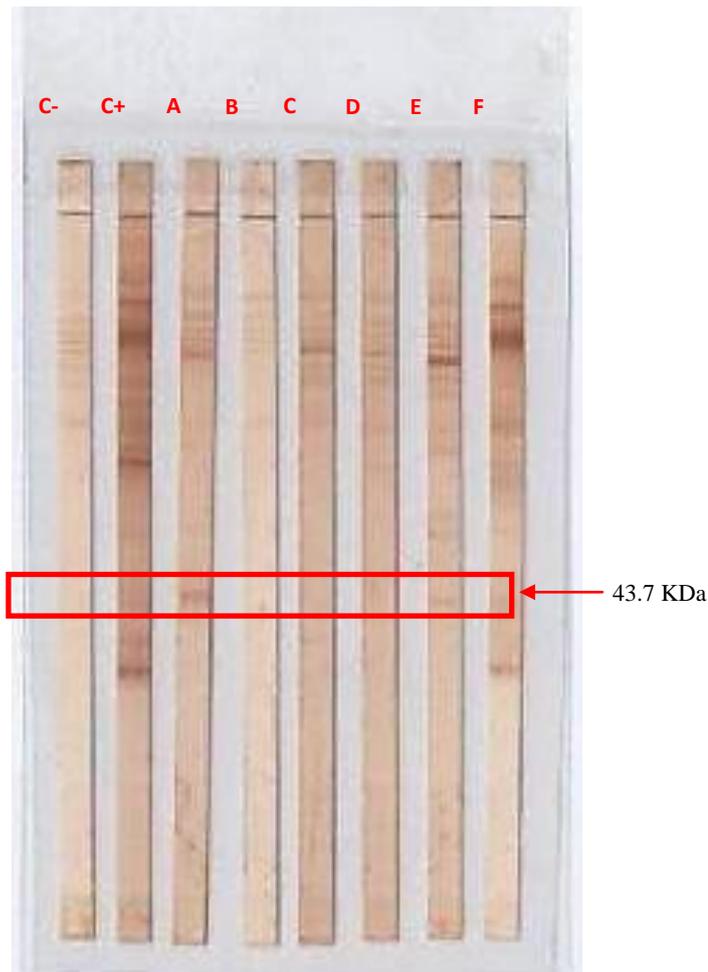


Fig. 3. Bandas reactivas antigénicas de tripomastigotes (TESA) de la cepa C1 de *Trypanosoma cruzi*, reconocidos por Electroinmunotransferencia, usando: C-: control negativo (sueros de RN), C+: control positivo sueros positivos a Enfermedad de Chagas; y pool de sueros positivos a: A) Toxoplasmosis. B) Hidatidosis. C) Fasciolosis. D) Cisticercosis. E) Leishmaniosis. F) Enfermedad de Chagas (suero procedente de Bolivia)

DISCUSIÓN

La diferenciación in vitro se llevó a cabo utilizando medio Grace, estandarizando niveles de temperatura y tiempo óptimos, logrando más del 60% de tripomastigotas metacíclicos; sin embargo, para alcanzar mayor cantidad de tripomastigotas, la implementación de algún sustrato de calidad, permitiría simular aún más las condiciones internas del vector, tal como se observó en el medio bifásico de proliferación (BHI), utilizado previo a la diferenciación^{17,18}.

In vitro, los epimastigotes que están próximos a culminar la diferenciación a tripomastigotes metacíclicos, por su comportamiento fisiológico, se desprenden del sustrato (paredes del tubo) y permanecen en el sobrenadante, mientras que los parásitos aún en transformación pueden permanecer adheridos a las paredes del tubo de cultivo; durante el proceso de transformación, la adhesión a algún sustrato está ligado al estrés nutricional, ya que las proteínas acumuladas en los reservosomas son usados como reserva de energía. Así, existe una estrecha relación entre el estrés nutricional, la endocitosis previa de nutrientes, la adhesión al sustrato y el porcentaje de tripomastigotas metacíclicos resultantes^{3,18}.

Si bien es cierto, el medio Grace's Insect por su carácter líquido, resultó ser buena elección para el análisis cuantitativo, permitiendo el aislamiento de formas metacíclicas sometidas a la diferenciación; este necesita suplementos para alcanzar altos porcentajes de transformación, tales como los homogenizados de vectores, adición de hemina, suero bovino fetal, incluso ajustes de pH^{20,21}.

El perfil antigénico de los TESA reveló la presencia de 24 componentes antigénicos, aspecto que pareciera demasiado número de bandas, sin embargo, debe tenerse en cuenta que todos están dentro del rango de bajo peso molecular que son los que tienen validez diagnóstica²³, asimismo debe considerarse que hay factores que influyen en el corrido, por eso algunos autores, con poblaciones de otros lugares han detectado bandas de peso moleculares ligeramente superiores a 100, pero también las halladas en el presente trabajo^{17,19,20,21}. También hay que atender al hecho de que *T. cruzi* en realidad está conformado por un conjunto de poblaciones, tanto así, que algunos consideran que se trata de un complejo de especies dada la gran variabilidad antigénica y patogénica hallada, de modo que se han clasificado en los llamados biodemas^{1,2,3,10}.

Un aspecto importante es señalar que dentro de todas las bandas reactivas, claramente existen dos grupos de bandas reactivas y en una de ellas, la de bajo peso molecular se ubican las de 13.8 y 14.7, particulares de tripomastigotes, por lo que son las que podrían usarse en pruebas de diagnóstico, aspecto que resulta de suma importancia porque son precisamente los tripomastigotas los que producen la dolencia chagásica^{1,2,3}; al mismo tiempo, las bandas de 20.1, 31.6 y 32.5 KDa mostraron ser las más reactivas porque aparecen reveladas con mayor intensidad

Los antígenos de excreción/secreción de tripomastigotas (TESA) de *T. cruzi*, han sido recientemente reconocidas como transalidasas: estas enzimas pueden ser factores de virulencia, y participar en la unión al epitelio no infectado, fibroblastos, y líneas de células musculares de mamíferos; son inmunógenos fuertes que provocan respuestas de anticuerpos policlonales y están implicados en la inducción de la inflamación y la autoinmunidad^{17,24}.

La reactividad cruzada con el género *Leishmania* es una desventaja importante de las técnicas serológicas convencionales para el diagnóstico de *T. cruzi*, ya que comparten formas evolutivas, los hábitos sanguíneos en el huésped y pertenecen al mismo orden, Kinetoplastidae. Adicionalmente el género *Toxoplasma* también comparte los mismos hábitos sanguíneos en el huésped, y en estudios recientes utilizando la técnica de Electroinmunotransferencia para IgG anti-*Toxoplasma*, han mostrado que la presencia de bandas de 25, 22 y 69 kDa son útiles para predecir la aparición de una Toxoplasmosis Cefalica²⁵.

En este trabajo se encontró solo una banda de 43.7 KDa, con presumible reacción cruzada al enfrentar los TESA frente a un pool de sueros de pacientes positivos a Toxoplasmosis y a otro de Leishmaniosis. En otro estudio las bandas reconocidas por los sueros de los pacientes con Leishmaniosis cutánea americana, leishmaniasis mucocutánea, y VL utilizando antígenos homólogos y heterólogos de *T. cruzi*, arrojaron reactividad cruzada no mayor de cuatro bandas; en otro estudio se encontró que 12 de 45 de los sueros de pacientes con Leishmaniosis ensayados exhibieron un patrón de reactividad a *T. cruzi* similar a la de los sueros chagásicos, reconociendo bandas de 131, 125, 116, 111, 51-45 y 43 kD. Por otra parte, estos sueros con *Leishmania mexicana* exhibieron un patrón similar a la de los sueros de pacientes chagásicos, estos sueros procedían de la provincia de Salta (Argentina), donde hay solapamiento de áreas endémicas de leishmaniasis y tripanosomiasis. Esto sería compatible con la presencia de una infección mixta^{25,26}.

En líneas generales el uso de los TESA para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, ha proporcionado buenos resultados en términos de especificidad y sensibilidad. Sin embargo, la mayoría de los estudios han probado un número relativamente pequeño de muestras, y algunos han utilizado proteínas TESA a partir de una única cepa^{22,23}. Es así que el presente estudio, donde se utilizó un pequeño panel de sueros bien definidos para evaluar los TESA de poblaciones de tripanosomas de una región no endémica del Perú (Chepén) revela su probable utilidad en investigaciones epidemiológicas o de diagnóstico laboratorial rutinario; sin embargo, deben proponerse nuevas investigaciones con tripanosomas de otros valles del norte y del sur a fin de determinar si las mismas bandas se presentan por igual, asimismo, sería conveniente hacer las investigaciones con tripomastigotas sanguíneos, que son los realmente están en contacto con el huésped.

CONCLUSIÓN

- El perfil antigénico de los antígenos de excreción/secreción de tripomastigotes (TESA) de *Trypanosoma cruzi* obtenidos por emtaciclogénesis de epimastigotas cultivados en BHI a partir de tripomastigotas metacíclicos aislados de *Panstrongylus chinai* parasitado naturalmente en Chamán (Chepén, La Libertad, Perú) está compuesto por 24 bandas, en un rango de 100 KDa a 10 KDa, de las cuales las de 13.8 y 14.7 KDa no se presentan en epimastigotas de la misma población y la de 43.7 cruza con sueros de pacientes con leishmaniasis y toxoplasmosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Carod-Artal FJ, Gascon J. Chagas disease and stroke. *Lancet Neurol* 2010; 9:533-542
2. Lescure FX, Le Loup G, Freilij H, Dereloux M, et al. Chagas disease: changes in knowledge and management. *Lancet Infect Dis* 2010; 10:556-570
3. Nuns MPC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, et al. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am College Cardiol* 2013; 62(9):767-776
4. Cuba CCA, Abad-Franch F, Roldan RJ, Vargas VF, et al. The triatomines of Northern Peru, with emphasis on the ecology and infection by tripanosomes of *Rhodnius ecuadoriensis* (Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97(2): 175-183
5. Jara CA. Características de la infección por *Trypanosoma cruzi* en la costa norte del Perú. *SCIENDO* 2007, 9(1): 88-110
6. Bayer AM, Hunter GC, Gilman RH, Cornejo del Carpio JG, et al. Chagas disease, migration and community settlement patterns in Arequipa, Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; 3(2): e567
7. Delgado S, Castillo-Neyra R, Quispe-Machaca VR, Ancca-Suarez J; et al. A history of Chagas disease transmission, control and reemergence in peri-rural La Joya, Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(2): e970
8. Hunter GC, Barrioni-Mayori K, Ancca-Juarez J, Castillo-Neyra R, et al. A field of alternative targeted screening strategies for Chagas disease in Arequipa, Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(1): e1468
9. Solís H, Huamán A, Ferrer A, Tarqui K, et al. Comunicación preliminar sobre la presencia de *Trypanosoma cruzi* en departamentos del norte y nororiente del Perú. *An Fac med* 2012; 73(1): 43-46
10. Díaz-Limay E, Escalante H, Jara CA. Niveles de parasitemia y alteraciones histopatológicas en *Mus musculus* BALB/c infectado con *Trypanosoma cruzi* obtenido de *Panstrongylus chinai* del valle Chaman, La Libertad, Peru. *Parasitol Latinoam* 2004; 59: 153-158
11. Vega CS, Náquira VC. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la tripanosomiasis americana (Enfermedad de Chagas). *Inst Nac de Salud. Lima. Perú. 2006.*
12. Luquetti AO, Schnmunis GA. Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. En: Telleria & Tibayrenc (eds.), *American Trypanosomiasis, Chagas Disease: One hundred years of research.* Amsterdam: ELSEVIER, 210; 744-792
13. Brasil PE, Del Castro L, Hasslocher-Moreno AM, Sangenis LCH, Braga JU. ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease: systematic review and meta-analysis. *BMC Inf Dis* 2010; 10: 337
14. De Souza M, Amato Neto V. Discrepancies and consequences of indirect haemagglutination, indirect immunofluorescent and ELISA tests for the diagnosis of Chagas disease. *Rev. Inst. Med Trop Sao Paulo* 2012; 54(3): 141-143
15. Moncayo A, Silveira AC. Current trends and future prospects for control of Chagas Disease. En: Telleria & Tibayrenc (eds.). *American Tripanosomiasis, Chagas Disease: One hundred years of research.* Amsterdam: ELSEVIER 2010; 55-82
16. Nakasawa M, Rosa DS, Pereira URA, Moura MO: Excretory-secretory antigens of *Trypanosoma cruzi* are potentially useful for serodiagnosis of chronic Chagas disease. *Clin Diag Lab Immunol* 2001; 8(5): 1024-1027
17. Silva AG, Silveira-Lacerda P, Cuhna-Junior JP, de Souza MA, Junior SF. Immunoblotting analyses using two-dimensional gel electrophoresis of *Trypanosoma cruzi* excreted-secreted antigens. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37(6): 454-459.
18. Silverman JS, Bangs JD. Form and function in the trypanosomal secretory pathway. *Curr Opin Microbiol* 2012; 15: 463-468
19. Frade AF, Luquetti AO, Prata A, Ferreira AW. Western blotting method (TESAcruzi) as a supplemental test for confirming the presence of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies in finger prick blood samples from children aged 0-5 years in Brazil. *Acta Tropica* 2011; 117: 10-13
20. Zarate-Blades CR, Blades N, Nascimento MS, Silveira JF, et al. Diagnostic performance of tests based on *Trypanosoma cruzi* excreted-secreted antigens in an endemic area for Chagas disease in Bolivia. *Diag Microbiol Infect Dis* 2007; 57: 229-232.

21. Reiche E, Cabazzana M, Okamura E. Evaluation of the Western blot in the confirmatory serologic diagnosis of Chagas disease: Hospital Estatal de Londina, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59(5): 750-756
22. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities of proteins utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72(1): 248-254
23. Chávez F, Vásquez O, Escalante H. Evaluación de la técnica Western blot para la detección de antígenos de *Hymenolepis nana*. *Rev Perú Biol* 2006; 14(2): 283-286.
24. Silveira E, Gómez A, Souza M, Arantes S, et al. Immunoblot usando TESA (Trypomastigote excreted-secreted antigen) de *T.cruzi* en muestras inclusivas de donadores de sangre en el hemocentro de Uberlandia. São Paulo, Brasil. *J Brasileiro Patol* 2001; 37: 111.
25. Malchiodi L, Chiaramonte M, Taranto N, Zwirner N, Margni R. Cross-reactivity studies and differential serodiagnosis of human infections caused by *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* spp; use of immunoblotting and ELISA with a purified antigen (Ag163B6). *Rev Clin Exp Immunol* 1994; 97(1): 417-423
26. Riera C, Verges M, Iniesta L, Fisa R, et al. Identification of a Western blot pattern for the specific diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in human sera. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2012. 86(3):412-6.



Prevalencia e intensidad del parasitismo gastrointestinal por nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú)

Prevalence and intensity of gastrointestinal nematode parasitism in cattle, *Bos taurus*, from Pacanga District (La Libertad, Peru)

Juan C. Colina, Gicelly A. Mendoza, Cesar A. Jara

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú

RESUMEN

El parasitismo por helmintos, en particular por nematodos, es un fenómeno frecuente en rumiantes en general y vacunos en particular; sin embargo, aun cuando se tiene un registro de géneros y especies en el Perú, no se cuenta con datos cuantitativos. Por ello, se propuso una investigación dirigida a determinar la prevalencia e intensidad del parasitismo gastrointestinal por nematodos en bovinos, *Bos taurus*, en las localidades de Pacanga y Pacanguilla (Distrito Pacanga, Provincia de Chepén, Departamento La Libertad-Perú) y su relación con factores sociodemográficos y ambientales, en el primer trimestre del 2012. Se examinaron 338 muestras fecales correspondientes al mismo número de vacunos de 0 a más de 36 meses, de ambos sexos y de las razas cebu, Holstein y Brown Swiss, mediante las técnicas cualitativas de Sheather y Baerman y la técnica cuantitativa de Kato-Katz. La prevalencia global de parasitismo gastrointestinal, por uno o más géneros nematodos, fue de 67.5%. Se encontraron seis géneros de nematodos: *Oesophagostomum*, *Cooperia*, *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus* y *Trichuris*, de los cuales los dos primeros fueron los más frecuentes. Se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$), para la mayoría de géneros, cuando se relacionó las prevalencias de parasitismo gastrointestinal con la edad, Raza y sexo, así como con la localidad y traslado de ganado a zonas de pastoreo no habituales. Se determinó que la intensidad de infección promedio por nematodos fue menos de 24 huevos por gramo de heces (nhpg) y que no hubo diferencia significativa con los factores establecidos ($p > 0,05$).

Palabras clave: Parasitismo gastrointestinal, *Bos Taurus*, Pacanga y Pacanguilla (Perú)

ABSTRACT

The helminths parasitism, particularly by nematodes, is a frequent phenomenon in ruminants in general and in cattle hosts in particular, but even when a record of genera and species in Peru it was published, there is no quantitative data. Therefore, an investigation to determine the prevalence and intensity of gastrointestinal nematode parasitism in cattle, *Bos taurus*, in Pacanga and Pacanguilla towns (District Pacanga, Chepén Province, La Libertad Department, Peru) and its relation to proposed sociodemographic and environmental factors, in the first quarter of 2012. 338 fecal samples corresponding to the same number of cattle from 0 to more than 36 months, of both sexes and of cebu, Holstein and Brown Swiss breeds, were examined by means of Baerman and Sheather qualitative techniques and Kato-Katz quantitative technique. The global prevalence of gastrointestinal parasitism by one or more genera was 67.5 % and six genera of nematodes: *Oesophagostomum*, *Cooperia*, *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, and *Trichuris*, were discover of which the first two were the most frequent. Significant difference ($p < 0.05$) were found for most genera, when the prevalence of gastrointestinal parasitism was associated with age, race and sex, as well as the location and relocation of livestock grazing on unusual areas. It was determined that the average intensity of nematode infection was less than 24 eggs per gram of feces (nhpg) and no significant difference with the factors set ($p > 0.05$).

Keywords: Gastrointestinal parasitism, *Bos taurus*, Pacanguilla and Pacanga (Peru)

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por parásitos gastrointestinales, por su modo de adquisición con los alimentos o el agua de bebida, son las más frecuentes e importantes debido a que generalmente, salvo casos excepciones en las que la carga parasitaria es muy elevada, se caracterizan porque generalmente se presentan de modo subclínico, influyendo negativamente sobre el potencial productivo y reproductivo de los animales de modo directo o indirecto^{1,2}.

Los nematodos de las familias: Trichuridae, Trichostrongylidae, Ancylostomidae, Ascarididae y Strongyloididae, entre los helmintos que parasitan el tracto gastrointestinal de los vacunos, han sido registrados como los más prevalentes a nivel mundial, con una notoria mayor frecuencia en zonas tropicales y subtropicales^{3,4,5,6}. Al mismo tiempo, se ha verificado que la raza, el sexo, la edad y el estado fisiológico son factores dependientes del huésped que juegan un papel clave en la presentación clínica de las infecciones por nematodos gastrointestinales, de los cuales la edad y el estado fisiológico son los más relevantes, habiéndose claramente establecido, por ejemplo, que el parasitismo por *Trichuris ovis*, *Neoascaris vitullorum* y *Haemonchus contortus*, es más grave en animales jóvenes y en el ganado en estado de preñez^{1,3,4,6}.

En vacunos del Perú se han registrado 26 especies de nematodos, de los cuales 23 tienen ubicación gastrointestinal⁷; sin embargo, no se tiene referencias respecto de la prevalencias, incidencias e intensidades de infección y contar con dicha información resulta importante porque puede servir de base para, en caso de ser elevado, proponer medidas de control. Estas razones motivaron la ejecución de una investigación que estuvo dirigida a determinar la prevalencia e intensidad del parasitismo gastrointestinal por nematodos en bovinos, *Bos taurus*, en las localidades de Pacanga y Pacanguilla (Distrito Pacanga, Provincia de Chepén, Departamento La Libertad-Perú) y su relación con factores sociodemográficos y ambientales, en el primer trimestre del 2012.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área y animales estudiados:

Entre enero y marzo del 2012 se analizaron 338 muestras fecales correspondientes al mismo número de vacunos criados en las localidades de Pacanga y Pacanguilla, ubicadas en la provincia de Chepén, departamento de la Libertad, Perú (Fig. 1). Los animales tenían edades comprendidas entre cero y más de 36 meses, pertenecían a las razas Cebu, Holstein y Brown Swiss y a ambos sexos.

Análisis parasitológicos:

Las muestras fecales, aproximadamente cinco g, fueron tomadas directamente de las deposiciones recientemente emitidas utilizando bolsas de plástico de primer uso e inmediatamente etiquetadas y preparadas en cajas de tecnopor para su transporte al laboratorio. Allí, cada muestra fue procesada mediante las técnicas de flotación-centrifugación con solución saturada de azúcar (Sheather) y Baermann modificado en copa para detectar huevos y larvas infectivas (L3) de nematodos^{8,9,10}. Asimismo, se utilizó la técnica de Kato-Katz para determinar la intensidad del parasitismo por nematodos⁸ y coprocultivos para obtener las larvas 3 infectivas. Los géneros de nematodos observados fueron identificados por la morfología de sus huevos y/o larvas^{3,7,8}.

Tratamiento estadístico:

Los resultados de prevalencias se expresaron en porcentajes y la relación con los factores sociodemográficos (raza, edad: tres grupos y sexo) y ambientales (localidad de procedencia y animales trasladados a zonas e pastoreo fuera del lugar habitual). La asociación entre las prevalencias respecto de cada factor establecido se hizo mediante la prueba Chi cuadrado, con un 95% de confianza, usando el programa SPSS v.19 para Windows.

RESULTADOS

La prevalencia global de parasitismo gastrointestinal, por uno o más géneros nematodos, fue de 67.5%. Se encontraron seis géneros de nematodos, de los cuales los más prevalentes fueron *Oesophagostomum* y *Cooperia* (Fig. 1). Se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$), no para todos los géneros, cuando se relacionó las prevalencias de parasitismo gastrointestinal con la edad (Fig. 2),

Raza (Fig. 3) y sexo (Fig. 4), así como con la localidad (Fig. 5) y traslado de ganado a zonas de pastoreo no habituales (Fig. 6).

Se determinó que la intensidad de infección promedio por nematodos fue menos de 24 huevos por gramo de heces (nhpg) y que no hubo diferencia significativa con los factores establecidos ($p>0,05$).

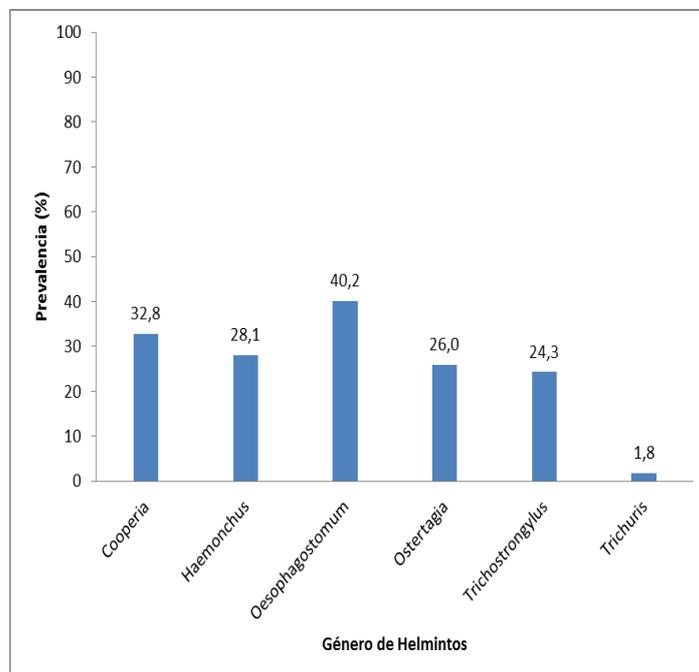
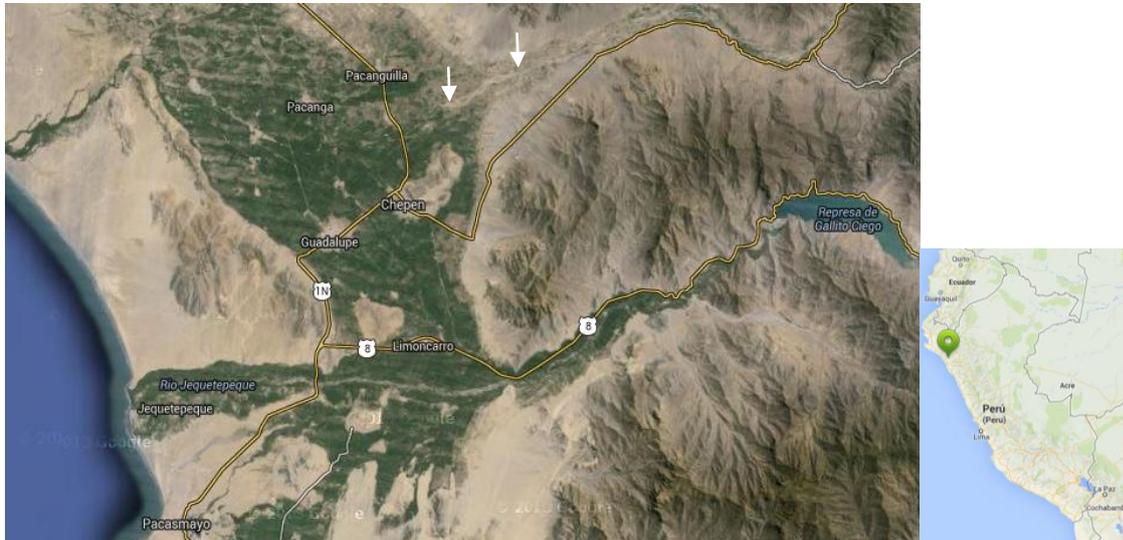
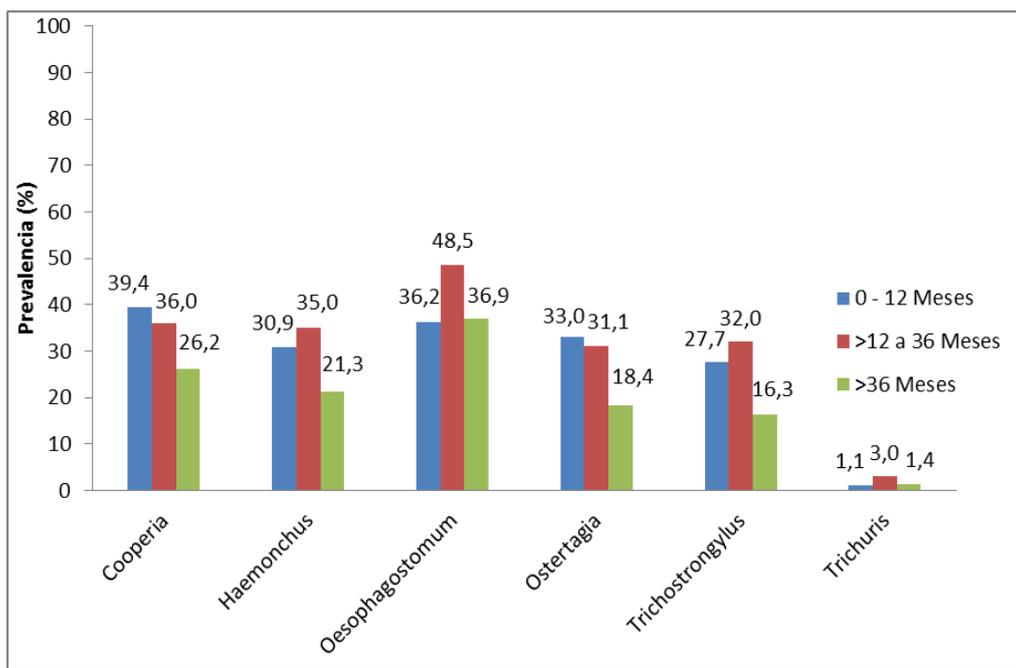
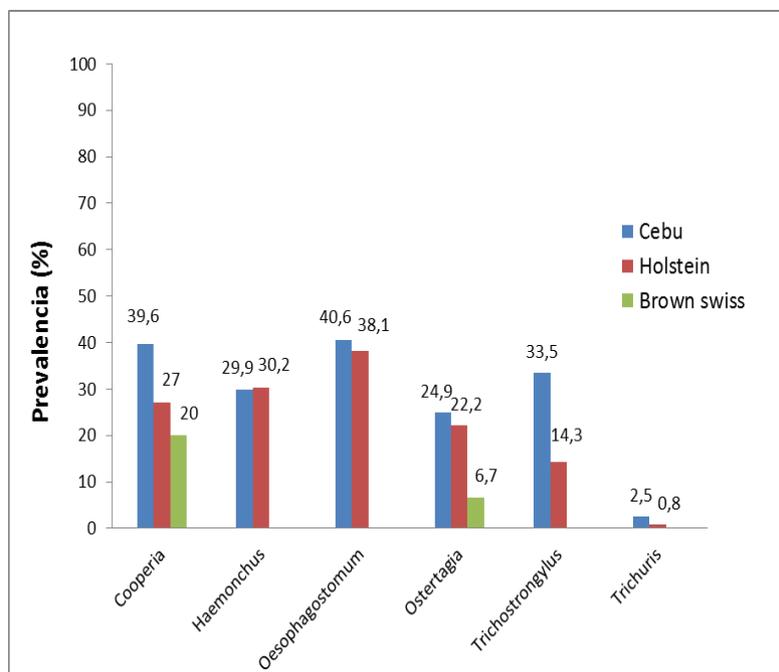


Fig. 1. Prevalencia del parasitismo gastrointestinal por género de nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú), entre enero y marzo del 2012.



Haemonchus, Ostertagia, Trichostrongylus: p < 0.05

Fig. 2. Prevalencia del parasitismo gastrointestinal por género de nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú), entre enero y marzo del 2012, relacionada con la edad.



Haemonchus, Oesophagostomum, Ostertagia, Trichostrongylus: p < 0.05

Fig. 3. Prevalencia del parasitismo gastrointestinal por género de nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú), entre Enero y Marzo del 2012, relacionada a la raza.

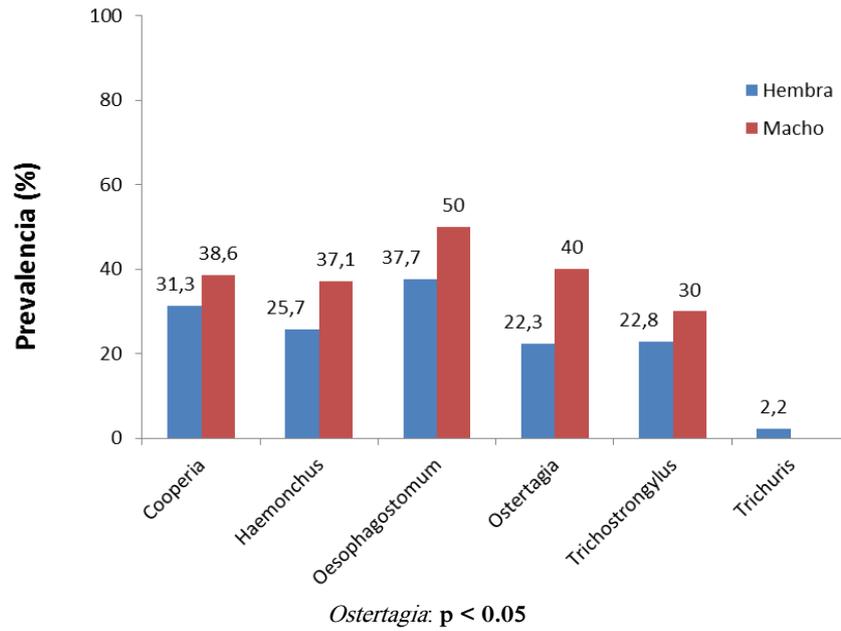


Fig. 4. Prevalencia del parasitismo gastrointestinal por género de nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú), entre enero y marzo del 2012, relacionada al sexo.

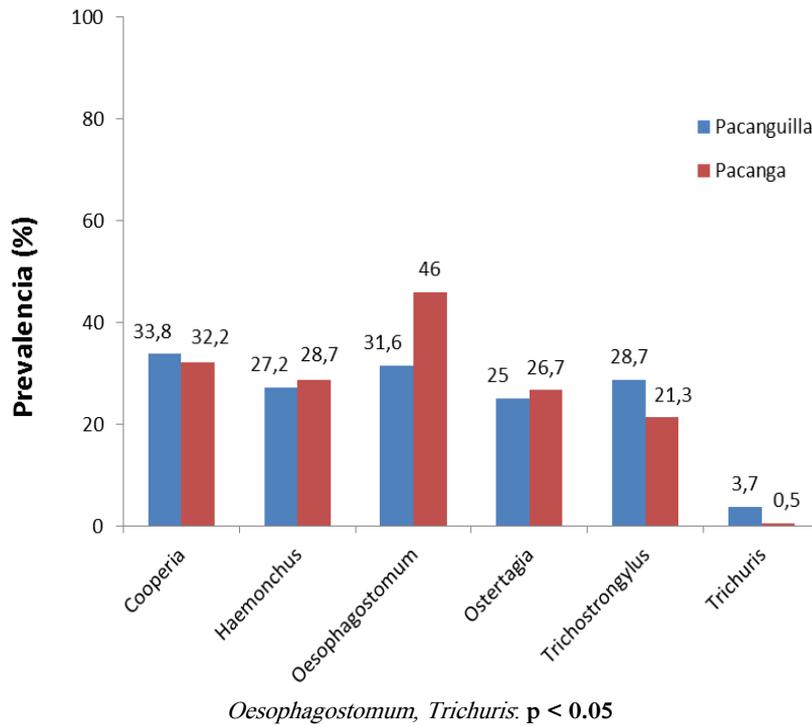


Fig. 5. Prevalencia del parasitismo gastrointestinal por género de nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú), entre enero y marzo del 2012, relacionada a la localidad.

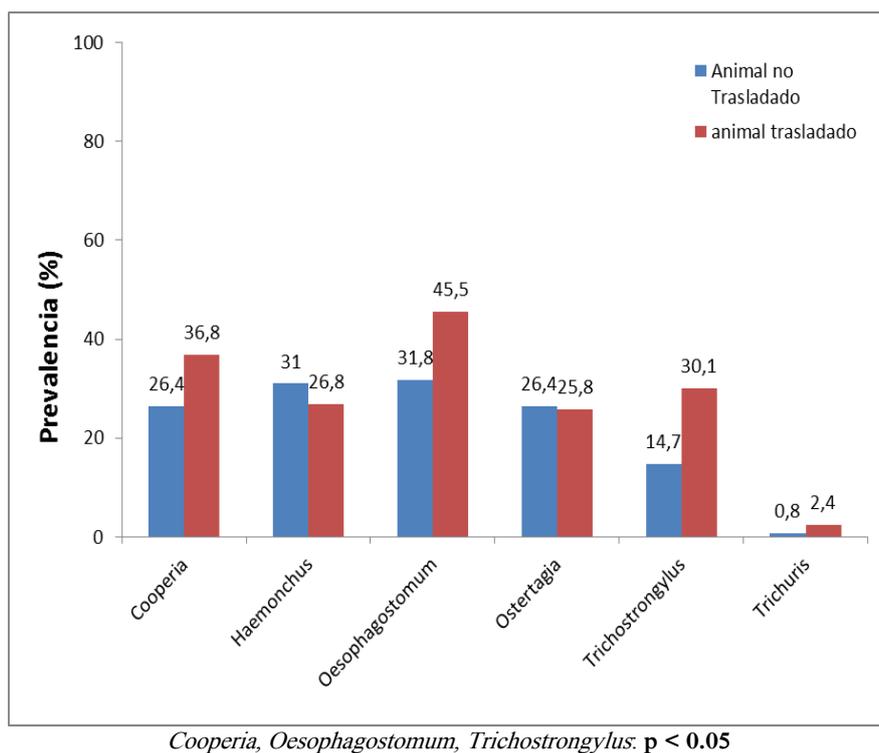


Fig. 6. Prevalencia del parasitismo gastrointestinal por género de nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú), entre enero y marzo del 2012, relacionada al traslado de ganado a otras localidades.

DISCUSIÓN

Los géneros de nematodos hallados en la presente investigación han sido registrados anteriormente en vacunos del Perú⁷; sin embargo, no ha sido posible determinar las especies debido a que para ello se requiere contar con el parásito adulto, el cual se obtiene luego de sacrificar a los animales, aspecto que no se ha hecho en este estudio. Entonces, con la metodología empleada: observación de huevos (forma, color, presencia de opérculo) y larvas infectivas (tipo, cantidad, presencia de vaina, tamaño de blastómeros), no se puede tener un 100% de seguridad que se trate de tal o cual especie porque generalmente los géneros registrados están conformados por más de una especie, con huevos y larvas muy semejantes y difíciles de discernir entre una y otra, aspecto que se logra observando las espículas del parásito adulto^{8,10,11,12}.

Al mismo tiempo, con mayores o menores prevalencias, los géneros aquí reportados han sido también hallados en vacunos de diferentes países del mundo^{11,12,13,15,16,17,18}; en este contexto, la prevalencia global (67.5%) determinada en el presente trabajo es comparable al reportado en Venezuela¹¹ y Cambodia¹⁶, lo cual probablemente esté relacionado al clima semejante de dichas zonas con la del presente estudio: clima cálido, vegetación abundante pero variable dependiendo de la estación, por lo que a veces se opta por trasladar al ganado a zonas distintas, y lluvia también irregular. Se debe recordar que el mayor o menor porcentaje de parasitación depende de muchos factores, tales como viabilidad de huevos o larvas, que a su vez depende de factores reinantes en una determinada época del año, edad y estado inmune del huésped^{1,2,21}.

Oesophagostomum, tal y como ha sido comunicado en Cambodia¹⁶ y Costa Rica¹⁷, resultó ser el género más frecuentemente encontrado, aspecto que probablemente esté relacionado con la biología y morfología de este nematodo; es decir, se trata de un nematodo grande en comparación a los demás hallados, se alimenta de sangre por tratarse de un ancilostomideo materia que asegura la producción de huevos, pues se ha determinado que cada hembra produce alrededor de ocho mil huevos al día y el parasitismo generalmente es producido por numerosas especies²⁰. Concordante con ello, y debido a que tienen un tamaño similar entre ellos (todos pertenecen a la misma familia: Trychostrongylidae)

Cooperia, *Haemonchus*, *Ostertagia* y *Trichostrongylus* aparecen en segundo término con porcentaje de frecuencias semejantes; sin embargo, aunque también se alimentan de sangre no viven en el duodeno sino en la panza, como es el caso de *Haemonchus* o yeyuno, como es el caso de los otros, en donde el consumo de glucosa no es tan eficiente como en el duodeno, hábitat de *Oesophagostomum*^{2,20}.

Como podía esperarse, se ha encontrado que el parasitismo por nematodos se relaciona con la edad. En efecto, en la presente investigación deliberadamente se agrupó a los vacunos en: 0 a un año, de más de un año a tres años y mayores a tres años, debido a que, aunque no son intervalos estadísticamente válidos, desde el punto de vista biológico y de manejo de crianza, es lo más coherente. En tal sentido, la mayoría de trichostrongilidos parasitan con mayor frecuencia a los vacunos de entre uno y tres años, probablemente porque son los más activos y los menos cuidados; es decir, los jóvenes de hasta un año se alimentan de leche materna mayormente y los de más de tres años se alimentan de pasto que se les provee en el sitio de crianza. Resultados similares fueron hallados en vacunos de Zulia (Venezuela)¹¹, y en aquellos examinados por Soca et al.¹⁴, que correspondieron todos ellos a animales jóvenes, de menos de tres años, y en los cuales también los géneros *Haemonchus*, *Ostertagia* y *Trichostrongylus* resultaron ser los más frecuentes.

El hecho de que la prevalencia de parasitismo por nematodos es mayor en animales raza cebú, podría deberse a que se ha comunicado que esta raza es naturalmente susceptible a las infecciones en general y que por ello son criados de preferencia en lugares donde no han criado a vacunos ni ovinos anteriormente^{1,2,3}; en caso del Perú: la selva. Al mismo tiempo, debe considerarse que, conforme se va cruzando la raza va perdiendo adquiriendo resistencia a la infección por parásitos, hecho que explica por qué no todos los géneros tienen el mismo comportamiento^{16,21}.

La prevalencia según el sexo del animal (Fig. 4) también estuvo relacionado a las infecciones teniendo diferencia significativa la infección por *Ostertagia*, en animales machos, esto se puede deber a que los animales machos en su mayoría fueron menores de 12 meses por lo tanto son más susceptibles a las infecciones mientras que en los machos mayores a un año se puede deber a sus hormonas sexuales, las cuales suprimen la respuesta humoral y celular^{18,19,21}.

La distribución de los parásitos por localidad es variada, teniendo una diferencia significativa *Oesophagostomum*, el cual presenta una mayor prevalencia en la localidad de Pacanga mientras que *Trichuris* lo hace en Pacanguilla, esto es quizá a que estos parásitos son de ciclos directos y cosmopolitas, por lo tanto pueden estar distribuidos en cualquier lugar variando de un lugar a otro por factores climáticos y geográficos². Podría también considerarse la resistencia de los huevos a diversos lugares, es decir, *Oesophagostomum*, aunque tiene huevos de cascara delgada, como corresponde aun ancilotomideo, desarrolla rápidamente a L3 que es envainada y resistente; en cambio, *Trichuris* presenta huevos de cascara gruesa y muy resistentes a las condiciones adversas^{2,3,4,17,18,19}.

Finalmente, la intensidad de parasitismo resultó ser leve y sin diferencias significativas ($p > 0.05$) con los factores evaluados, ya que el promedio del número de huevos está entre 0 a 24, esto se debería a las altas temperaturas y escasas lluvias durante el año en ambas localidades, a diferencia de los trabajos realizados por Soca et. al.¹⁵ quienes comunicaron recuentos mayores a 1200 hpg en localidades donde se reporta una pluviosidad de hasta casi 200 mm y Urdaneta-Fernández et. al.¹² encontraron, en zonas con pluviosidad entre 600 a 800 mm, recuento promedio de 53.4 nhpg. Además, esta forma indirecta de evaluar la intensidad puede verse afectado por el sistema inmune del animal, el cual disminuye la expulsión de huevos y porque se ha especulado que para que los animales mantengan un parasitismo crónico, las poblaciones de nematos y parásitos en general autolimitan sus poblaciones a cantidades no "llamativas" para no despertar la atención y combate del sistema inmune^{2,4,15,21}.

CONCLUSIONES

- Las prevalencia de nematodos gastrointestinales en vacunos, *Bos Taurus*, de Pacanga y Pacanguilla (La Libertad, Perú) es alta, sobre todo por los géneros *Oesophagostomum* y *Cooperia*.
- Hay diferencia significativa entre los factores edad, raza y sexo del ganado así como localidad y traslado de ganado a otras localidades y la prevalencia de parasitismo gastrointestinal por, género de nematodo.
- La intensidad de infección por nematodos es leve.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Charlier J, Høglund J, Samson-Himmelstjerna G, Dorny P, et al. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: impact on production, diagnosis and control. *Vet Parasitol*, 2009; 164: 70-79
2. Bioudes A, Worner J, Hedlefs R, Gummouw A. A review of domestic animal diseases within Pacific Islands Region. *Acta Tropica*, 2014; 132: 23-38
3. Ballweber LR. *Veterinary Parasitology*. USA: Butterworth-Heinemann Press, 2001.
4. Domínguez J, Rodríguez R, Honhold N. Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en bovinos del estado de Yucatán. *Veto Méx.* 1993; 24 (3).
5. Kassai T. *Helminthología Veterinaria*. España: Edit. Acribia, 1998
6. Regassa F, Sori T, Dhuguma R, Kiros Y. Epidemiology of Gastrointestinal Parasites of Ruminants in Western Oromia, Ethiopia. *Intern J Appl Res Vet Med*. 2006; 4.
7. Sarmiento L, Tantaleán M, Huiza A. Nematodos parásitos del hombre y de los animales en el Perú. *Rev Peruana Parasit*, 1999; 14(1-2): 9-65
8. Hendrix CM. *Diagnóstico Parasitológico Veterinario*. España: Harcourt-Brace, 1999
9. Thienpont D, Rochette F, Vanpajjs O. *Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico*. 2^{da} ed. Bélgica: Janssen Research Foundation, 1986.
10. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *Cultivo e Identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino*. Ginebra, 1968.
11. Urdaneta-Fernández M, Urdaneta Á, Parra A, Chacín E, Ramírez-Barrios R, Angülo-Cubillán F. Prevalencia y grado de infección de helmintos gastrointestinales en rebaños bovinos doble propósito del municipio Miranda del estado Zulia, Venezuela. *Rev. Universidad del Zulia*. 2011; 2 (2): 184-193.
12. Barragán SPG. Prevalencia de parásitos gastrointestinales y pulmonares en terneros lactantes pertenecientes a explotaciones ganaderas del noroccidente del Municipio de Majagual, Sucre. [Tesis]. Facultad de ciencias Agropecuarias, Universidad de Sucre, Sucre; 2006.
13. Gaston A, Prosper O, Bessin R. Gastro-intestinal nematodes and cestodes of cattle in Burkina Faso. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 200; 5(1): 17-21.
14. Soca M, Simón L, Soca M, García E. Las nematodosis gastrointestinales de bovinos jóvenes sistemas silvopastoriles comerciales. *Pastos y Forrajes*. 2003; 26: 47 -52.
15. Zárate R. Parásitos en rumiantes. Departamento de parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UANL. En: *Memoria Segundo Simposio sobre Enfermedades que afectan a los Bovinos en el Sistema Vaca/Becerro, unión Ganadera Regional de Nuevo León, México*; 2003.
16. Dorny P, Stoliaroff V, Charlier J, Meas S, et al. Infections with gastrointestinal nematodes, *Fasciola* and *Paramphistomum* in cattle in Cambodia and their association with morbidity parameters. *Vet Parasitol*, 2011; 175: 293-299
17. Jiménez AE, Fernández A, Alfaro R, Dolz G, et al. A cross-sectional survey of gastrointestinal parasites with dispersal stages in feces from Costa Rican dairy calves. *Vet Parasitol*, 2010; 173: 236-246
18. Theodoropoulou G, Peristeropoulou P, Kouam MK, Kantzoura V, et al. Survey of gastrointestinal parasitic infections of beef cattle in regions under Mediterranean weather in Greece. *Parasit Internat*, 2010; 59: 556-559
19. Sardar SA, Eshan MA, Anower AKM, Rahman MM, Islam MA. Incidence of liver flukes and gastrointestinal parasites in cattle. *Bangl J Vet Med*, 2006; 4(1): 39-42
20. Valcárcel SF. *Atlas de Parasitología Ovina*. Zaragoza, España: Servet, 2009
21. Foster N, Elsheikha HM. The immune response to parasitic helminthes of veterinary importance and its potential manipulation for future vaccine control strategies. *Parasitol Res*, 2012; 110: 1587-1599



Cultivo experimental de *Arthrospira jenneri* con medio nutritivo de residuos de pescado

Experimental Culture of *Arthrospira jenneri* with waste fish nutrient medium

Alina Zafra Trelles¹, Juan Merino Moya¹, Federico Gonzales Veintimilla¹, Erika Alayo Rodríguez², Johanna Briceño Valera², Edith Rosas Quispe², Jhones Castro Alfaro² y Kriss Vela Alva²

¹Departamento de Pesquería. ²Escuela AP de Pesquería. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

RESUMEN

Se investigó la evolución del cultivo de *Arthrospira jenneri* "espirulina" con residuos de anchoveta a concentraciones de 5, 10 y 15 mL en una corrida experimental realizada de diciembre a enero 2013. Se evaluó la densidad cada dos días a 0,1 mL⁻¹ y las tasas de crecimiento. La muestra de agua se obtuvo del humedal Chou Chou (Salaverry) y la espirulina se separó a través de una malla de 40 µ. Se cultivó un litro de *A. jenneri* con 100 mL de inóculo, 10 ppt de salinidad, 9 de pH y 24°C, en sistema de botellas con aireación y luz continua por 15 días en un invernadero. La densidad de *A. jenneri* fue de 0,76; 1,85 y 2,08 x 10³ tricomas mL⁻¹ y el crecimiento se inició al sexto día con tasas de crecimiento de 0,304; 0,369 y 0,377 día⁻¹ respectivamente. Se concluye que mayor densidad y tasas de crecimiento específico de *A. jenneri* se obtuvo con 15 mL de residuos de anchoveta.

Palabras clave: *Arthrospira jenneri*, espirulina, cultivo, residuos de pescado, densidad, tasa de crecimiento específico.

ABSTRACT

Cultivation of *Arthrospira jenneri* "spirulina" at concentrations of 5, 10 and 15 mL with waste anchovy was investigated in an experimental court conducted from December to January, 2013. Density was evaluated every two days at 0,1 ml and specific growth rate was evaluated. The water sample was obtained in wetland Chou Chou (Salaverry) and spirulina algae were separated through a 40 µ mesh. *A. jenneri* liter of 100 mL inoculums, 10 ppt salinity, pH9 and 24 °C in a bottle system with aeration and light continuous was cultured for 15 days in a greenhouse. The *A. jenneri* density was 0,76; 1,85 and 2,08 x 10³ trichomes mL⁻¹ and growth began on the sixth day with growth rates of 0,304; 0,369 ; 0,377 day⁻¹ respectively. It is concluded that higher density and specific growth rates of *A. jenneri* was obtained with 15 ml of waste anchovy.

Keywords: *Arthrospira jenneri*, spirulina, farming, fish waste, density, specific growth rate.

INTRODUCCIÓN

Espirulina es el nombre común con se conoce al alga multicelular conformada por dos géneros: *Spirulina* y *Arthrospira*, con 15 especies registradas, de las cuales *A. platensis* es la más investigada a nivel mundial en diferentes medios nutritivos y condiciones de parámetros físico químicos¹. Debido a que se puede cultivar extensiva, semi-intensiva e intensivamente y a que le usa como alimento humano y como complemento de dietas de peces y langostinos, China, por ejemplo, produce 19 080 T, con ganancias de US. \$ 16,6 x 10⁶⁻².

En efecto, se ha señalado que, por su elevado porcentaje de pigmentos β-carotenos y ficocianinas con amplia capacidad antioxidante, la espirulina es utilizada para combatir las alergias, el cáncer, el colesterol elevado; como suplemento y complemento de proteína en el cultivo de *Litopenaeus*

schmitti, *Macrobrachium rosenbergii*, *Penaeus monodon*, *Haliotis*, *Oreochromis niloticus* y *O. mossambicus*, con altos rendimientos en el crecimiento y metamorfosis^{2,3,4,5,6} y en el tratamiento de agua residual: *Scenedesmus* sp. remueve el 94,4% de nitrógeno amoniacal, el 77,5% de fosfatos y el 35,5% de materia orgánica¹⁰.

El cultivo de espirulina se puede realizar en aguas salobres y alcalinas, de modo artesanal, semi-industrial e industrial, teniendo en cuenta que los estanques deben tener ángulos redondos, con superficies entre 5 a 40 m²; las cosechas se pueden realizar entre los 15 a 20 días usando inóculos de medio nutritivo del 10 al 20%, en condiciones de luminosidad^{7,8,9}. De este modo, *S. maxima* y *S. platensis*, las microalgas más investigadas, han sido cultivadas en medio nutritivo Zarrouk con rendimientos de 60 a 68%, asimismo, en medios a base de: fertilizantes foliares, abonos de animales y efluentes de industrias pesqueras, con la idea de abaratar costos. Así, por ejemplo, *S. maxima* fue cultivada con efluentes orgánicos y se obtuvieron densidades de 530, 1380, y 9500 tricomas/mL después de 2, 15 y 30 días con inóculos de 200 mL^{11,12}.

A. jenneri es una microalga que habita en pozos o charcas de agua poco profundas, de suelos salinos de permanente filtración y en medios sulfurosos y carbonatados, como las de Puerto Chicama¹³. Cultivada en medio Zarrouk, se obtiene 297067 tricomas/mL³, mientras que si se utiliza medios a base de residuos de pescado se logra un crecimiento de 1,30 x10⁴ tricomas/mL con pH de 9,0 a 9,5 cuando el alga se aisla de los humedales de Salaverry. En el cultivo de *Spirulina platensis* var. *Paracas*^{15,16} con residuos orgánicos de excrementos se produce 204,6 cél/mL y presenta una tasa de crecimiento específico de 0,4 d⁻¹ y remueve el fósforo en 41,6 %. El conocimiento de la tecnología de cultivo de *A. jenneri* a diferentes escalas es el principal fundamento científico debido a que en Trujillo La Libertad existe un gran porcentaje de tierras no cultivables y que se podrían aprovechar si se conoce la tecnología de cultivo. Además usar otra fuente alternativa de medios nutritivos más cómodos que los artificiales es una ventaja económica y el reciclaje natural que realiza la espirulina brinda una de las funciones ecológicas importantes en la cadena trófica. Igualmente el manejo del cultivo de la espirulina puede ofrecer mayor oportunidad de alimento y empleo para las comunidades costeras por los múltiples usos de esta microalga en la Acuicultura, alimentación y medicina.

El objetivo de la investigación fue realizar el cultivo experimental de *Arthrospira jenneri* "espirulina" con medio nutritivo de residuos de pescado.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó el cultivo experimental de *A. jenneri* "espirulina" entre diciembre 2012 a enero 2013 con una muestra de agua del humedal ChouChou (Salaverry) y de mayo a diciembre se colectó muestras mensuales de agua en los ecosistemas naturales de los humedales El Tubo (Malabrigo), ChouChou (Salaverry) y Huanchaco (Fig. 1).

En la experimentación se implementó un invernadero 5,0 x 6,0 x 1,8 m para que brinde condiciones de ambiente seco con disponibilidad de aireación y luz para desarrollar los cultivos de espirulina con medio nutritivo a base de anchoveta.

En la corrida experimental, se colectó 10L de agua en un balde plástico en los humedales ChouChou (Salaverry), e in situ se midió la salinidad con un refractómetro Aquatic Ecosystem, pH con un pH Testr 1, y la temperatura con un termómetro Taylor model 9842N. Esta muestra se revisó al microscopio a 4 y 10 X luego se filtró en una malla de 40 µ para separar la espirulina.

El medio nutritivo se preparó con residuos de pescado, se pesó 100 g de anchoveta en una balanza Camry y luego se aforó a 1L con agua potable en un vaso de precipitación por 20 minutos, posteriormente se filtró con papel de filtro y algodón para separar los restos de piel y vertebras y se almacenó en botellas plásticas de 1L además se conservó al ambiente. Este medio nutritivo se agregó con una pipeta de 1, 5 y 10 ml en el sistema de botellas de cultivo de la espirulina en la experimentación.



Fig. 1. Recolección de la muestra de espirulina *A. jenneri* en los humedales de ambiente natural El Tubo (izquierda), ChouChou (centro) y Huanchaco (derecha) en Malabrigo, Salaverry y Huanchaco.

Luego se realizó el cultivo de 1 L de espirulina con las condiciones de salinidad, pH y temperatura del ambiente natural por 15 días en un set de baterías de botellas de 2,5 L con un inóculo algal de 100 ml e identificadas con concentraciones correlativas de 1 a 15 ml. Posteriormente se seleccionaron las concentraciones de 5, 10 y 15 ml de residuos de anchoveta para determinar los parámetros de densidad y crecimiento.

La densidad de la espirulina se evaluó cada dos días contando el número de tricomas en 0,1 ml¹⁷, y luego se expresó en tricomas por mililitro, en cuanto al crecimiento se determinó a través del número de tricomas por día de cultivo y a la tasa de crecimiento específico¹⁸ (μ) día⁻¹. Finalmente se realizó el análisis estadístico de tendencia central en Past y el Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cultivo experimental de *A. jenneri* con muestra procedente del humedal ChouChou de Salaverry (Fig.2) las densidades fueron de 0,76; 1,85 y 2,08 x 10³ tricomas ml⁻¹, obtenidas a 5, 10 y 15 ml con el medio nutritivo de residuos de anchoveta (Tabla 1). Esto indicaba que la relación entre la concentración del medio nutritivo y la densidad de la espirulina fue directa. Lo mismo ocurrió con *S. maxima* al triplicar su densidad a 1,38 x 10³ tricomas/ml a los 15 días con efluentes orgánicos usando 200 ml de inóculo¹².

Sin embargo, en las experimentaciones de cultivo de *A. jenneri* con medios nutritivos Zarrouk³ y f/2 Guillard¹⁴ a los 13 y 10 días se obtuvieron mayores densidades 2,97 x 10⁵ y 1,48 x 10⁴ tricomas ml⁻¹ respectivamente. Esto posiblemente se deba a que estos medios nutritivos son más completos en su composición que el medio preparado por residuos de anchoveta que fue una fuente alternativa de bajo costo.

Además una de las diferencias en su composición fueron las vitaminas y otra de ellas, la presencia de carbonatos que ayudan a mantener el pH por encima de 8 como ocurre con el medio Zarrouk.

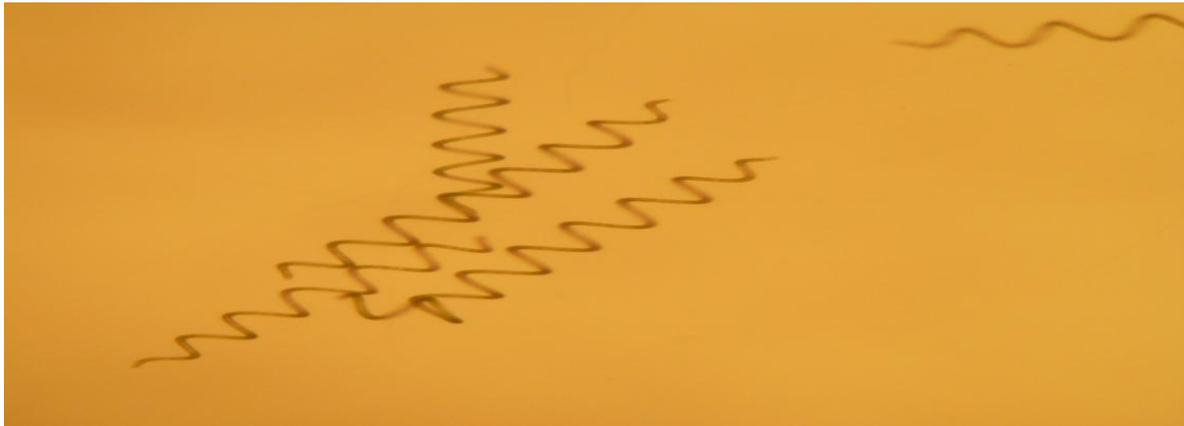


Fig. 2. Muestra de *A. jenneri* (10 X) obtenida del Humedal ChouChou de Salaverry.

En cuanto al crecimiento de *A. jenneri*, recién al sexto día los cultivos lograban el punto de inflexión en el crecimiento de espirulina y las tasas de crecimiento fueron de 0,304, 0,369 y 0,377 día⁻¹ para las concentraciones de 5, 10 y 15 ml, similar tasa de crecimiento de crecimiento (0,400 día⁻¹) se obtuvo con *S. platensis* emplear aguas residuales como medio nutritivo^{15,16}.

Al comparar estos resultados con los obtenidos por Luján³ y Alayo¹⁴ se puede decir que el tiempo de adaptación de *A. jenneri* fue el mismo debido a que necesita de la primera semana para adecuarse a las condiciones experimentales, este crecimiento no fue exponencial por las fluctuaciones en la segunda semana de cultivo. Esto se debe a que la, salinidad, pH y temperatura influyen en el cultivo. Aunque uno de los parámetros desencadenantes para la densidad y crecimiento de la espirulina fue la temperatura y en esta experimentación se mantuvo debajo del requerimiento óptimo (Tabla 2).

De mayo a diciembre en el 2013 no se encontró espirulina en las muestras de agua de los humedales El Tubo de Puerto Malabrigo, ChouChou (Salaverry), y Huanchaco. Una de las causas principales es que la espirulina necesita de temperaturas entre 25 a 35°C¹⁹ y aguas mineralizadas, pero en los humedales investigados las condiciones ambientales en cuanto a la temperatura, salinidad y pH fueron desfavorables para su crecimiento y reproducción. Así la Temperatura Superficial del Mar en el litoral de La libertad fluctuó entre 15 a 18°C²⁰ con características de año frío mientras que la temperatura mínima en los humedales El Tubo, ChouChou y Huanchaco fue de 17°C. Si se considera el rango óptimo de temperatura para espirulina esta se encontraba por debajo de su tolerancia entre 8 y 18°C provocando menor densidad y crecimiento.

Los humedales presentaron temperaturas de agua entre 17 a 19°C, muchas de las charcas estuvieron secas como ocurrió en el humedal El Tubo, donde además la salinidad fue 90 ppt como promedio, en Huanchaco ocurrió lo contrario en cuanto a la salinidad, muchas de las pozas artificiales estuvieron afectadas por la erosión marina e igualmente estaban secas y las que tuvieron agua presentaron una salinidad de 5 ppt. En Salaverry, en la salida preliminar de enero 2013 la temperatura estuvo en 24°C, pero en las muestras de agua de mayo a diciembre en este humedal no se encontró espirulina. Se observó la presencia de sal en la orilla y el olor del agua era fétido además la temperatura fluctuaba entre 17 a 18°C (Tabla 2). En la revisión microscópica de ésta agua se encontró protozoarios y euglenas lo que indicaba contaminación.

En el humedal de Huanchaco, la temperatura fluctuó entre 17 y 19 °C (Tabla 2), en su composición sólo se encontraron diatomeas y clorofitas y la salinidad fue de 5 ppt, menor a los otros dos humedales. En este humedal los tres parámetros de temperatura, salinidad y pH estuvieron por debajo del óptimo requerido para la espirulina.

El cultivo de espirulina con residuos de anchoveta se obtuvo en 15 días, con una relación directa entre la concentración y la densidad y tasa de crecimiento. Es muy importante experimentar con fuentes alternativas de medios nutritivos²¹ para cultivar microalgas, debido a que los residuos de pescado son una alternativa de disminuir costos porque se aprovecha los nutrientes de los residuos orgánicos para transformarlos en biomasa algal.

Aun falta experimentar, si un medio nutritivo con mayor concentración de materia prima (residuos de pescado) puede incrementar la densidad de tricomas y disminuir el tiempo de adaptación de la espirulina.

Algunas experimentaciones paralelas con este medio nutritivo de residuos de anchoveta en aguas provenientes de la crianza de peces ornamentales permitió un crecimiento de 9×10^6 cél/ml de *Chlorellavulgaris*, en tres días de cultivo (Fig.3).

Esto permite inferir que se logra el crecimiento en diferentes especies de microalgasy que se debe continuar experimentando con los parámetros de cultivo para la espirulina.

Tabla 1. Densidad (tricomas ml⁻¹) de *A. jennifer* obtenidas con concentraciones de 5,10 y 15 mL de residuos de anchoveta con muestra procedente del humedal ChouChou de Salaverry realizado de diciembre a enero 2013.

Medio nutritivo [mL]	Tricomas de espirulina a 0,1 ml															Total 1mL	
	Días de cultivo																
	1	3	5	7	9	11	13	15	1	3	5	7	9	11	13	15	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	2	2	2	110
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	3	4	3	150
3	0	0	2	1	4	0	2	2	4	2	5	4	5	5	6	5	470
4	0	0	3	2	3	2	4	3	6	4	6	6	4	8	5	8	640
5	4	1	4	4	4	4	5	3	5	2	6	6	6	6	8	8	760
6	3	2	3	2	5	5	9	8	11	8	6	12	3	10	9	10	1050
7	0	2	4	5	3	4	4	6	1	12	4	10	8	10	8	13	940
8	2	2	4	2	12	4	10	10	8	8	7	12	12	12	14	14	1330
9	1	1	0	2	11	3	14	10	8	14	10	12	7	10	10	14	1270
10	5	6	6	8	10	8	12	12	11	16	10	18	12	18	18	15	1850
11	5	4	6	4	5	5	8	8	10	10	11	12	5	14	9	14	1300
12	4	4	6	6	8	8	8	10	10	10	12	15	12	16	10	16	1550
13	5	5	8	5	10	8	10	12	12	14	14	16	12	18	12	16	1770
14	5	6	8	6	10	10	10	14	14	14	14	22	16	24	16	16	2030
15	6	6	10	5	12	8	14	18	14	18	16	18	16	20	13	14	2080

Tabla 2. Salinidad (‰), pH y temperatura (°C) promedio del agua en los humedales El Tubo de Malabrigo, ChouChou de Salaverry y Huanchaco, y Temperatura Superficial del Mar promedio (TSM) del litoral La Libertad²⁰

Meses 2013	El Tubo –Malabrigo			Chou Chou–Salaverry			Humedal–Huanchaco			TSM (°C)
	S	pH	T	S	pH	T	S	pH	T	
	(‰)		°C	(‰)		°C	(‰)		°C	
Mayo			18			17			19	18
Junio			18			17			18	17
Julio			18			17			17	16
Agosto			17			17			17	15
Setiembre	90	10	17	10	9	18	35	5	17	16
Octubre			17			17			17	16
Noviembre			17			17			17	16
Diciembre			18			18			18	17



Fig. 3. Prueba del medio nutritivo de residuos de anchoveta en el crecimiento de *Chlorella Vulgaris*

CONCLUSIÓN

- En el cultivo experimental de *Arthrospira jenniferi* "espirulina" la mayor densidad y tasa de crecimiento fue de $2,08 \times 10^3$ tricomas mL⁻¹ y 0,377 día⁻¹ a una concentración de 15 mL de residuos de anchoveta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Volkman H, Imianovsky U, Oliveira J, Sant E. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in desalinated wastewater and salinated Synthetic medium: protein content and Amino-acid profile. *Brasil J Microbiol* 2008; 39: 98-101.
2. Ahsan M, Habib B, Parvin M, Huntington T. A Review on culture production and use spiruline as food for human and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries on Aquaculture circular-FAO, 2008.
3. Luján M. Cultivo en condiciones de laboratorio de *Arthrospira jenniferi* (Hassall) Stizenberg "espirulina" procedente de Puerto Chicama (La Libertad-Perú). Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. 2000.
4. Chamorro G, Salazar M, Gómez K, Pereira C, et al. Actualización en la farmacología de *Spirulina Arthrospira* un alimento noconvencional. *Arc Latinoamer Nutric* 2002; 52(3):232-240.
5. Ramírez L, Olvera R. Conocimiento acerca del alga *Spirulina (Arthrospira)*. *Interciencia* 2006; 31(9):1-5.
6. Jaime B, Villarreal H, García T, Gaxiola R. Empleo del polvo de *Spirulina platensis* en la alimentación de zoeas y mysis de *Litopenaeus schmitti*. *Avan Nutric Acuic* 2004; 617: 635
7. Jourdan J. Cultivo artesanal de *Spirulina*. <http://www.spirulinaresource.com/microgourden.html> 2000.
8. Costa J, Lindes G, Atala D, Mibielli G, Kruger T. Modelling of growth conditions for Cyano-bacterium *Spirulina platensis* in microcosmo. *World J Microbiol & Biotechnol* 2000; 16:15-18.
9. Ayala F, Ayala A. Cultiva tu espirulina. *Soluciones Naturales. Rev Athanor* 2010; 82: 87-90.
10. Andrade C, Vera A, Cardenas C, Morales E. Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Rev Téc Ing* 2009; 2(29): 126-134.
11. Ratana C, Chirasuwan N, Siangdung W, Paithoonrangsarid K, et al. Cultivation of *Spirulina platensis* using pig wastewater in a semi-continuous process. *J Microbiol Biotechnol* 2010; 20 (3):609-614.
12. Pedraza P. Cultivo de *Spirulina* máxima para suplementación proteica. *Livestock Research for Rural Development* 1989; 1(1):1-10.
13. Fernández A. Taxonomía e Importancia de *Arthrospira jenniferi* (Hassall) Stizenberg "Spirulina" (Oscillatoriaceae – Cyanophyceae). En: 2da Jorn Invest Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú 1994; pp.112-117.
14. Alayo E. Crecimiento poblacional y nivel proteico de *Arthrospira jenniferi* "espirulina" en base a residuos de pescado. Tesis de Biólogo Pesquero. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2012.
15. Pelizer L, Carvalho J, Sato S. *Spirulina platensis* growth estimation by pH determination at different cultivations conditions. *Electronic J Biotech* 2002; 5(3): 251-257.
16. Mezzomo N, Galon A, Siebert R, Oliveira P, et al. Cultivation of microalgae *Spirulina platensis (Arthrospira platensis)* from biological treatment of Swine wastewater. *Cien Tecnol Aliment. Campinas* 2010; 30(1):173-178.
17. Planchón G, Fuentes R. Esquema de guía de cultivo de *Spirulina*. UNM San Marcos. Cochabamba, Bolivia. 1993.
18. Guillard R. Division rates. In: J. Stein (ed.). *Handbook of Phycological Methods. Culture methods and growth measurements*. Cambridge Univ. Press. 1973; pp.289-311.
19. Rodríguez A, Triana F. Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* spp. (*Arthrospira*) bajo condiciones de laboratorio. Tesis Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia. 2006
20. IMARPE. Temperatura Superficial del Mar. [acceso: 19/3/2013] Disponible en: [Satelite.imarpe.gob.pe/uprsig/sst-provhtml.2013](http://satelite.imarpe.gob.pe/uprsig/sst-provhtml.2013).
21. Rosales N, Bermúdez J, Moronta R, Morales E. Gallinaza: un residual avícola como fuente alternativa de nutrientes para la producción de biomasa microalgal. *Bogota Colombiana de Biotecn.* 2007; 9(1): 41-48.



Rol de los oconales en el equilibrio biológico de los ecosistemas altoandinos del norte del Perú, 2013

Role of oconales in the biological balance of the high Andean ecosystems of northern Peru, 2013

José Mostacero León, Rosa Ramirez Vargas, Freddy Mejía Coico, William Zelada Estraver

Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas. jobry1990@yahoo.com

RESUMEN

Los humedales ecosistemas altamente productivos, proveen variados e importantes beneficios a la sociedad traducidos en valores y servicios ambientales, los "oconales" humedales parcialmente anegados, pantanosos o semipantanosos presentes en la región altoandina del Perú sobre los 3.300 m.s.n.m. contienen agua proveniente del deshielo de los nevados, nacientes de los ríos (ojos de agua), de las precipitaciones o de las filtraciones proveniente de los acuíferos. Se ubican en terrenos planos o en depresiones, permaneciendo la mayoría del año inundado permanentemente, constituyéndose en refugio para la biodiversidad. La toma de datos se realizó durante las exploraciones programadas entre Enero – Agosto del 2013, cubriendo recorridos que abarcaron transectos altitudinales y latitudinales, de la Región Altoandina del Norte del Perú: oconales de Ancash, La Libertad, Piura, Lambayeque y Cajamarca. Se concluye que los oconales son ecosistemas únicos del mundo cuya composición florística y faunística está conformada por 72 especies nativas de plantas y 11 de animales exclusivos del Perú a los que hay que conservar y proteger; pues sin duda juegan un rol preponderante en el equilibrio biológico y ambiental de la puna o jalca del Perú y principales amortiguadores que mitigan en gran medida los efectos de la contaminación minera y otras actividades humanas.

Palabras clave: Humedales – Región Altoandina – Perú.

ABSTRACT

The highly productive wetlands ecosystems, provide varied and important benefits to society translated in values and environmental services, the "oconales" wetlands partially flooded, swampy or half swampy present in the upper Andean region of Peru at 3,300 m containing water from the melting of the snow, nascent of the rivers (eyes of water), of the rainfall or seepage from aquifers. It is located on flat terrain or in depressions, the majority of the year remaining permanently flooded, forming into a safe haven for biodiversity. The collection of data was carried out during the scheduled scans between Januarys- August 2013, covering tours that covered elevational and latitudinal transects, at Andean Region in northern Peru, oconales of Ancash, La Libertad, Cajamarca, Piura and Lambayeque. It is concluded that the oconales are unique ecosystems of the world whose composition of flora and fauna is of 72 native species of plants and 11 animals unique from Peru to which we must preserve and protect, since it certainly play a dominating role in the biological and environmental balance of the puna or jalca of Peru and main shock absorbers that mitigate to a large extent the effects of mining pollution and other human activities.

Key words Swampy – Andean Region – Perú.

INTRODUCCION

Los humedales forman parte de nuestra riqueza natural. Se calcula que el valor monetario de nuestros ecosistemas naturales es de US\$33 billones de dólares y que los humedales aportan con el 45% de esta suma, con unos US\$14.9 billones de dólares. Los humedales son ecosistemas altamente productivos, que proveen de variados e importantes beneficios a la sociedad. Cada tipo de humedal está formado por una serie de componentes físicos, químicos y biológicos, como el suelo, agua, especies animales y vegetales. Los procesos entre estos componentes permiten que el humedal desempeñe funciones como el regular los ciclos hidrológicos, control de inundaciones, recarga de acuíferos, protección ante temporales, productos naturales como pesca, fibras vegetales, etc. Son considerados los “riñones” del planeta al ser verdaderos vertederos y transformadores de múltiples materias biológicas, químicas y genéticas; pueden filtrar y absorber contaminantes dentro de los ciclos químicos y biológicos, así como ser receptores de aguas naturales o artificiales. Además de ser sitios para la colecta de especies o de investigación o (componentes estéticos, paisajes, religiosos y culturales)^{1, 2, 3 y 4}.

Los humedales altoandinos son conocidos de manera general por las comunidades indígenas con el nombre de «cochas», «bofedales» y «oconales», por tanto constituyéndose para ellos en fuente de recursos como pasto natural, agua para ganadería y consumo humano y como lugares de amortiguamiento de contaminación producto de las actividades antrópicas^{2 y 3}.

Los “oconales” son lugares húmedos o parcialmente anegados, pantanosos o semipantanosos que se presentan en la región altoandina del Perú sobre los 3.300 m. de altitud. Los “oconales” ocupan zonas que almacenan agua proveniente del deshielo de los nevados, nacientes de los ríos (ojos de agua), de las precipitaciones o de las filtraciones proveniente del agua de los acuíferos. Según esto, los terrenos donde se ubican son planos o forman depresiones. La mayoría del año estos suelos permanecen inundados, constituyendo refugio para la biodiversidad que habita en estos ambientes. A su vez forman así suelos hidromórficos con gran potencial forrajero^{1, 2 y 5}.

Los “oconales” constituyen la gran red de humedales que se forman alrededor de los lagos y los ríos, regulando de forma natural toda la cuenca de la gran comunidad de los ecosistemas altoandinos. Los “oconales” también absorben las aguas de las precipitaciones para formar el “Aka-pacha” la gran red acuática que humedece las tierras altoandinas y las hace altamente productivas^{2, 4 y 6}.

Pese a la importancia que tienen estos ecosistemas, aún no se les ha concedido en nuestro país la atención que merecen a nivel del gobierno, los medios de comunicación y las asociaciones empresariales; a pesar que muchos de ellos están directamente relacionados e influenciados negativamente por los pasivos mineros ambientales y aún por la contaminación química procedente de la descomposición de las rocas que quedan a la intemperie producto de la desglaciación por efecto del fenómeno del invernadero y calentamiento global.

Por ello es nuestro propósito aportar en un proceso de desarrollo sostenible del país, apoyar acciones de mitigación de las amenazas críticas al sistema de humedales, crear conciencia en la población sobre el valor y el uso adecuado de los recursos naturales de los humedales altoandinos, determinar la composición florística de los humedales altoandinos, caracterización física y química de los mismos en los humedales del norte del Perú.

MATERIAL Y METODOS

El área de estudio comprendió la Región Altoandina del Norte del Perú, ubicada entre los 2500 – 4500 m.s.n.m. y con características orográficas, hidrográficas, edáficas, climáticas, latitudinales, altitudinales, florísticas y faunísticas muy diversas y contrastantes, que forman hábitats y microclimas distintos a distancias muy cortas, donde las variaciones cíclicas de las condiciones climáticas y factores edáficos en relación con la latitud, longitud y altitud actúan sobre la morfo-fisiología de las especies determinando en última instancia diferentes tipos de vegetación que se distinguen por su fisonomía y composición florística.

La toma de datos se realizó durante las exploraciones programadas de Enero – Agosto del 2013, las mismas que cubrieron recorridos que abarcaron transectos altitudinales y latitudinales, de la Región

Altandina del Norte del Perú: oconales de Ancash, La Libertad, Cajamarca, Piura, Lambayeque y Cajamarca.

Durante las exploraciones se hicieron colecciones de material botánico teniendo en cuenta las características taxonómicas, hábito, hábitats, procedencia, distribución altitudinal y latitudinal, épocas de floración y fructificación; características edáficas (textura y estructura de los suelos, sobretodo), características climáticas (temperatura, precipitaciones, humedad atmosférica, vientos y caracterización físico química del agua del humedal.

RESULTADOS

Los biotipos que predominan en la constitución de estas comunidades son: *Distichia muscoides* (JUNCACEAE); forma almohadillas casi planas; las ramificaciones muy apretadas dan firmeza a la almohadilla siendo muy difícil introducir un cuchillo en ella. *Plantago rigida* "champa estrella" (PLANTAGINACEAE), utilizada como forraje y como combustible, *Werneria nubigena* (ASTERACEAE), *Alchemilla orbiculata*, *Alchemilla pinnata* (ROSACEAE), *Hypsella reniformis* (CAMPANULACEAE), *Aa weberbaueri* (ORCHIDACEAE), *Sph. agnum subbalticum* (SPHAGNACEAE), *Sph. capillaceum* (SPHAGNACEAE), *Sph. cuspidatum* (SPHAGNACEAE), *Sph. magellanicum* (SPHAGNACEAE), *Sph. pylaesii* (SPHAGNACEAE), *Castilleja arvensis* (SCROPHULARIACEAE), *Calamagrostis antoniana* (POACEAE), *Asterella elegans* (HEPATICAE).

Igualmente, por encima de los 3,500 msnm., la fauna es pobre, pero se puede encontrar algunos animales como: *Cinclodes fuscus albiventris*, *C palliatus*, *Phrygilus unicolor ica*, *Phygygilus p. plebejus*, *Muscisaxicola alpina* y *Diuca speculifera*. Cuando la turbera se rodea a una laguna, acuden aves de otros biotopos vecinos, entonces se ve a *Geositta cunicularia juninensis*, *Geositta tenuirostris*, *Muscisaxicola flavinucha*. En cambio, sobre los 4,600 msnm, en zonas húmedas se ha podido observar a *Phegornis mitchellii*.

Dentro de los mamíferos hay hasta dos tipos de cuyes salvajes, entre los que se acercan a las orillas de las fuentes de agua, tenemos a *Cavia tschudi umbrata*, Thomas (CAVIDAE), guarecido entre las plantas de ichu.

Se encontraron 72 especies vegetales (Tabla 1)

Tabla 1 Catalogo de las especies vegetales mas frecuentes de los oconales del Norte del Perú.

Nombre Científico	Nombre vulgar	Familia
1 <i>Acaena torilicarpa</i>	"shanqui"	ROSACEAE
2 <i>Adiantum raddianum</i>	"helecho"	POLYPODIACEAE
3 <i>Ageratum azangaroensis</i>	"huarmi huarmi"	ASTERACEAE
4 <i>Alchemilla orbiculata</i>	"chirifrutilla"	ROSACEAE
5 <i>Alchemilla pinnata</i>	"sillu sillu"	ROSACEAE
6 <i>Agristis breviculmis</i>	"grama"	POACEAE
7 <i>Astragalus garbancillo</i>	"garbancillo"	FABACEAE
8 <i>Baccharis genistelioides</i>	"carqueja"	ASTERACEAE
9 <i>Baccharis libertadensis</i>	"anua"	ASTERACEAE
10 <i>Baccharis serpyllifolia</i>	"camandela"	ASTERACEAE
11 <i>Bartsia bartsioides</i>		SCROPHULARIACEAE
12 <i>Bidens andicola</i>	"cadillo"	ASTERACEAE
13 <i>Brachyotum rádula</i>	"zarcilleja"	MELASTOMATACEAE
14 <i>Bryum sp</i>	"musgo"	BRYACEAE
15 <i>Calamagrostis antoniana</i>	"paja walte"	POACEAE
16 <i>Carex lemnniana</i>		CYPERACEAE
17 <i>Castilleja arvensis</i>	"sangre de toro "	SCROPHULARIACEAE

18	<i>Cavendisha bracteata</i>	"boton boton"	ERICACEAE
19	<i>Cerastium arvense</i>		CARYOPHYLLACEAE
20	<i>Chloraea septentrionalis</i>		ORCHIDACEAE
21	<i>Cotula australis</i>		ASTERACEAE
22	<i>Chromolaena corymbosa</i>		ASTERACEAE
23	<i>Cyperus arcticus</i>		CYPERACEAE
24	<i>Dactylis glomerata</i>		POACEAE
25	<i>Diplostephium szyszylowiskii</i>		ASTERACEAE
26	<i>Distichia muscoides</i>	"champa"	JUNCACEAE
27	<i>Elaphoglossum sp</i>	"helecho"	ELAPHOGLACEAE
28	<i>Equisetum bogotenses</i>	"cola de caballo"	EQUISETACEAE
29	<i>Eriosorus</i>	"helecho"	POLYPODIACEAE
30	<i>Festuca dolychophylla</i>	"ichu"	POACEAE
31	<i>Gaultheria tomentosa</i>		ERICACEAE
32	<i>Gentianella bicolor</i>	"corpus -huay"	GENTIANACEAE
33	<i>Gentianella chamochui</i>	"chamochui"	GENTIANACEAE
34	<i>Gentianella stuebellii</i>	"genciana"	GENTIANACEAE
35	<i>Halenia weddelliana</i>	"purinchi"	GENTIANACEAE
36	<i>Huperzia saururus</i>	"siempre viva"	LYCOPODIACEAE
37	<i>Hypericum laricifolium</i>	"chinchango"	CLUSIACEAE
38	<i>Hypochaeris sp</i>		ASTERACEAE
39	<i>Jamesonia</i>		PTERIDACEAE
40	<i>Juncus andicola</i>	"junco"	JUNCACEAE
41	<i>Juncus bufonis</i>	"junco"	JUNCACEAE
42	<i>Lemna minima</i>	"lenteja de agua"	LEMNACEAE
43	<i>Lepidium raimondii</i>		BRASSICACEAE
44	<i>Linum prostratum</i>	"canchalagua"	LINACEAE
45	<i>Lobelia tenera</i>	"lirio lirio"	CAMPANULACEAE
46	<i>Loricaria ferruginea</i>		ASTERACEAE
47	<i>Losophoria quadripinnata</i>	"helecho"	PTERIDACEAE
48	<i>Luzula gigantea</i>		JUNCACEAE
49	<i>Muehlenbeckia volcánica</i>	"mullaca"	POLYGONACEAE
50	<i>Muhlenbergia peruviana</i>		POACEAE
51	<i>Myriophyllum elatinooides</i>	"chinquil"	HALORAGACEAE
52	<i>Nototriche lopezii</i>		MALVACEAE
53	<i>Novenia tunariensis</i>		ASTERACEAE
54	<i>Orthrosanthus chinboracensis</i>	"lirio de jalca"	IRIDACEAE
55	<i>Oxychloe andina</i>		JUNCACEAE
56	<i>Papobolus sp.</i>	"grama"	POACEAE
57	<i>Pernettya prostrata</i>	"macha macha "	ERICACEAE
58	<i>Phyllactis rigida</i>	"valeriana estrella"	VALERIANACEAE
59	<i>Plantago rigida</i>	"llanten"	PLANTAGINACEAE
60	<i>Polypodium sp.</i>	"helecho"	POLYPODIACEAE
61	<i>Polytrichum commune</i>	"helecho"	POLYPODIACEAE
62	<i>Roripa nasturtium-aquaticum</i>	"berro"	BRASSICACEAE
63	<i>Rumex acetosella</i>	"lengua de vaca"	POLYGONACEAE
64	<i>Rynchospora hirsuta</i>		CYPERACEAE
65	<i>Scirpus californicus</i>	"totora"	CYPERACEAE
66	<i>Scirpus conglomeratus</i>	"junco"	CYPERACEAE

67	<i>Scirpus olneyii</i>	"junco"	CYPERACEAE
68	<i>Sphagnum subbalticum</i>		SPHAGNACEAE
69	<i>Stenandrium dulce</i>		ACANTHACEAE
70	<i>Stipa ichu</i>	"ichu"	POACEAE
71	<i>Vaccinium sp.</i>		ERICACEAE
72	<i>Werneria nubigena</i>	"cebolla de buro"	ASTERACEAE



Fig. 1. Oconal del Huayabamba, Bolivar. La Libertad



Fig. 2. Oconal en Tayabamba La Libertad



Fig. 3. Oconal en ojo del puma Huaraz Ancash



Fig. 4. Capacidad fitorremediadora de un Oconal

Se puede resaltar que existe una clara tendencia de acumulación de los metales pesados en la cobertura vegetal y disminución en el efluente en comparación al afluente. Este hecho pone de manifiesto la capacidad depuradora de los oconales (Tabla 2).

Tabla 2. Evaluación de metales en los humedales del Norte del Perú

Periodo	Cadmio disuelto			Hierro disuelto			Plomo disuelto			Zinc disuelto		
	Agua mg/L		Plantas mg./kg	Agua mg/L		Plantas mg/kg.	Agua mg/L		Plantas mg/kg.	Agua mg/L		Plantas mg/kg.
	Afluente	Efluente		Afluente	Efluente		Afluente	Efluente		Afluente	Efluente	
Estiaje	0,188	0,017	0,065	4,750	1,700	2,320	6,900	2,920	0,40	7,470	0,280	0,570
	0,208	0,250	0,045	0,250	0,040	2,350	11,300	12,300	1,010	4,650	4,230	1,180
	0,030	0,029	0,190	0,490	0,210	3,830	1,800	0,380	0,620	0,350	0,490	0,750
LLuvia	0,120	0,145	6,230	5,700	0,125	280,000	8,500	2,200	32,000	7,100	0,980	130,00
	0,310	0,255	4,800	5,780	0,720	28,000	7,100	2,350	25,000	4,800	4,800	100,000
	0,180	0,010	3,680	4,700	2,200	13,580	1,800	0,840	0,780	0,440	0,320	0,890

DISCUSIÓN

Del análisis realizado de las diferentes salidas de campo, se notó que debido a los diferentes tipos de vegetación que en ellos suele encontrarse y dependiendo de su tamaño y profundidad, los humedales también pueden contribuir a la fijación de sedimentos, lo cual favorece la remoción de nutrientes y tóxicos.

A su vez los suelos se forman a partir de las mismas plantas del llano y sus partes muertas se descomponen muy lentamente, originando gruesos estratos de material orgánico. Los restos de algunas plantas mantienen su estructura específica hasta llegar a varios metros de profundidad (p.e. ciperáceas). Así queda demostrada la poca actividad de los microorganismos que las destruyen, debido sobre todo a las bajas temperaturas, pero también a la escasez de oxígeno y nitrógeno en este ambiente. La profundidad del suelo orgánico varía de unos pocos centímetros a metros, a veces interrumpida por capas de arena y grava, traídas con alguna crecida del arroyo o río vecino. El subsuelo consiste a menudo en material arenoso igualmente saturado de agua. Justo por debajo de este substrato se encuentra la capa impermeable de roca o arcilla que impide la filtración de agua, coincidiendo estos resultados con otros autores.^{6,7 y 8.}

Entre las plantas que dan lugar a la formación de turberas en los oconales del norte del País, son los *Sphagnum* (musgos), que están formados mayormente por grandes células muertas que se llenan fácilmente de agua por capilaridad y que dada su forma de almohadilla actúan como esponjas que llegan a fijar un peso de agua muy superior a su propio peso. Estas plantas presentan como característica particular la de su crecimiento, el que se va produciendo paulatinamente en su extremo superior a medida que el extremo inferior muere y forma la turba. Las almohadillas formadas se vuelven cada vez mayores, se unen unas con otras y finalmente aparece una turbera alta de superficie abovedada, como el cristal de un reloj. Los musgos de turba o esfagnos, no soportan el desecamiento; por consiguiente, la formación de turberas altas presupone la existencia de veranos húmedos y frescos. Además los musgos de turba crecen solamente sobre suelos ácidos y pobres. Por lo demás la superficie alta de la turba, no es completamente plana ni llana, presenta depresiones y elevaciones, donde crecen plantas de los géneros *Carex*, *Plantago*, *Werneria*, *Alchemilla* y principalmente de *Distichia muscoides*. Todas estas plantas crecen en forma desordenada.

Ecológicamente, los humedales también brindan una serie de importantes beneficios, pues sirven de refugio a animales que utilizan sus ambientes para refugiarse, reproducirse o alimentarse; aspectos documentados y su relevancia en el mantenimiento del microclima y su contribución en la captación y emisión de Carbono, tal y conforme lo mencionan.

De las múltiples funciones que poseen los humedales para el sostenimiento de la vida deben destacarse: el que son formidables reservorios de diversidad biológica; poseen un importantísimo valor

cultural, ya que desde tiempos remotos, el hombre ha elegido para vivir; igualmente tienen un importante valor económico por los numerosos productos que puede brindar; sean estos bienes o servicios que aportan distintas herramientas para avanzar en la mejora de la calidad de vida; como la pesca comercial producto del humedal; aportando aproximadamente un 20% de la proteína animal para una dieta de los que habitan en sus alrededores. Por último el ecoturismo, como producto del humedal, puede brindar a las comunidades que lo habitan, en forma gradual, medios económicos bajo criterios de uso sustentable^{6, 9 y 10}.

La Estrategia Nacional para la Conservación de Humedales del Perú, considera la creación de un inventario de humedales, el desarrollo de un sistema de evaluación, clasificación y priorización, así como estudios sobre el grado del impacto humano existente como prioridad para investigación. Hasta la fecha muy pocos de este tipo de estudios han sido realizados y no existe un inventario.

Un número cada vez mayor de economistas y otros científicos están trabajando en el terreno de la valoración de los servicios prestados por los ecosistemas. Se trata de una tarea difícil, plagada de incertidumbre, pero no hay más alternativa que avanzar en este sentido. Algunos estudios recientes han señalado que los ecosistemas aportan cada año servicios valorados en por lo menos 33 trillones de dólares E.U.A., de los cuales 4,9 trillones se atribuyen a los humedales, tal y conforme los afirman.^{6 y 10}

Se observó que las interacciones de los componentes físicos, biológicos y químicos de un humedal, como los suelos, el agua, las plantas y los animales, hacen posible que el humedal desempeñe muchas funciones vitales, como por ejemplo: almacenamiento de agua; protección contra tormentas y mitigación de inundaciones; estabilización del litoral y control de la erosión; recarga de acuíferos (bajada de aguas a los acuíferos subterráneos); descarga de acuíferos (la subida de aguas que se convierten en aguas superficiales en un humedal); purificación de las aguas mediante la retención de nutrientes, sedimentos y contaminantes; y estabilización de las condiciones climáticas locales, particularmente la precipitación y la temperatura, coincidiendo con ello con autores tales como.^{6, 9 y 10}

CONCLUSIONES

- Los oconales son ecosistemas únicos del mundo cuya composición florística y faunística está conformada por especies nativas y exclusivas del Perú a las que hay que conservar y proteger.
- Los oconales son ecosistemas amortiguadores por excelencia que mitigan en gran medida los efectos de la contaminación minera y otros productos de las actividades humanas.
- Se determinó que las especies más frecuentes de especies vegetales son 72 y de animales 11 especies.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bravo J, Windevoxhel N. Manual para la Identificación y Clasificación de Humedales en Costa Rica. Ministerio del Ambiente y Energía, IUCN/ORMA, Embajada Real de los Países Bajos. Costa Rica. 1997.
2. Davis T, Blasco D, Carbonell. Manual de la Convención de Ramsar: Una Guía a la Convención sobre Humedales de Importancia Internacional. Oficina de la Convención de Ramsar. Gland, Suiza. 1996.
3. Abarca FJ, Cervantes M. Definición y clasificación de humedales. En: FJ Abarca & M. Cervantes (eds.). Manual para el Manejo y Conservación de los Humedales en México. Publicación Especial. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAP, Arizona Game & Fish Department, U S F W S y Wetlands International. 1996.
4. Tabilo-Valdivieso E. El Beneficio de los Humedales en la Región Neotropical. Centro Neotropical de entrenamiento en humedales. La Serena, Chile. 2003
5. Mostacero J, Mejía F, Zelada W, Medina C. Biogeografía del Perú. Edit. Instituto Pacífico SAC. Lima Perú. 2007.
6. RAMSAR. Los Humedales: valores y funciones. Documento de divulgación para Celebrar Día Mundial de los Humedales. Convención de Ramsar. 2002.
7. Canevari P. Principales Sistemas de Humedales de la Región Neotropical, y Amenazas contra ellos: Una visión General. En: G. Castro & M. Carbonell (eds): Guía Ramsar para la Conservación y Uso Racional de los Humedales de la Región Neotropical. 1999.
8. Yañez-Arancibia A, Lara-Domínguez L, Aguirre-León A, Díaz-Ruiz A, et al. Ecology of dominant fish populations in tropical estuaries: environmental factors regulating biological strategies and production. En:

- A. Yañez-Arancibia (ed.) *Fish Community Ecology in Estuaries and Coastal Lagoons: Towards and Ecosystem Integration* UNAM Press, México 1985; pp.311-365.
9. Cano A; La Torre MI, León B, Young KR, et al. Estudio comparativo de la flora vascular de los principales humedales de la zona costera del departamento de Lima, Perú. En: A. Cano & K.R. Young (Eds.) *Los Pantanos de Villa: Biología y Conservación*. Serie de Divulgación, Museo de Historia Natural- UNMSM 1998; 11: 181-190.
 10. Dugan P. *Conservación de Humedales. Un análisis de temas de actualidad y acciones necesarias*. UICN, Gland, Suiza. 1992



Dieta de la lechuza de los arenales, *Athene cunicularia*, en Trujillo y en el Cerro Campana, La Libertad (Perú): 2013

Diet of Owl of the sandbanks, *Athene cunicularia*, in Trujillo and the Cerro Campana, La Libertad (Peru): 2013

César A. Medina, William Zelada, Luis Pollack, Emililana Huamán y Alfredo Gómez

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

RESUMEN

Se estudió la dieta de la "lechuza de los arenales" (*Athene cunicularia*) a partir de 123 egagrópilas encontradas en la loma del "Cerro Campana" y 74 egagrópilas encontradas en la ciudad de Trujillo, durante el 2013. El peso promedio y desviación estándar fue de 1.964 ± 0.0827 g., y la longitud del largo y ancho, fue de 2.783 ± 0.0552 y de 1.328 ± 0.0114 cm., en el Cerro Campana y el peso promedio y desviación estándar, fue de 1.812 ± 0.0827 g., y la longitud del largo y ancho, fue de 2.63 ± 0.0731 y de $.306 \pm 0.0114$ cm., de la ciudad de Trujillo. Se identificaron 14 especies en el Cerro Campana y 08 especies en la ciudad de Trujillo, en su mayoría correspondientes a Coleoptera, Scorpiones y Rodentia. *Athene cunicularia* presentó hábitos tróficos generalistas. Las dietas de los dos sectores evaluados tuvieron una baja similitud entre las especies consumidas. Sobre la base de la alimentación consumida, la "lechuza de los arenales" se comportó como un regulador carnívoro.

Palabras clave: Dieta, Cerro Campana, Trujillo, Strigidae.

ABSTRACT

The diet of the "owl of the sandbanks" (*Athene cunicularia*) from 123 egagrópilas found in the hill of the "Hill Bell" and 74 egagrópilas found in the city of Trujillo, during 2013, was studied. The average weight and standard diversion was of 1.964 ± 0.0827 g., and the length of the length and broad, it was of 2.783 ± 0.0552 and of 1.328 ± 0.0114 cm., in the Hill Bell and the average weight and standard diversion, it was of 1.812 ± 0.0827 g., and the length of the length and broad, it was of 2.63 ± 0.0731 and of 306 ± 0.0114 cm, of the city of Trujillo. 14 species identified in the Hill Bell and eighth species in the city of Trujillo, in the main correspondents to Coleopterous, Scorpiones and Rodentia. *Athene cunicularia* presented habits tróficos general. The diets of two evaluated sectors it had a low similarity between the emaciated species. On the base of the emaciated supply, the owl of the sandbanks behaved as a carnivorous regulator

Keywords: Diet, Hill Bell, Trujillo, Strigidae.

INTRODUCCIÓN

La formación vegetal conocida como lomas se ubica en la costa del Pacífico del Sur de América a partir de la latitud 8° N, (cerros: "Cabezón" y "Campana") en Trujillo, Perú^{1,2} hasta la latitud 30° S, Coquimbo, Chile. Su presencia se debe a la formación casi continua de densas neblinas procedentes del Océano Pacífico en la costa continental entre los meses de mayo y octubre³. Esta humedad favorece el desarrollo anual de la cobertura vegetal que a su vez mantiene a las poblaciones de vertebrados⁴.

La comunidad lomal del "Cerro Campana" es considerada como el límite Septentrional de estas formaciones bióticas y se caracteriza por presentar una gran diversidad faunística y florística^{5,6,7,8,9,10,11}.

Dentro de este grupo de vertebrados, los depredadores o reguladores biológicos son un importante factor que modelan las características de las poblaciones y el uso del hábitat de sus presas mamíferas¹². Uno de estos depredadores del ecosistema de lomas es la pequeña (25cm, 154g) "lechuza de los arenales", *Athene cunicularia* (Strigiformes: Strigidae)¹³, de patas largas, cola corta, cabeza redonda sin orejeras como otras lechuzas y su color es marrón jaspeado que se confunde con el entorno. Es de costumbres diurno-crepusculares y de hábitos de nidificación hipogeos, que habita en pastizales, montes abiertos, praderas y estepas arbustivas¹⁴ desde Canadá hasta el extremo austral de América del Sur¹⁵.

A. cunicularia es un importante regulador de poblaciones de roedores, que muchas veces se comportan como plagas, además de poseer una fisonomía de particular. Esta especie de ave está catalogada en el Apéndice II, del listado de Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), donde figuran especies que no están necesariamente amenazadas de extinción pero que podrían llegar a estarlo a menos que se controle estrictamente su comercio¹⁴.

Esta especie es conocida por sus hábitos alimenticios oportunistas, es decir que consume lo que su hábitat le ofrece, y no tiene preferencias por una especie en particular¹⁶. Se alimenta de gran diversidad de presas, como: insectos, crustáceos, escorpiones, roedores pequeños, reptiles, aves y anfibios¹⁷. Dentro de los diversos estudios sobre dieta alimentaria, los estudios de egagrópilas de lechuzas nos permiten conocer sus hábitos alimenticios, además nos informan indirectamente de las especies presa que viven en dicha zona de estudio, las egagrópilas, son masas compactas formadas por restos de alimentos no digeridos, por lo cual dentro de una egagrópila podemos encontrar huesos, plumas, partes de insectos, conchas de caracol, pelo de roedor, etc.¹⁷.

La mayor parte de la fauna de mamíferos que habita la loma del Cerro Campana son animales pequeños que están representados por dos órdenes: Chiroptera y Rodentia: en particular *Phyllotis amicus* y *Lagedium peruanum*^{9,11,18,19}.

En este trabajo se presentan los primeros datos sobre la composición y diversidad de la dieta de *A. cunicularia* mediante el estudio de 123 egagrópilas, de tres sectores de la loma del "Cerro Campana" y 74 egagrópilas de dos sectores de la provincia de Trujillo, en La Libertad (Perú).

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio:

La recolección de las egagrópilas para el estudio de la dieta de *A. cunicularia* "lechuza de los arenales" se realizó en las áreas circundantes a las 05 galerías, previamente identificadas como activas, provenientes al menos de cinco parejas; 03 galerías en la loma del "Cerro Campana", de un área de 4,564.96 Ha⁹, ubicada en el Km 576 de la Panamericana Norte con 7°58'26" L.S. y 79°06'30" L.O., aproximadamente a 20 Km al noreste de la ciudad de Trujillo, La Libertad, Perú y de 02 galerías de la ciudad de Trujillo, 01 localizada en un parque de la urbanización Ingeniería II y 01 localizada en un morro cerca de facultad de Ingeniería dentro de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de Trujillo (Tabla 1).

Tabla 1: Ubicaciones georeferenciadas de las 05 galerías en Trujillo y en el Cerro Campana, La Libertad, 2013.

Galerías	DESCRIPCION DE LA ZONA DE MUESTREO	Ubic Geográfica °		Altura
		E	N	
CC 01	Sector del Barlovento, planicie arenosa de difícil acceso.	7.98623	79.1088	190
CC 02	Sector del Sotavento, entrada de una quebrada.	7.98397	79.10057	105
CC03	Sector del Sotavento, entrada de una quebrada	7.98382	79.10029	104
TR01	Lote cercado cerca de parque en Urbanización Ingeniería II	8.12885	79.02807	22
TR02	Morro cerca de facultad de Ingeniería dentro de la Ciudad Universitaria de la UNT.	8.11290	79.03838	25

Recolección de egagrópilas.

El estudio de la dieta de *Athene cunicularia* “lechuza de los arenales” se realizó entre abril (otoño del 2013) a primavera (diciembre de 2013), a partir de 123 egagrópilas, de 03 galerías de la loma del “Cerro Campana”, y 74 egagrópilas de 02 galerías de la ciudad de Trujillo, en La Libertad, en áreas circundantes a las 05 galerías o grutas, previamente identificadas como activas las cuales se georeferenciaron, usando el GPS Etrex VISTA HCx, Garmin, muestras provenientes de al menos de 05 parejas.

Tratamiento de la muestra de egagrópila.

Las egagrópilas fueron recogidas en las áreas circundantes a las 05 galerías previamente identificadas como activas, puestas en bolsas de papel y colocadas en un recipiente hermético, para luego ser transportadas cuidadosamente y no romper su estructura.

Las muestras fueron llevadas al laboratorio de zoología de vertebrados de la Facultad de Ciencias Biológicas (Sam 301) de la Universidad Nacional de Trujillo. Donde se procedió a medir la longitud del largo (L) y la longitud del ancho (A), con un vernier digital marca MCA METAX Brand of Quality y el peso (W) con una balanza digital, marca Ga.ma Italy, y colocarlas en placas Petri de vidrio, teniendo en cuenta fecha de colección y la galería de procedencia.

Procedimiento y colección de referencia.

Cada egagrópila fue ablandada en agua con una pizca de detergente para luego ser desmenuzadas digitalmente siguiendo las recomendaciones sugeridas por Reise²⁰. La determinación taxonómica de los ítems presa fue realizada a partir de fragmentos cráneo-mandibulares o cuerpos enteros en el caso de los vertebrados y de restos de exoesqueleto para los artrópodos, utilizando como ejemplares de referencia, material comparativo depositado en las colecciones de las cátedras de Zoología de los Vertebrados y Entomología de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, además de referencias específicas del área de estudio, para gastrópoda⁶, escorpiones⁷, reptiles¹⁰, micromamíferos¹¹ y mamíferos medianos⁹, para estos dos últimos las características craneales y principalmente la morfología de los dientes molariformes constituyen los restos óseos más utilizados para este tipo de estudios²⁰.

RESULTADOS

Se recolectaron y analizaron 123 egagrópilas, que pesaron 241.64 gramos en el Cerro Campana. El peso fue de una media y desviación estándar de 1.964 ± 0.0827 , la longitud del largo tuvo una media y desviación estándar de 2.783 ± 0.0552 y la longitud del ancho tuvo una media y desviación estándar de 1.328 ± 0.0114 . Pudo observarse una mayor dispersión en los pesos y en la longitud del largo de las 123 egagrópilas.

De las 02 galerías de la ciudad de Trujillo, se recolectaron y analizaron 74 egagrópilas que pesaron 134.12 gramos. El peso fue de una media y desviación estándar de 1.812 ± 0.0827 , la longitud del largo tuvo una media y desviación estándar de 2.63 ± 0.0731 y la longitud del ancho tuvo una media y desviación estándar de 1.306 ± 0.0114 . Puede observarse una mayor dispersión en los pesos y en la longitud del largo de las 74 egagrópilas (Fig. 1)

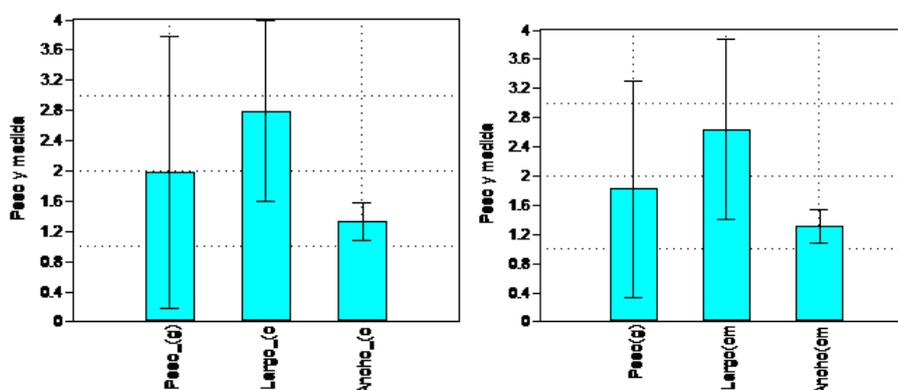


Fig. 1. Media y desviación estándar del peso, largo y ancho de las 123 egagrópilas provenientes del Cerro Campana y 74 egagrópilas provenientes de la ciudad de Trujillo. 2013.

Se identificaron en las 05 galerías provenientes del cerro Campana y de la ciudad de Trujillo, en La Libertad, durante el 2013, 6 Clases, 8 Órdenes, 16 familias y 19 especies (Tabla 1), siendo la clase con mayor número de especies, la insecta con 6 especies y las de menor número la clase Arachnida.

Tabla 1. Composición taxonómica de las especies que presenta la dieta de *Athene cunicularia* “lechuza de los arenales” en 03 galerías provenientes del “Cerro Campana” y 02 de la ciudad de Trujillo, en La Libertad. 2013.

Clase	Orden	Familia	Especie
Gastropoda	Stylommatophora	Bulimulidae	<i>Scutalus</i> sp. <i>Bostryx</i> sp.
		Tenebrinidae	<i>Morfoespecie</i> sp.
Insecta	Coleoptera	Carabidae	<i>Calosoma</i> sp.
		Buprestidae	<i>Ectigonia bilineata</i>
		Passalidae	<i>Morfoespecie</i> sp.
		Acrididae	<i>Schistocerca</i> sp.
	Orthoptera	Gryllidae	<i>Acheta domestica</i>
Arachnida	Scorpiones	Caraboctonidae	<i>Hadruioides charcasus</i> (Karsch 1879)
Reptilia	Squamata	Tropiduridae	<i>Microlophus occipitalis</i> Peters, 1871 <i>Microlophus koepckeorum</i> (Mertens, 1956)
		Gekkonidae	<i>Phyllodactylus</i> sp.
		Furnariidae	<i>Geositta peruviana</i> (Lafresnaye, 1847)
Aves	Passeriformes	Emberizidae	<i>Zonotrichia capensis</i> (Muller, 1776)
	Columbiformes	Columbidae	<i>Columbina cruziana</i> (D'Orbigny, 1843)
		Cricetidae	<i>Phyllotis amicus</i> (Thomas, 1900)
Mammalia	Rodentia	Muridae	<i>Mus musculus</i> (Linnaeus, 1758) <i>Rattus rattus</i> (Linnaeus, 1758)
		Chinchilidae	<i>Lagidium peruanum</i> (Meyen, 1833)

Los restos óseos encontrados pertenecen a cuatro especies de roedores (*Phyllotis amicus*, *Mus musculus*, *Rattus rattus* y *lagidium peruanum*), tres especies de aves pequeña (*Geositta peruviana*, *Zonotrichia capensis* y *Columbina cruziana*), dos especies de lagartijas (*Microlophus koepckeorum* y *Microlophus occipitalis*) y un Gekkonidae (*Phyllodactylus* sp.).

Se identificaron 14 especies en las 03 galerías provenientes del “Cerro Campana” y 08 especies en las 02 galerías provenientes de la ciudad de Trujillo, en La Libertad. 2013.

Según el dendrograma Morisita Horn se muestran 2 grupos con un 27% de similitud entre las muestras de egagrópilas recogidas de tres sectores de la loma del Cerro Campana y de los 02 sectores de la ciudad de Trujillo. (Fig 2).

DISCUSIÓN

Como puede observarse, de acuerdo a nuestros resultados obtenidos, la dieta de *A. cunicularia* han demostrado que sus hábitos alimenticios poseen un carácter generalista, consumiendo un amplio rango de especies presa que abarcan tanto invertebrados como vertebrados, siendo los insectos el ítem de mayor preferencia, seguido por roedores^{17,18,19}. Asimismo, similares características se han presentado en estudios tróficos de esta especie en áreas montañosas de los Estados Unidos²⁰, bosques de Oregon²¹ y zonas áridas de Argentina²².

La dieta de *A. cunicularia* “lechuza de los arenales” en la loma del “Cerro Campana”, en Trujillo, La Libertad, durante el 2013; se compone principalmente de gastropodos, coleópteros, escorpiones y roedores. Con cierta variación entre lomas, estos mismos grupos han sido previamente registrados por otros autores como las principales presas de *A. cunicularia*, tanto en la loma del “Cerro Cabezón”²⁵ y

la loma de Lachay²⁶. El componente vertebrado más importante en la dieta de *A. cunicularia* en la loma del “Cerro Campana” son los roedores. Este resultado es congruente con lo obtenido por otros autores en otras localidades de su gran rango de distribución²⁶.

Tabla 2. Comparación en la composición de las especies que presenta la dieta de *Athene cunicularia* “lechuza de los arenales” en 03 galerías provenientes del “Cerro Campana” y 02 galerías provenientes de la ciudad de Trujillo, en La Libertad. 2013.

Ítem presa	Cerro Campana	Trujillo
<i>Scutalus sp.</i>	x	
<i>Bostryx sp.</i>	x	
<i>Tenebrinidae (Morfoespecie sp.)</i>	x	
<i>Calosoma sp</i>	x	
<i>Ectigonia bilineata</i>	x	
<i>Passalidae (Morfoespecie sp.)</i>	x	
<i>Acheta domestica</i>		x
<i>Schistocerca sp</i>	x	x
<i>Hadruioides charcasus</i>	x	x
<i>Microlophus occipitalis</i>	x	x
<i>Microlophus koepckeorum</i>	x	
<i>Phyllodactylus sp</i>	x	
<i>Geositta peruviana</i>	x	
<i>Columbina cruziana</i>		x
<i>Zonotrichia capensis</i>		x
<i>Phyllotis amicus</i>	x	
<i>Mus musculus</i>		x
<i>Rattus rattus</i>		x
<i>Lagidium peruanum</i>	x	
TOTAL de ítems	14	08

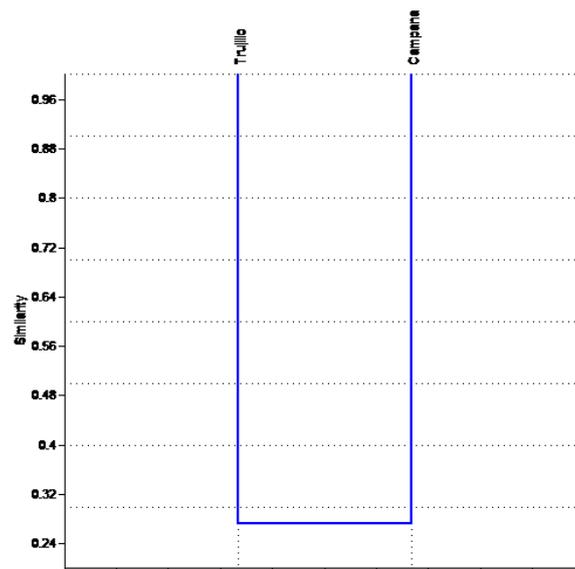


Fig. 2. Dendrograma con el Coeficiente de Similaridad de Morisita-Horn, con muestras de egagrópilas provenientes del “Cerro Campana” y de la ciudad de Trujillo, en La Libertad. 2013.

Aunque los roedores constituyen el componente más importante en la dieta de las “lechuza de los arenales” en la loma del “Cerro Campana”, en Trujillo, Los gasterópodos constituyen un componente que casi siempre está presente en las egagrópilas, junto a algunos insectos (especialmente los coleópteros)²⁵.

Las especies de roedores consumidas por la “lechuza de los arenales” están directamente relacionadas con la diversidad de roedores en los lugares donde la lechuza anida. Para cada caso, la diversidad de roedores parece ser extremadamente pequeña, existiendo sólo dos especies (*Phyllotis amicus* y *Lagidium peruanum*), para el Cerro Campana y dos especies (*Mus musculus* y *Rattus rattus*) para la ciudad de Trujillo. Aunque la poca población de *Phyllotis amicus*, además de ser una especie pequeña, constituye una presa representativa para *Athene cunicularia*. Sin embargo en la ciudad de Trujillo el mayor soporte energético lo constituye el *Mus musculus* y *Rattus rattus*, lo cual representa una importante contribución como regulador biológico de esta especie sobre la red trófica tanto de Loma del Cerro Campana como en la ciudad de Trujillo, cuya importante regulación de roedores “dañinos” por ser vectores de enfermedades, es significativo.

Los resultados concuerdan con los obtenidos, en una localidad del sur de la costa peruana, sobre la base del análisis de egagrópilas, de la lechuza de los campanarios (*Tyto alba*), utilizando como parte de su dieta por lo menos dos especies de roedores, una de ave y dos de lagartijas²⁷. También podemos aseverar que los resultados obtenidos en Trujillo presentan una gran similitud con los obtenidos en la Reserva Nacional Pingüino de Humboldt, en Chile, un estudio basado en el análisis de 76 egagrópilas de *A. cunicularia* “pequen”, cuyos resultados permiten reconocer que los artrópodos constituyen el ítem más importante en la dieta del pequén y secundariamente los vertebrados²⁸, coincidiendo con la alimentación en la ciudad de Trujillo

Así también, la importancia de la clase insecta, en nuestros resultados concuerdan con los obtenidos en Argentina, donde estudiaron 589 egagrópilas enteras y fragmentadas de *A. cunicularia*, siendo el ítem más consumido la Clase Insecta, seguida por Chelicerata y Mammalia²⁴; también los resultados son congruentes con lo encontrado por Zunino y Jofré²⁸, quienes estudiaron a *A. cunicularia* en Chile, y reconocieron que los artrópodos constituyen el ítem más importante en su dieta y secundariamente los vertebrados.

A pesar de que se ha encontrado una gran similitud entre los resultados de este trabajo y los previamente obtenidos por otros autores, es importante mencionar que la abundancia de presas en la dieta de los Strigiformes varía de acuerdo a la oferta del hábitat; como lo demuestran el análisis de similitud realizado. En los estudios acerca de la dieta de la lechuza de los arenales, se han encontrado drásticos cambios anuales en la composición de su dieta, la cual está conformada principalmente por roedores durante el invierno y por artrópodos durante el verano²⁹.

A través del índice de Morisita-Horn de las dietas de los 2 sitios, estableció una baja similitud (27%) entre el número de individuos consumidos en el Cerro Campana y Trujillo.

Los reptiles gecónidos también son reportados, así por ejemplo Carevic³⁰ encontró *Phyllodactylus gerrhopygus*, en la evaluaciones de la dieta de *Athene cunicularia* en Chile, concordando con nuestro reporte de la presencia de *Phyllodactylus sp.*, en la dieta de *A. cunicularia* en el cerro Campana.

Los resultados aquí presentados deben ser considerados como una primera aproximación al conocimiento de la ecología trófica de *Athene cunicularia* tanto en la loma del Cerro Campana y la ciudad de Trujillo, en la Libertad en el 2013.

CONCLUSIONES

- El peso promedio y desviación estándar de las 123 egagrópilas del Cerro Campana fue de 1.964 ± 0.0827 y la longitud del largo y ancho, fue de 2.783 ± 0.0552 y de 1.328 ± 0.0114 y el peso promedio y desviación estándar de las 74 egagrópilas de la ciudad de Trujillo, fue de 1.812 ± 0.0827 y la longitud del largo y ancho, fue de 2.63 ± 0.0731 y de $.306 \pm 0.0114$.
- Se identificaron 14 especies presa provenientes del “Cerro Campana” y 08 especies provenientes de la ciudad de Trujillo.
- En las dietas de los dos sitios hay una baja similitud (27%) entre el número de especies consumidas. Estas características denotan el hábito generalista de la “lechuza de los arenales” entre estas dos zonas, ya que depreda sobre un amplio ítem de presas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lopez A. Se propone "Declarar Parques Nacionales a las Lomas más importantes de la Costa Peruana". Rev Facultad de CC.BB. de la Univ Nac de Trujillo 1967; I(3):88.
2. Mostacero J, Mejía F, Ramírez R, Medina D. Variación Estacional de la Vegetación de las Lomas de la Prov. de Trujillo. REBIOL 1987; 7(1-2) :58-79
3. Dillon MO, Rundel PW. The botanical response of the Atacama and Peruvian desert floras to the 1982-83 El Niño event. Global Ecological Consequences of the 1982-83 El Niño Southern Oscillation. En: PW Glynn (ed.). Elsevier Oceanography Series, Amsterdam. 1989.
4. Mostacero J, Mejía F, Zelada W, Medina C. Biogeografía del Perú. Lima. Perú. Edición especial de la Asamblea Nacional de Rectores. 2007.
5. Sagastegui A, Mostacero J, Mejía F. Fitoecología del "Cerro Campana". Provincia de Trujillo. Bol Soc Bot La Libertad 1985; 14(1-2): 1-83.
6. Gomez A. Gastrópoda del "Cerro Campana". Prov. de Trujillo. En: IX Cong Nac Biol. Piura - Perú. 1988.
7. Gomez A. Escorpiones del "Cerro Campana". Prov. de Trujillo. En: IX Cong Nac Biol. Piura - Perú. 1988
8. Zelada W. Fauna Herpetológica del "Cerro Campana". En: 2da Jorn Invest Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo - La Libertad, Perú. 1994; pp.354-357
9. Medina C. Presencia, Alimentación y Aspectos Etológicos de *Lagidium peruanum* Meyen 1833 "vizcacha" en la Loma del "Cerro Campana". Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 1996.
10. Taboada M. Comparación del endoesqueleto de *Microlophus occipitalis*, *Microlophus stolozmanni* y *Plesiomicrolophus koepckeorum*, procedentes del Cerro Campana, Trujillo. Tesis de Biólogo. Facultad de ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 1966.
11. Miñano A. Determinación de los caracteres morfométricos de los roedores del "Cerro Campana". Trujillo-La Libertad. Tesis de Biólogo. Facultad de ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 1999.
12. Vassallo AI, Kittlein MJ, Busch YC. Owl predation on Two Sympatric Species of Tuco-tucos (Rodentia: Octodontidae). J Mammal 1994; 75(3): 725-732.
13. Stotz DF, Fitzpatrick JD, Parker III TA, Moskovits DK. Neotropical. Birds. Ecology and Conservation. The University of Chicago Press. Chicago and London. 1996.
14. MINAM-PERU. Especies de fauna silvestre peruana en los apéndices de la CITES. Impreso por Zona Comunicaciones SAC. DLBNP. 03763. 2012.
15. Marks JS, Cannings RJ, Mikkola H. Family Strigidae (typical owls). En: Del Hoyo, Elliott & Sargatal (eds.), Handbook of the birds of the world. Vol 5. Barn owls to hummingbirds. Lynx Edicions, Barcelona. 1999; pp.76-242
16. Pulido V, Aguilar P. Artrópodos presentes en la dieta de la "Lechuza de los Arenales " en las Lomas de Lachay, Lima. Rev Peruana Entomol 1979; 22(1): 91-94.
17. Pearson O. A Taxonomic Revision of the Rodent Genus *Phyllotis*. University of California Publications in Zoology 1958; 56(4): 391-496.
18. Reise D. Clave para la determinación de los cráneos de marsupiales y roedores chilenos. Gayana (Zoología) 1973; 27: 3-20.
19. Meserve P, Shadrack E, Kelt D. Diet and selectivity of two Chilean predators in the northern semi-arid zone. Rev Chil Hist Nat 1987; 60: 93-99.
20. Schlatter R, Yáñez J, Nuñez H, Jaksic F. Estudio estacional de la dieta del Pequeño, *Athene cucularia* (Molina) (Aves, Strigidae) en la Precordillera de Santiago. Medio Ambiente 1982; 6 (1): 9-18.
21. Silva S, Lazo I, Silva-Aránquez E, Jaksic F, et al. Numerical and functional response of burrowing owls to long-term mammal fluctuations in Chile J Raptor Res 1995; 29: 250-255.
22. Gleason R, Johnson D. Factors influencing nesting success of burrowing owls in southeastern Idaho. Great Basin Nat 1985; 45 (1): 81-84.
23. Green G, Fitzner R, Anthony R, Rogers L. Comparative diets of burrowing owls in Oregon and Washington. Northwest Sci 1993; 67(2): 88-93.
24. Nabte M. Dieta de *Athene cucularia* (Aves: Strigiformes) en el nordeste de la provincia del Chubut, Argentina. Resúmenes de tesis. Mastozool Neotrop 2003; 11: 249-254.
25. Morillo A. Dieta alimentaria de *Athene cucularia nanodes* "lechuza de los arenales" en la loma del "Cerro Cabezón", Trujillo-La Libertad. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2003.
26. Luna L. Dinámica poblacional de los pequeños mamíferos en la Reserva Nacional lomas de Lachay, Lima, y su relación al evento "el niño oscilación sur". Tesis de Biólogo. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú. 2000.

27. Ramírez O, Béarez P, Arana M. Observaciones sobre la dieta de la lechuza de los campanarios en la Quebrada de los Burros (Dpto. Tacna, Perú). Bol Inst Francés de Estudios Andinos 2000; 29(2): 233-240.
28. Zunino S, Jofre C. Dieta de *Athene cunicularia* en isla Choros, Reserva Nacional Pingüino de Humboldt, IV Región. Bol Chile Ornitol 1999; 6: 2-7.
29. Zelaya P, Linares P, De la Cruz C, Kunimoto C, et al. Composición de la dieta de *Athene cunicularia* durante la estación seca en la Reserva Nacional de Lachay. In: Anales de la III Jorn Nac Ornitol. Calca. Cuzco. Perú 2000; pp.70-71.
30. Carevic F. Rol del pequén (*Athene cunicularia*) como controlador biológico mediante el análisis de sus hábitos alimentarios en la Provincia de Iquique, norte de Chile. IDESIA (Chile) 2011; 29(1): 15-21

Guía para los autores

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

Naturaleza de los informes.

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

Preparación del manuscrito

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

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

Estructuración del manuscrito.

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

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

Descripción de los procedimientos para el manejo de los manuscritos

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

El Editor verifica si el material enviado se ajusta a la línea editorial de la revista. Si es conforme, el artículo es sometido a un sistema de arbitraje de pares (*peer review*), recurriendo a mínimo dos (02) revisores o evaluadores externos, para que en el plazo máximo de quince días expresen sus opiniones (según la “*Hoja de Opinión*”), recomendando la aceptación o rechazo del artículo. Si el artículo no se ajusta a la línea editorial, el Editor se reserva el derecho de enviar un informe al autor para cambiar o rehacer su artículo, total o parcialmente, teniendo los autores que iniciar nuevamente el proceso de envío de su trabajo. En el peor de los casos, el manuscrito se rechaza y es comunicado a los autores, adjuntando un informe con las razones de la denegación. Los nombres de los revisores se mantienen en el anonimato para el(los) autor(es) durante todo el proceso. *Aunque, para facilitar el arbitraje, los autores pueden enviar una lista de cuatro (4) posibles revisores, especialistas en el tema del artículo, con sus respectivas direcciones de correo electrónico.*

Hoja de Opinión

Los revisores responden a las siguientes preguntas:

1. ¿El manuscrito representa una contribución nueva y original?
2. ¿El resumen es adecuado?
3. ¿Las palabras clave son las adecuadas?
4. ¿El material enviado especifica claramente el propósito del trabajo?
5. ¿El método, estrategia, intervención o experimento es idóneo, aplicable y replicable?
6. ¿Los resultados son válidos para otros contextos y realidades?
7. ¿Se logra el objetivo declarado?
8. ¿Se cita bibliografía adecuada y actualizada para el desarrollo del tema?
9. ¿Considera que las conclusiones están acordes con la información que se presenta?
10. ¿El material debe ser revisado en términos de estilo, ortografía y gramática?
11. ¿Cómo calificaría este manuscrito?
Sobresaliente __; Muy bueno __; Bueno __; Regular __; Deficiente __.
12. ¿El artículo es aceptable para su publicación?
SI, en su forma actual.
SI, con algunas modificaciones
SI, después de una revisión importante
NO, debe ser rechazado.

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

Nota

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

Envíos

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

REBIOL

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