

ISSN 2410-3950

Volumen 3, Número 6 – Enero – Marzo 2016

Revista de Sistemas Experimentales

ECORFAN[®]

Indización



ECORFAN-Bolivia

Google Scholar

Research Gate

REBID

Mendeley

RENIECYT

ECORFAN-Bolivia

Directorio

Principal

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD

Director Regional

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. BsC

Director de la Revista

SERRUDO-GONZALES, Javier. BsC

Edición de Logística

PERALTA-CASTRO, Enrique. PhD

Diseñador de Edición

TREJO-RAMOS, Ivan. BsC.

Revista de Sistemas Experimentales, Volumen 3, Número 6, de Enero a Marzo -2016, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Bolivia. Loa 1179, Cd. Sucre. Chuquisaca, Bolivia. WEB:

www.ecorfan.org, revista@ecorfan.org.
Editora en Jefe: RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD, Co-Editor: IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. ISSN-2410-4000. Responsables de la última actualización de este número de la Unidad de Informática ECORFAN. ESCAMILLA-BOUCHÁN, Imelda. PhD, LUNA-SOTO, Vladimir. PhD, actualizado al 31 de Marzo del 2016.

Las opiniones expresadas por los autores no reflejan necesariamente las opiniones del editor de la publicación.

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Consejo Editorial

ALEMÓN-MEDINA, Francisco Radamés. PhD
Instituto Nacional de Pediatría-México

POSADA-GOMEZ, Ruben. PhD
Institut National Polytechnique de la Lorraine-Francia

RUIZ-AGUILAR, Graciela. PhD
Universidad de Guanajuato-México

RANGEL-VILLALOBOS, Hector. PhD
Universidad De Guadalajara-México

SOTERO-SOLIS, Victor Erasmo. PhD
Universidad Nacional de la Amazonia Peruana-Perú

CORTES-SANCHEZ, Alejandro de Jesus. PhD
Secretaria de Salud-México

HERNANDEZ-MARTÍNEZ, Rufina. PhD
University of California-USA

PALOS-PIZARRO, Isidro. PhD
Universidad Autonoma de Tamaulipas-México

Consejo Arbitral

PNPI. PhD

Instituto Nacional de Neurologia y Neurocirugia-México

DAJWZ. PhD

Federal University of MatoGrosso-Brasil

PRL. PhD

Universidad Tecnologica de Culiacan-México

GTCC. PhD

Universidad Central de Venezuela-Venezuela

DFSNM. PhD

Universidad Autonoma de Coahuila-México

RLR. PhD

Universidad Autonoma de Sonora-México

ACG. PhD

Instituto Politécnico Nacional-México

PFC. PhD

Washington State University-USA

Presentación

ECORFAN, es una revista de investigación que publica artículos en las áreas de: Sistemas Experimentales.

En Pro de la Investigación, Enseñando, y Entrenando los recursos humanos comprometidos con la Ciencia. El contenido de los artículos y opiniones que aparecen en cada número son de los autores y no necesariamente la opinión del Editor en Jefe.

En el primer número es presentado el *Análisis bioinformático de cpDNA en seis especies del género Adiantum* por MINJAREZ, Benito & MACÍAS-RODRÍGUEZ, Miguel Ángel, con adscripción en la Universidad de Guadalajara, como siguiente artículo está *Análisis documental comparativo de materiales cerámicos de recubrimiento para uso dental* por SALGADO-ALDÉS, Alberto, FLORES-CORTEZ, Mauro Arturo, CUEVAS-GONZÁLEZ, Blanca Gabriela y DELGADILLO G., Patricia, en el siguiente artículo está *Carga parasitaria de ovinos (Ovis aries) manejados en sistemas de producción estabulado y pastoreo en áreas irrigadas con aguas residuales* por SÁNCHEZ-HERRERA, Susana, HERNÁNDEZ-BAUTISTA, Julio, NOGUEZ-ESTRADA, Juan y RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, Nellybeth, como siguiente artículo está *La mezcla anestésica Ketamina-Xilacina afecta la función ovárica e incide en el ciclo estral de la rata* por MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso y PAVÓN, Selyna con adscripción en el Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y la Universidad Realística de México respectivamente, como siguiente artículo está *Obtención de biogás a base de biomasa de nopal a nivel laboratorio (Opuntia ficus –indica) variedad Atlixco* por ARREGUIN, Javier, RAMOS, Maribel, CARAPIA, Isaias y LEZAMA Paulina, como siguiente artículo está *Producción de materia seca de Leucaena leucocephala y vegetación herbácea en un banco de proteína pastoreada por ovinos* por ROMÁN-MIRANDA, María Leonor, PALMA-GARCÍA, José Manuel, ZORRILLA-RIOS José Manuel y MORA-SANTACRUZ, Antonio, finalmente el artículo está *Sistemas de incompatibilidad genética de híbridos comerciales de maíz* por PADILLA-GARCÍA, J.M., DE LA CRUZ-LARIOS, L., AVENDAÑO-LÓPEZ, A.N. y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J. con adscripción en la Universidad de Guadalajara.

Contenido

Artículo	Pág
Análisis bioinformático de cpDNA en seis especies del género <i>Adiantum</i> MINJAREZ, Benito & MACÍAS-RODRÍGUEZ, Miguel Ángel	1-12
Análisis documental comparativo de materiales cerámicos de recubrimiento para uso dental SALGADO-ALDÉS, Alberto, FLORES-CORTEZ, Mauro Arturo, CUEVAS-GONZÁLEZ, Blanca Gabriela y DELGADILLO G., Patricia	13-18
Carga parasitaria de ovinos (<i>Ovis aries</i>) manejados en sistemas de producción estabulado y pastoreo en áreas irrigadas con aguas residuales SÁNCHEZ-HERRERA, Susana, HERNÁNDEZ-BAUTISTA, Julio, NOGUEZ-ESTRADA, Juan y RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, Nellybeth	19-23
La mezcla anestésica Ketamina-Xilacina afecta la función ovárica e incide en el ciclo estral de la rata MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso y PAVÓN, Selyna Instituto de Ciencias Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Universidad Realística de México	24-36
Obtención de biogás a base de biomasa de nopal a nivel laboratorio (<i>Opuntia ficus –indica</i>) variedad <i>Atlixco</i> ARREGUIN, Javier, RAMOS, Maribel, CARAPIA, Isaias y LEZAMA Paulina	37-41
Producción de materia seca de <i>Leucaena leucocephala</i> y vegetación herbácea en un banco de proteína pastoreada por ovinos ROMÁN-MIRANDA, María Leonor, PALMA-GARCÍA, José Manuel, ZORRILLA-RIOS José Manuel y MORA-SANTACRUZ, Antonio	42-50
Sistemas de incompatibilidad genética de híbridos comerciales de maíz PADILLA-GARCÍA, J.M., DE LA CRUZ-LARIOS, L., AVENDAÑO-LÓPEZ, A.N. y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J.	51-59

Instrucciones para Autores

Formato de Originalidad

Formato de Autorización

Análisis bioinformático de cpDNA en seis especies del género *Adiantum*

MINJAREZ, Benito*† & MACÍAS-RODRÍGUEZ, Miguel Ángel

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara

Recibido Enero 02, 2016; Aceptado Marzo 15, 2016

Resumen

Las Pteridophyta son plantas vasculares inferiores con ciclo de vida independientes. Generalmente se encuentran en ambientes húmedos pero pueden adaptarse a un rango amplio de hábitats. Los helechos tienen gran importancia evolutiva pues, marcaron la conquista de los ambientes terrestres favoreciendo directamente en la diversificación de las especies innovando nuevas estructuras y mecanismos de adaptación, reproducción y sobrevivencia. Son después de las angiospermas el grupo más diverso de plantas vasculares con casi 9,000 especies y 267 géneros, siendo el género *Adiantum* uno de los de mayor distribución. Por otra parte, los helechos difieren fundamentalmente de las plantas con semilla en varias características biológicas y genómicas. Lo cual representa una ventaja en la generación de estudios en la búsqueda de los principales eslabones a lo largo de la cadena evolutiva. Recientes estudios filogenéticos basados en aspectos genómicos y genéticos principalmente de cpDNA apoyados en bases de datos y herramientas bioinformáticas han permitido la caracterización e identificación de rasgos comunes o ancestrales entre especies. Así, el objetivo principal de este trabajo se centra en un estudio comparativo del gen *atpB* específico de cloroplastos entre diferentes especies del género *Adiantum* en América por medio de plataformas bioinformáticas.

Adiantum, cpDNA, filogenia, *atpB*, bioinformática

Abstract

Pteridophytes are a group of primitive vascular plants, the life cycle is characterized by alternating generations. Generally, are more common in humid places but they can adapt to a wide range of habitats. Ferns were also the first plants to extensively colonize the terrestrial environment directly promoting the diversification of species, innovating new structures and mechanisms of adaptation, reproduction and survival. Ferns are the most diverse group of vascular plants after angiosperms with almost 9,000 species and 267 genera being the genus *Adiantum* one of the most widely distributed. On the other hand however, ferns differ fundamentally from seed plants in several biological and genetic features. These represented an advantage to develop studies related to evolutionary processes. Recently, some phylogenetic studies based on genomic and genetic aspects through cpDNA and bioinformatic tools have allowed the characterization and identification of the common and ancestral features among species. Thus, the main purpose of this study is to correlate a gen from chloroplasts called *atpB* between different species in the genus *Adiantum* from America through bioinformatic platforms.

Adiantum, cpDNA, phylogeny, *atpB*, bioinformatic

Citación: MINJAREZ, Benito & MACÍAS-RODRÍGUEZ, Miguel Ángel. Análisis bioinformático de cpDNA en seis especies del género *Adiantum*. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-6: 1-12.

* Correspondencia al Autor (Correo electrónico: mmacias@cucba.udg.)

† Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

Hace más de un siglo (1872) Colm propuso el término Pteridophyta (del griego *ptēris* = helecho, *phyta* = planta) para englobar como grupo taxonómico a todas las criptógamas o plantas vasculares inferiores, es decir, a los helechos, licopodios y otras plantas afines (Salvo, 1998).

Las Pteridophyta son plantas vasculares que no tienen flores y no producen semilla, se reproducen por medio de esporas, difieren de las Bryophyta y de las Spermatophyta por sus ciclo de vida donde tanto el esporofito como el gametofito son independientes en su madurez (Martínez-Salas y Ramos, 2014). Recientes estudios filogenéticos han revelado una dicotomía basal dentro de las plantas vasculares (División Traqueophyta), separándolas en dos grandes clados (subdivisiones): Licophytina (licopodios, selaginellas e isoetes) y Euphyllrophytina (plantas con semilla y helechos verdaderos) (Smith *et al.*, 2006).

Debido a lo anterior, todos los helechos han quedado incluidos dentro del grupo de las Monilofitas (infradivisión) que incluye tanto equisetos, psilotáceas y helechos eusporangiados como leptosporangiados.

Los hay terrestres, rupícolas, epífitos y acuáticos. Sin embargo, también se distribuyen en zonas áridas, pero dependen de la lluvia y de las corrientes efímeras para su reproducción (Martínez-Salas y Ramos, 2014). Generalmente se encuentran en ambientes muy húmedos y en la proximidad de corrientes, hay especies adaptadas a un rango amplio de hábitats. La mayoría de las especies se encuentran en zonas tropicales, y es el bosque mesófilo el tipo de vegetación más rico en este tipo de plantas; le siguen la selva perennifolia, el bosque de pino-encino, la selva caducifolia, los matorrales xerófilos y la vegetación acuática (Riba, 1993).

Actualmente se estima la existencia de 10,000 especies de helechos en el mundo, concentradas en áreas tropicales con diversidad de ambientes (Mickel y Smith, 2004).

Los helechos leptosporangiados se originaron hace 300 m.a. y son, después de las angiospermas el grupo más diverso de plantas vasculares con casi 9,000 especies y 267 géneros (Schuettpelez y Pryer, 2007).

En México se encuentra alrededor de 11% del total de especies de pteridofitas del mundo y está representado 75% (95) de los géneros reportados para América, tiene una de las pteridofloras más diversas del mundo y más amplias latitudinalmente, lo que representa cerca de 5% de las especies de plantas vasculares en el país. Según Martínez-Salas y Ramos (2014) se han registrado 888 especies, de ellas 155 son endémicas lo que representa el 17% de helechos para México.

Esta pteridoflora mexicana es más que una combinación de especies del oeste de Estados Unidos y de Centroamérica, pues constituye una compleja mezcla taxonómica que incluye géneros cuyo centro de origen se encuentra en México. Además, es destacable el hecho de que los géneros con mayor porcentaje de endemismo en México habitan en ambientes estacionalmente secos (Riba, 1993).

Género *Adiantum*

Uno de los géneros con mayor distribución y casi con 200 especies, es el género *Adiantum*. Donde, más de la mitad de ellas son de la América tropical. Las cuales crecen a elevaciones de bajas a medias en bosques húmedos o en regiones secas (Mickel y Smith, 2004).

De las casi 200 especies de *Adiantum* en América, 35 especies ocurren en México, de éstas, 13 están ampliamente distribuidas hasta Sudamérica y las Indias occidentales. Cinco especies son endémicas de México (*A. amblyopteridium*, *A. galeottianum*, *A. macvaughii*, *A. oaxacanum* y *A. shepherdii*), y otras dos son relativamente raras fuera de México (*A. feii* y *A. tricholepis*) (Mickel y Smith, 2004).

El género *Adiantum* fue descrito por Carlos Linneo y publicado en *Species Plantarum* en 1753, su nombre proviene del griego y significa "no mojar", en referencia a las hojas, por su capacidad de ser arrojadas al agua sin mojarse.

Según Mickel (1992) describe el género de hábito terrestre o epipétrico, con rizoma corto a largo rastrero o subrecto, escamoso; de frondas de pequeñas a largas; estipe castaño a atroporpúreo, lustroso, glabro a densamente cubierto de angostas escamas o pelos, quebradizo; con una lámina simple a 5-pinnada; segmentos a menudo romboides, trapezoides o flabelados, sésiles o corto peciolulallos, pero nunca adnados al raquis, a menudo deciduos (articulados); lámina generalmente glabra, algunas veces glauca, pocas especies presentan pelos rígidos en la lámina o escamas en forma de pelos en las láminas; venas libres, bifurcándose, raramente anastomosadas, a menudo con idioblastos epidérmicos lineares entre las venas verdaderas; los soros nacen sobre y entre las venas del margen fuertemente recurvado y altamente modificado (falso indusio), de modo que los esporangios se oponen a la superficie abaxial de la hoja. Este carácter es una autapomorfía del género. El indusio puede ser de forma redondo-reniforme, semilunar, oblongo o linear, de 1 a muchos por segmento; parafisos ausentes, esporas en tetradas globosas, por lo general de color pardo claro a amarillento (ver tabla 1).

Las características importantes en la agrupación y unión de las especies incluyen los patrones de ramificación de las láminas (pinnadas o imparipinnadas; con o sin conformar una pinna terminal), el grado de división de láminas (pinadas, 2-pinadas, o más dividida), la presencia o ausencia de idioblastos venuloides ("venas" epidérmicas falsas), formas de las últimas divisiones (si son dimidiadas o flabelada), indumento de las láminas y ejes (ya sea de pelos, escamas, o ninguno), márgenes de las escamas (entero, denticulados, o ciliados), nervadura (libre o anastomosada) extremos de la vena (ya sea en los dientes o en los senos), y la presencia o ausencia de zonas de articulación en las bases de las divisiones finales. Esta última característica es presumiblemente una adaptación a hábitats periódicamente más secos (Mikel y Smith, 2004).

Las afinidades del género *Adiantum* son con los géneros de la familia Pteridaceae, aunque el género está algo aislado, es a menudo tratado dentro de la subfamilia Adiantoideae. Es grupo hermano de los helechos vittaroides, los cuales son usualmente también tratados como subfamilia Vittarioideae, ambas subfamilias dentro Pteridaceae (Tryon y Tryon, 1982; Mikel y Smith, 2004; Smith *et al.*, 2006).

Por otro lado, se han reportado diferentes usos medicinales en especies de *Adiantum*, como la utilización de sus rizomas, que pueden producir un efecto abortivo, las frondas han gozado de propiedades medicinales de un gran valor popular, como béquico, expectorante, emoliente, astringente, y ligeramente diurético. Por ejemplo, *A. capillus-veneris* es usado como antitusivo para curar afecciones pectorales, facilitar las menstruaciones o deshacer piedras en los riñones (Arreguín-Sánchez, 1987).

En la actualidad se conocen unas 50 especies de *Adiantum* que son cultivadas, siendo muchas de ellas producidas industrialmente para su comercialización, dada la belleza de su frondas y la facilidad de cultivo (Salvo, 1998).

Diversidad genética

Todo lo anteriormente mencionado, hace sin duda de los helechos un grupo importante de estudio tanto para la conservación de los ecosistemas en los que habita actualmente y su relación con el entorno; así como también por su gran importancia comercial y medicinal. Pero además de estas cualidades, destacamos también la importancia que representa su estudio en la búsqueda de los mecanismos evolutivos que fueron utilizados para la colonización de los ecosistemas terrestres.

Varios reportes indican como las plantas evolucionaron hace aproximadamente 470 m.a. a partir de las algas verdes de ambientes acuáticos hacia ambientes terrestres marcando con ello uno de los mayores eventos en la historia de la tierra. Pues esto favoreció directamente en la diversidad y evolución tanto de plantas como animales. (Chaloner, 1998; Karol, *et al.*, 2001).

Así, durante millones de años las plantas vasculares han innovado nuevas estructuras y mecanismos de adaptación, reproducción y sobrevivencia, lo que lleva al aumento de la complejidad morfológica y fisiológica (Plackett, 2015). Sin embargo, hasta ahora no se sabe con certeza cuales son los grupos específicos que dieron origen a las primeras plantas vasculares, como tampoco se conoce por completo cuales fueron los mecanismos genéticos y adaptativos que se generaron para dicho fin, lo que ha generado controversia en la búsqueda de un ancestro común para todo este grupo.

Aunque la búsqueda y caracterización de dichos eventos suele ser un proceso poco sencillo, debido a que en muchas ocasiones puede haber miembros intermediarios que permanecen desconocidos o se cuenta con muy poca información o evidencia fósil. Aun así, es posible hacer estudios comparativos entre especies que nos permitan conocer rasgos comunes o ancestrales y/o aquellos que difieren de una especie a otra.

Lo anterior, se demuestra en varios trabajos previos donde por medio de técnicas de secuenciación genómica y apoyándose en la información contenida en las distintas bases de datos ha permitido un rápido crecimiento en la disponibilidad de secuencias del genoma de muchas especies (Wolf, *et al.*, 2015; Zhong, *et al.*, 2015). Dichas técnicas han favorecido en la búsqueda de nuevos marcadores moleculares que permitan establecer y aclarar las relaciones evolutivas entre las distintas especies favoreciendo la generación de nuevos y más precisos árboles filogenéticos (Zhong, *et al.*, 2015).

Por otro lado, cabe destacar que uno de los retos que representa el llevar a cabo este tipo de estudios son los rasgos genómicos y genéticos. Pues, los helechos a diferencia de las plantas con semillas (como se mencionó anteriormente), muestran una alternancia de vida libre entre el gametofito y el esporofito lo que presumiblemente hace que solo una parte del genoma se exprese en la fase haploide o en la diploide; lo que probablemente tiene relación con el número y tamaño de los cromosomas de los helechos que suele ser mayor en comparación con las espermatofitas pues, en promedio presentan 57 y 16 cromosomas respectivamente (Klekowski y Baker, 1996). Además de que los helechos muestran este tipo de genomas, existen otros fenómenos relacionados a mecanismos evolutivos entre las criptógamas vasculares como es la hibridación.

Principalmente los patrones no aleatorios de flujo genético interespecífico o también conocida como hibridación asimétrica (Testo, *et al.*, 2015) aumentando aún más la variación y diversidad genética.

Lo anterior solo hace aun más complejo el estudio genético a gran escala pues el poder identificar genes o secuencias genéticas conservadas entre las distintas especies de este grupo de plantas vasculares ha representado un serio reto para los investigadores.

ADN de cloroplastos

Una alternativa en la búsqueda de características evolutivas a nivel genético ha sido el enfocarse en aquellos genes presentes en organelos subcelulares como las mitocondrias y los cloroplastos como lo señalan algunos estudios previamente reportados (Wolf, 1997; Wolf, *et al.*, 2003; Wang, *et al.*, 2015).

Donde por ejemplo, el material genético contenido en los cloroplastos (cpDNA) se ha utilizado para conocer la relación en la distribución de diferentes variedades. Como el trabajo realizado por Wang y colaboradores (2015), donde se analizaron dos especies localizadas entre China y las Islas Canarias. Para cual se estudiaron muestras de cpDNA particularmente los genes *atpA*, *atpB* y *rbcL*. Pudiendo concluir que *Adiantum reniforme* var. *sinense* es una especie independiente de la variedad de *Adiantum reniforme* var. *reniforme*, renombrando a la primera como *Adiantum nelumboides* X.C. Zhang. Además, de demostrar la viabilidad de los análisis filogenéticos y la estimación en la divergencia de diferentes especies (Wang, *et al.*, 2015).

Además, este tipo de estudios no solo nos permiten conocer aspectos filogenéticos si no también fisiológicos como el trabajo realizado por Kawaga y Wada en 1999.

Donde, se analizó los efectos fototrópicos y generadores de energía, dos eventos fundamentales para toda planta. En dicho estudio se indica la importancia en la absorción de la luz y su influencia en la eficiencia de la fotosíntesis y su relación con un grupo de genes. Todo lo anterior nos permite el poder plantearnos nuevos retos en la búsqueda no solo del parentesco entre diferentes especies si no también el identificar los genes o grupo de genes que se han adquirido o especializado para una mejora a nivel morfológico o funcional. Dando a la planta a lo largo de su evolución, nuevas herramientas para su desarrollo, conservación, propagación y adaptabilidad.

El gen *atp B*

Como se ha mencionado, algunos estudios han utilizado el uso de secuencias nucleotídicas referentes a un gen, principalmente de cloroplastos. Esto con la finalidad de realizar análisis filogenéticos en plantas destacándose el gen *rbcL*. Este gen parece brindar información de parentesco entre diferentes familias de plantas (Gastony & Rollo, 1995).

Sin embargo, el uso filogenético del gen *rbcL* ofrece poca evidencia para los eventos más antiguos de divergencia, especialmente en aquellos que implican relaciones entre los grupos basales de helechos y los principales grupos de plantas vasculares (Manhart, 1994).

Debido a ello, es que se han abordado este tipo de estudios desde diferentes enfoques o buscando otro gen o grupo de genes que brinden resultados más evidentes no sólo en aspectos de filogenia sino que también permitan inferir cambios en el genoma tales como inserciones, deleciones o pérdida y/o ganancia de genes; lo cual permitirá relacionar o diferenciar entre sí grupos y especies particulares.

Así, el gen que codifica para la cadena β de la ATP sintetasa resulta un serio candidato para realizar este tipo de estudios como lo demuestran reportes previos (Wolf, 1997; Wang, *et al.*, 2015). El gen *atpB* es parte del genoma de los cloroplastos con una longitud aproximada de más de 1490 pb y está apenas río debajo de *rbcL* (Shinozaki & Sugiura, 1986).

Dicho gen codifica para una proteína transmembranal cuya principal función es la de producir ATP a partir de ADP en presencia de un gradiente de protones a través de la membrana principalmente por sus subunidades beta. Además, se ha sugerido ha dicho gen como una herramienta útil y novedosa para realizar estudios de parentesco entre diferentes grupos de plantas incluyendo las pteridofitas (Wolf, 1997).

Cabe resaltar que aun cuando la generación de estudios filogenéticos basados en el análisis de genes o de un solo gen en particular debe tenerse en mente que esto no necesariamente representara la filogenia exacta de toda la especie si no, la relación directa al gen o grupo de genes a estudiar (Doyle, 1992).

Divergencia filogenética

Así, siendo los helechos el principal grupo de plantas vasculares “inferiores” es también uno de los más antiguos, pues sus primeros registros datan del Período Devónico de la era Paleozoica, los cuales tuvieron su apogeo a fines del Mesozoico (período Cretácico). Por lo que, dicho grupo representan junto con las briofitas, gimnospermas y angiospermas las llamadas embriofitas, que reúnen en su conjunto el 14.3% de los seres vivos.

Por otra parte, los helechos difieren fundamentalmente de las plantas con semilla en varias características biológicas y genómicas.

Lo cual representa una clara evidencia en la generación de estudios en la búsqueda de los principales eslabones a lo largo de la cadena evolutiva entre los ambientes acuáticos y la colonización de los ambientes terrestre.

Aun cuando se han hecho grandes avances en el estudio y entendimiento de los mecanismos morfológicos y fisiológicos de este grupo para su supervivencia y evolución, aun se desconocen los aspectos genómicos y genéticos de dicho grupo tales como su alto número de cromosomas y genoma de gran tamaño. De hecho hasta el día de hoy se carece de una secuencia completa del genoma lo cual hace aun más difícil su estudio e impide el poder contar con una visión más detallada de la evolución genética de las plantas vasculares. Por lo que el uso de análisis comparativos a gran escala en aspectos genéticos y genómicos para la caracterización de los helechos provee de gran información en la comprensión de los mecanismos evolutivos, no sólo de las plantas terrestres si no en el entendimiento y desarrollo de la vida en general. Pues esto tiene gran efecto sobre las condiciones de hábitat (flora, fauna y clima). Además de brindar conocimiento en otros procesos como la reproducción, pasando de una reproducción homospórica a heterospórica impactando favorablemente en la colonización del hábitat. Así, el objetivo principal de este trabajo se centra en el análisis y diversidad genética entre diferentes especies del género *Adiantum* en América a través de un estudio comparativo del gen *atpB* específico de cloroplastos por medio de plataformas bioinformáticas.

Metodología

Se seleccionaron aquellas especies americanas del género *Adiantum* que contaran con información contenida en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Las especies seleccionadas fueron: *Adiantum aleuticum* (Ruprecht) Paris, *A. capillus-veneris* L., *A. lunulatum* Burm. f., *A. pedatum* L., *A. peruvianum* Klotzch, y *A. raddianum* C.Presl, posteriormente se buscó información referente a las descripciones morfológicas y, hábitat y ecología de cada una de las especies para poder compararlas. (Paris, 1993; Mikel & Smith, 2004)

Las fotos de las especies se obtuvieron en las siguientes páginas electrónicas:

Adiantum aleuticum: Flora de Eastern Washington and Adjacent Idaho, *A. pedatum*: Flora of North America, *A. peruvianum*: Plant Systematics y de Poppinga *et al.* 2015, *A. lunulatum*: Flora de Zimbabwe, *A. raddianum*: Fernkloof Nature Reserve, New Zealand Plant Conservation Network. Y para el caso de *A. capillurus veneris* las fotos se obtuvieron de especies que crecen dentro del Área de Protección de Flora y Fauna La Primavera, en Jalisco, Méx.

Análisis bioinformático del gen *atpB*

La identificación del gen se realizó utilizando la base de datos del NCBI, permitiendo la selección de la secuencia específica para el gen *atpB* en cada una de las especies del género *Adiantum*. Posteriormente, se hizo el análisis bioinformático y el alineamiento para dicho gen utilizando la plataforma que ofrece el software de Kalign 2.0 (Multiple Sequence Alignment) (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/kalign/>), el cual brinda un algoritmo de alineamiento de secuencias múltiples rápida y precisa. Además, se realizó la identificación de las proteínas utilizando la base de datos de UniProtKB/Swiss-Prot (<http://www.ebi.ac.uk/swiss-prot/>) con los parámetros predeterminados por la página.

También cada una de las secuencias nucleotídicas obtenidas para cada uno de los genes fue alineada por medio de la plataforma de MULTALIN (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_multalin.html)

Posteriormente, cada uno de los genes fue analizado para obtener un cladograma a través del software Dendroscope (version 3.5.7, built 30 Jan 2016) generado por la Universität Tübingen (<http://dendroscope.org>).

Resultados

Características morfológicas del género Adiantum en América. Se seleccionaron seis diferentes especies americanas del género *Adiantum*, las cuales fueron *A. capillus-veneris* (JF935427), *A. raddianum* (JF935387), *A. aleuticum* (JN052875), *Adiantum pedatum* (JN052880), *Adiantum peruvianum* (JF935365) y *Adiantum lunulatum* (JF935376).

Posteriormente se realizó una tabla comparativa referente a las características morfológicas y ecológicas para corroborar si compartían algunos rasgos o de lo contrario, en que características diferían unas de otras (Tabla 1). Además, se realizó un análisis morfológico entre cada una de las especies las cuales se muestran en la Figura 1. Es importante mencionar que aun cuando las imágenes de las especies no muestran las mismas partes estructurales, es aun posible hacer una correlación entre dichas especies. Una vez hecho el análisis morfológico estructural de las seis especies del género *Adiantum* se realizó un mapa de distribución para conocer las áreas en las cuales se desarrollan, y poder realizar una comparación biogeográfica (Figura 2). Dicho mapa, fue correlacionado con el árbol filogenético obtenido *in silico* por medio de diferentes plataformas bioinformáticas (ver materiales y métodos).

Análisis bioinformático del gen *atpB* para el género *Adiantum*.

Para llevar a cabo el estudio filogenético de las especies, se eligió el gen *atpB*. El cual, como se mencionó anteriormente, está presente en los cloroplastos y pertenece a la familia de las ATPasas presente en prácticamente todos los reinos y participa en múltiples procesos celulares entre los que se destaca, la fusión celular, la replicación de DNA, el transporte y degradación de proteínas; además de facilitar el ensamblaje de proteínas recién sintetizadas (Ogura y Wilkinson, 2001).

Para dicho estudio, se seleccionaron de la base de datos del NCBI, las secuencias nucleotídicas referentes a las isoformas más largas para el gen de cada una de las especies. De tal forma, se realizó un alineamiento de dichas secuencias utilizando la plataforma MULTALIN, Kaling junto con un BLAST con el propósito de identificar regiones conservadas las cuales mostraran mayor similitud así como, destacar zonas específicas y cambios puntuales entre las diferentes secuencias biológicas a través de una agrupación jerárquica. Dicho alineamiento muestra que las seis especies presentan una similitud del más del 90% pero, se destacan ciertos cambios puntuales a lo largo de la secuencia específica para *A. raddianum* (Figura 3).

Análisis filogenético y biogeográfico del género *Adiantum* en América

Con base a la información obtenida, se generó un cladograma que nos muestra las afinidades y diferencias de las seis especies del género *Adiantum*. Dichos datos fueron analizados por medio del software Dendroscope el cual es capaz de generar árboles filogenéticos por medio del análisis de las secuencias nucleotídicas, con base en la evaluación del grado de sustitución en el número de bases y regiones genómicas comparadas.

Dado a que las diferencias tanto en la secuencia, longitud y orden genético son características intrínsecas que más impactan en los estudios de relación y conservación evolutiva, nos permiten así conocer la homología entre cada una de las especies referente al gen a evaluar.

Este resultado muestra una marcada división entre las especies, formando tres diferentes grupos. Los cuales, fueron nombrados como Grupo I para *A. peruvianum* y *A. raddianum*, grupo II *A. pedatum* y *A. aleuticum* y en el grupo III tenemos a *A. capillus-veneris* y *A. lunulatum*. Cada uno de ellos incluyen dos diferentes especies lo que permite desde este punto, identificar aquellas especies más emparentadas así como destacar a aquellas más primitivas o que comparten una historia natural en común (Figura 4). Además, la información obtenida del árbol filogenético, corrobora la distribución y afinidad de las seis especies del género *Adiantum* mostrado previamente (Figura 2).

El grupo I incluye a *Adiantum raddianum* y *A. peruvianum* que hasta ahora no se encuentran ligadas a ninguna especie o grupo y permanecen como especies independientes. Ambas, son de afinidad Neotropical pero con diferentes áreas de distribución. La primera se distribuye desde Mesoamérica hasta el norte de Sudamérica y la segunda, se ubicada en la región andina de Bolivia, Ecuador, Perú, y ultimadamente registrada en el noroeste argentino (Cacharani *et al.* 2014).

Por su parte el grupo II conformado por *A. pedatum* y *A. aleuticum* presentan una gran similitud y comparten muchas características morfológicas que las hacen ser muy semejantes (Tabla 1), esto se relaciona con la distancia tan corta que existe entre ellas.

Aunque ambas especies son de afinidad templada y se distribuyen en Norteamérica en su porción más septentrional, llegan a diferenciarse por sus áreas de distribución tan contrastantes, la primera lo hace en la vertiente pacífica y la segunda en la oriental. Finalmente, el grupo III que incluye a las especies *A. capillus-veneris* y *A. lunulatum* aunque no presentan características morfológicas semejantes, como hojas bipinnadas y hojas pinnadas respectivamente, ambas, en este análisis, se unen en este clado por ser especies de amplia distribución en el continente y de afinidad Pantropical; la primera mayormente distribuida desde la mitad sur de EEUU hasta el norte de Sudamérica y la segunda desde la parte de Mesoamérica hasta Argentina. Con base al árbol filogenético podemos observar que las seis especies americanas comparten el gene *atpB*, desde que aparecieron en el Devónico medio y hasta nuestros días, presentan una alta diversidad en cuanto a los hábitats que colonizan, desde bosques templados de coníferas, de encino, mesófilos de montaña o bosques tropicales caducifolio, semideciduo o perennifolio, la mayoría de las especies siempre prefieren lugares húmedos y sombreados.

Conclusiones

A lo largo de este trabajo, nos hemos propuesto analizar la relación del gen *atpB* y la fitogeografía del género *Adiantum* desde un punto de vista evolutivo. Apoyándonos en el uso de diferentes software, herramientas bioinformáticas, aspectos morfológicos y biogeográficos de seis diferentes especies americanas para dicho género. Con la finalidad de conocer la historia evolutiva del grupo basándose principalmente en la generación de árboles filogenéticos, los cuales, representan no sólo el nivel evolutivo y la era geológica en la que aparecieron si no también muestran cuales son aquellas especies más emparentadas y relacionadas dentro de un mismo grupo.

Los cuales nos han permitido identificar en muchos de los casos ancestros comunes y algunos otros, aun se desconocen miembros intermedios a lo largo de la filogenia. Con base a los resultados obtenidos del análisis bioinformático del gen *atpB*, se generó el cladograma donde relacionamos su biogeografía y morfología, pudiendo observar tres grupos principales. El Grupo I, conformado por dos especies *A. raddianum* y *A. peruvianum*, ambas especies no forman un grupo bien definido, ya que morfológica y biogeográficamente son muy distintas, se unen al resto de las especies por ser de distribución tropical; la primera se distribuye principalmente por Mesoamérica hasta la parte norte de Sudamérica, según Mikel y Smith (2004) podría no ser una especie nativa, si no más bien recientemente introducida, escapada de cultivo, ya que en ninguna parte de México es común, excepto en el estado de Morelos. La especie *A. peruvianum* no se encuentra ligada a ninguna otra especie o es la más aislada, debido a que, a diferencia del resto de las demás, su distribución se ubica en el hemisferio sur, en la región andina de Bolivia, Ecuador y Perú y noroeste argentino; creciendo en el sotobosque de selva montaña, en lugares húmedos y sombríos (Cacharani *et al.* 2014). Y morfológicamente presenta hojas pinnadas a diferencia del resto de las especies.

A continuación, El Grupo II une dos especies muy emparentadas tanto desde el punto de vista morfológico, como biogeográfico se trata de *A. aleuticum* y *A. pedatum*, ambas especies se caracterizan por ser muy semejantes y sus diferencias son muy sutiles e inclusive algunas páginas especializadas en taxonomía vegetal (Tropicos.org) las consideran una sola especie (*A. pedatum*), con sus variantes infraespecíficas; otras páginas como (The Plant List, ó Taxonomic Name Resolution Service) las consideran como especies diferentes:

En nuestro caso las consideramos como dos especies diferentes de acuerdo a Flora de Norteamérica, ya que aunque son muy semejantes como ya se había dicho, pero hay varias características morfológicas que nos hacen considerarlas especies diferentes (Tabla 1). Además sus áreas de distribución son muy diferentes, aunque ambas se distribuyen en el Hemisferio Norte, *A. aleuticum* se distribuye principalmente en la porción occidental de Norteamérica a lo largo de las provincias bióticas Aleutiana, Sitkan, Oregoniana y Californiana propuestas por Dice (1943), llegando hasta el estado de Chihuahua en México, sobre una altitud que va desde los 0-3200 m, en una variedad de hábitats en toda su gama, desde húmedos, barrancas boscosas a eriales de serpentina y poco frecuente en acantilados costeros subalpinos; mientras que *A. pedatum* se presenta en la vertiente oriental de norteamericana a lo largo de las provincias Caroliniana y Canadiense, en la Región Ecológica Bosques Templados del Este (CCA, 1997) con una distribución altitudinal inferior a la especie anterior, de 0-700 m y se limita a los bosques de hoja caduca en el este de América del Norte.

Por último, El Grupo III donde *Adiantum capillus-veneris* y *A. lunulatum* se encuentran unidas por ser especies biogeográficamente Pantropicales. Ambas, son las de mayor distribución en América, aunque morfológicamente son muy diferentes y comparten pocas características como el color del estípite y raquis, $2n = 120$ (Tabla 1). Ambas se distribuye en los bosques deciduos, semideciduos y perennes. *A. capillus-veneris* se distribuye principalmente en el hemisferio norte, mientras *A. lunulatum* prefiere el hemisferio sur.

Destacamos que *A. capillus-veneris* al ser de amplia distribución presenta una gran variación genotípica. Pues, en el hemisferio oriental, las especies son diploides con $2n = 60$. Varios recuentos tetraploides se han reportados de América del Norte. Los datos de medición de esporas sugieren, sin embargo, que el citotipo poliploide no puede distribuirse ampliamente. Por lo que se necesita realizar más investigación para determinar si las poblaciones de *A. capillus-veneris* en América del Norte son la misma especie con las de Eurasia y África (Paris, 1993).

Referencias

- Arreguín-Sánchez ML, Importancia económica de las Pteridofitas. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Informes Técnicos, México. 1987, I(1):1–47.
- Bordoli L, Kiefer F, Arnold K, Benkert P, Battey J and Schwede T, Protein structure homology modelling using SWISS-MODEL Workspace. Nature Protocols, 2009 4,1.
- Cacharani DA, Ramos M y Martínez OG, Dos nuevos registros de helechos para el noroeste argentino. Darwiniana 2014, 2(2):277–283.
- Chaloner B, The greening of the land. Trends Ecol Evol. 1998, Jun 1;13(6):251.
- CCA (Comisión para la Cooperación Ambiental), *Regiones Ecológicas de América del norte, hacia una perspectiva común*. Comisión para la Cooperación Ambiental, Québec, Canadá. 1997.
- Combet C, Blanchet C, Geourjon C and Deléage G, NPS@: Network Protein Sequence Analysis TIBS 2000, Vol. 25, No 3 [291]:147–150.
- Dice LR, *The biotic provinces of North America*. University of Michigan, Press, Ann Arbor. 1943

- Doyle J J, Gene trees and species trees: molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany* 1992, 17: 144–163. [SEP]
- Gastony GJ, and Rollo, D. R, Phylogeny and generic circumscriptions of cheilanthoid ferns (Pteridaceae: Cheilanthes) inferred from rbcL nucleotide sequences. *American Fern Journal* 1995, 85: 341–360.
- Guex N, Peitsch MC, Schwede T, Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbViewer: A historical perspective. *Electrophoresis*, 2009, 30(S1), S162-S173.
- Kagawa T, Wada M, Chloroplast-avoidance response induced by high-fluence blue light in prothallial cells of the fern *Adiantum capillus-veneris* as analyzed by microbeam irradiation. *Plant Physiol.* 1999, 119(3):917–24.
- Karol KG, McCourt RM, Cimino MT, Delwiche CF, The closest living relatives of land plants. *Science*. 2001, 14; 294(5550):2351–3.
- Klekowski EJ Jr, Baker HG, Evolutionary significance of polyploidy in the pteridophyta. *Science*. 1996, 153(3733):305–7.
- Lassmann T, Frings O, Sonnhammer EL, Kalign, 2: high-performance multiple alignment of protein and nucleotide sequences allowing external features. *Nucleic acids research* 2009, 37(3):858–65.
- Letunic I, Doerks T, Bork, SMART: recent updates, new developments and status in 2015. *Nucleic Acids Res.* 2015, 43(Database issue):D257–60.
- Manhart JR, Phylogenetic analysis of green plant rbcL sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1994, 3: 114–127.
- Martínez-Salas E y Ramos CH, Biodiversidad de Pteridophyta en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 2014, 85:110–113.
- Mickel JT, Pteridophytes. In: McVaugh R. (Ed.). *Flora Novo-Galiciana. Gymnosperms and Pteridophytes*. Vol 17. The University of Michigan Herbarium Ann Arbor. 1992, pp 137–153.
- Mickel JT y Smith AR, *The Pteridophytes of Mexico*. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 2004, 88: 1–568.
- Ogura T y Wilkinson AJ, AAA+ superfamily ATPases: common structure diverse function. *Genes Cells* 2001, 6(7):575-97.
- Paris CA. *Adiantum*. In *Flora of North America*, ed. Flora of North America Editorial Committee. New York: Oxford University Press. 1993.
- Plackett AR, Di Stilio VS, Langdale JA, Ferns: the missing link in shoot evolution and development. *Front Plant Sci.* 2015, Nov 6;6:972.
- PlantSistematic.org.
<www.Plantsystematics.org> (consultada en junio 2106).
- Poppinga S, Haushahn T, Warnke M, Masselter T, Speck T, Sporangium exposure and spore release in the peruvian maidenhair fern (*Adiantum peruvianum*, Pteridaceae). *PLoS ONE* 2015. 10(10): e0138495. doi:10.1371/ journal. pone. 0138495.
- Riba R, Mexican Pteridophytes: Distribution and endemism. In: Ramamoorthy T.P., R. Bye, A. Lot, y J. Fa (Eds.) *Biological Diversity of Mexico*. Oxford University Press. 1993, pp 379–395.

Salvo E, Helechos. In: Izco J, Barreno E, Brugués M, Costa M, Devesa J, Fernández F, Gallardo T, Llimona X, Salvo E, Talavera S y Valdés B (eds.). *Botánica*. Mc Graw Hill-Interamericana de España S.A.U. Madrid, España. 1998, pp. 353–377.

Shinozaki K, Sugiura M, Organization of chloroplast genomes. *Adv Biophys.* 1986, 21:57–78.

Smith AR, Pryer KM, Schuettpetz E, Korall P, Shneider A y Wolf PG, A Classification for extant ferns. *Taxon* 2006, 55(3):705-731.

Testo WL, Watkins JE Jr, Barrington DS, Dynamics of asymmetrical hybridization in North American wood ferns: reconciling patterns of inheritance with gametophyte reproductive biology. *New Phytol.* 2015, 206(2):785-95.

The Plant List. Version 1.1. <<http://www.theplantlist.org>> (consultada el 25 julio 2016).

The Taxonomic Name Resolution Service. Version 4.0 <tnrs.iplantcollaborative.org> [consultada el 28 julio 2016].

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org> (consultada el 25 julio 2016).

Tryon RM, Tryon AF, *Ferns and Allied Plants, With Special Reference to Tropical America*. Springer-Verlag, New York Heidelberg Berlin 1982, pp 1– 857.

Wang AH, Sun Y, Schneider H, Zhai JW, Liu DM, Zhou JS, Xing FW, Chen HF, Wang FG, Identification of the relationship between Chinese *Adiantum reniforme* var. *sinense* and Canary *Adiantum reniforme*. *BMC Plant Biol.* 2015, 5;15:36.

Wolf P, Evaluation of atpB nucleotide sequences for phylogenetic studies of ferns and other pteridophytes. *Am J Bot.* 1997, 84(10):1429.

Wolf PG, Rowe CA, Sinclair RB, Hasebe M, Complete nucleotide sequence of the chloroplast genome from a leptosporangiate fern, *Adiantum capillus-veneris* L. *DNA Res.* 2003, 10(2):59 – 65.

Wolf PG, Sessa EB, Marchant DB, Li FW, Rothfels CJ, Sigel EM, Gitzendanner MA, Visger CJ, Banks JA, Soltis DE, Soltis PS, Pryer KM, Der JP, An Exploration into Fern Genome Space. *Genome Biol Evol.* 2015, 26;7(9):2533 – 44.

Zhong B, Sun L, Penny D, The Origin of Land Plants: A Phylogenomic Perspective. *Evol Bioinform Online.* 2015, 8;11:137– 41.

Análisis documental comparativo de materiales cerámicos de recubrimiento para uso dental

SALGADO-ALDÉS, Alberto*†, FLORES-CORTEZ, Mauro Arturo, CUEVAS-GONZÁLEZ, Blanca Gabriela y DELGADILLO G.

Recibido Enero 20, 2016; Aceptado Marzo 15, 2016

Resumen

El hombre desde la antigüedad hasta la actualidad ha cuidado su imagen y ha buscado mejorarla, a través de técnicas y aplicación de objetos para embellecerla, dentro de la odontología cosmética se ha observado que las restauraciones metálicas no logran reducir las características estéticas de los dientes naturales tales como: croma, tono, color, matiz, fluorescencia, translucidez, radiopacidad, dado que el metal refleja los rayos luminosos o en el margen gingival quede un halo oscurecido dando como resultado restauraciones y antiestéticas, por lo que se ha buscado materiales con características comparadas con las de los dientes naturales. Al analizar diferentes propiedades ópticas, textura, incompatibilidad, durabilidad y estabilidad química en el medio bucal, con materiales y posibilidad de ser adheridas y grabadas mediante los sistemas cementantes adhesivos actuales, donde se requiere identificar las ventajas y desventajas de los materiales cerámicos conociendo sus principales indicaciones y contraindicaciones comparando los sistemas de cementación y adhesión así como microfiltración y sellado por lo que hace necesario un estudio documentado de la diversidad de estos materiales y valorar sus indicaciones de uso

Cerámicas, feldespáticas

Abstract

Man from ancient times to the present has carefully its image and has sought to improve, through technical and application objects to embellish it, in cosmetic dentistry has been observed that metallic restorations fail to reduce the aesthetic characteristics of natural teeth such as tone, color (brightness) array, fluorescence, opalescence, translucence, radiopacity, transparency because metal reflects the light rays or the gingival edge is a darkened halo resulting opaque and unsightly restorations, so it has sought ways to make restorations characteristics compared to those of natural teeth. Research has resulted in new materials for the manufacture of metal-free restorations, each with different individual characteristics, including: weight, handling, cooking temperature, aesthetics, compressive strength, resistance to flexibility and abrasion, which determines use, indications, contraindications, and especially its advantages and disadvantages for the success of the restoration; with the use of different dental ceramics (feldspar) have achieved restorations similar to natural teeth features allowing light rays penetrate porcelain and restorations look more aesthetic and more natural to satisfy the patient and exceed your expectations ..

Ceramics, feldspar

Citación: SALGADO-ALDÉS, Alberto, FLORES-CORTEZ, Mauro Arturo, CUEVAS-GONZÁLEZ, Blanca Gabriela y DELGADILLO G., Ricard. Análisis documental comparativo de materiales cerámicos de recubrimiento para uso dental. Revista de Sistemas Experimentales 2016, 3-6: 13-18.

* Correspondencia al Autor (Correo electrónico: albersalva2016@gmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La estética tiene por objetivo estudiar y determinar la esencia de la belleza. En la odontología, la perspectiva de la estética ha hecho que los materiales empleados evolucionen para cubrir las necesidades del paciente; se han elaborado materiales para restauraciones con características similares a los órganos dentarios naturales^{1,2}. Las técnicas innovadoras de rehabilitación dental, tales como las cerámicas han sido empleadas durante muchos años ya que presenta características similares de un diente natural, se confeccionaron como antecedente las coronas de metal y recubrimiento de cerámica, aunque estas restauraciones han tenido buenos resultados^{3,4,5}, el metal impide el paso de la luz y la refleja, actualmente hay cerámicas con características similares a las de los dientes naturales que permiten el paso de la luz, como la alúmina y la zirconia^{6,7,8}.

Estos materiales cerámicos tienen características semejantes de los dientes naturales, como: valor, matriz, cromas, translucidez, brillo, transparencia, opacidad, opalescencia, iridiscencia, reflexión de la luz, textura, estabilidad química, coeficiente de expansión térmica, mayor resistencia a la abrasión, mayor biocompatibilidad⁹. Las cerámicas dentales deben tener propiedades similares a los dientes naturales como son:

1.- Propiedades ópticas

Brillo o luminosidad.- es lo que distingue los colores claros de los oscuros es definir cuanta luz refleja o absorbe un objeto.

Matiz.-cualidad por la que distinguimos un color familiar a otro.

Croma.-cantidad o saturación del pigmento.

Traslucidez.-propiedad que permite parcialmente el paso de luz.

Brillo.-característica de la superficie del material que refleja la luz.

Transparencia.- Paso de luz a través de ella.

Opacidad.- dispersión de la luz.

2.- Composición

Cerámicas feldespáticas.

Cerámica reforzada con alúmina al 50%.

Cerámica reforzada con leucita.

Vitocerámicas de disilicato de litio.

Cerámicas Infiltradas por vidrio.

Cerámicas aluminosas.

Cerámica aluminizada al 97 % e infiltrada de vidrio.

Cerámicas con contenido de alúmina y magnesio e infiltrada de vidrio.

Cerámica de óxido de aluminio-zirconia.

Cerámicas con contenido de alumina y zirconia e infiltrada de vidrio.

Cerámicas de alto contenido de Alumina
Cerámicas aluminada al 99.5%.

Los requerimientos estéticos por parte de los pacientes cada vez son mayores, debido a que buscan favorecer su imagen personal mediante una sonrisa más atractiva, utilizando materiales con mejores características que satisficieran las necesidades y superar las expectativas del paciente^{10,11}.

Actualmente existen técnicas y métodos manuales y computarizados que permiten mayor precisión en las prótesis dentales obteniendo una óptima calidad.

Hoy en día hay materiales considerados como acero cerámico por su resistencia a la compresión para la fuerza de masticación, hay cofias elaboradas con el sistema CAD-CAM y recubiertas de porcelana que es actualmente es lo mas nuevo en estos materiales¹².

Resultados

Las restauraciones de coronas libres de metal están indicadas en todas aquellas situaciones en donde es esencial la máxima estética y sustituyan a la pieza dental natural y biocompatibilidad, esta restauración llega a desarrollar su potencial en relación a su dureza, e integración biológica a través de su cementación adhesiva¹³.

En breve se describe el procedimiento de colocación de estos sistemas cerámicos y de manera consecuente tablas comparativas de estos materiales cerámicos para su aplicación y uso.

El provisional y su cementación también influye, debe colocarse un cemento que no contenga en su fórmula eugenol ya que este impide la correcta adhesión del cemento a la estructura dentaria. Debe realizarse aislamiento con dique de hule para tener un campo de trabajo seco, las proteínas de la saliva pueden impedir la adhesión del cemento.

Realizar profilaxis previamente para tener una superficie limpia para iniciar la cementación del diente con chorro de agua de jeringa triple para remover restos de cemento o material que pueda interferir en la adhesión de la restauración libre de cerámica

Secar con Algodón, para tener una superficie seca, evitar el uso de aire directo ya que cuando se trata un diente vital el paciente puede tener sensibilidad y presentar dolor durante el periodo de cementación.

Puede colocarse clorhexidina sobre el diente por un minuto para desinfectar la preparación y tener una superficie libre de bacterias que puedan iniciar algún proceso de caries. Secar nuevamente con algodón, el uso de aire directo puede ocasionar dolor en el paciente cuando se trata de un diente vital.

Gravar la preparación por un tiempo de 15 segundos con ácido fosfórico.

Eliminar el excedente con aire limpio por 5 seg. Logrando una mayor dispersión y penetración de adhesivo en la superficie dentaria Posteriormente se aplica un “agente acoplante” que recibe el nombre de “silanización” este paso es sumamente importante y tiene como objetivo facilitar la “unión química” del sistema adhesivo y el agente cementante a la estructura dentaria remanente., su uso es fundamental para garantizar la durabilidad de la restauración.

Colocar cantidad suficiente de cemento de resina en la restauración para que no queden zonas huecas haciéndola propensa a fracturas o presentar dolor posteriormente.

Colocar la restauración sobre el muñón dental, una vez colocada la restauración sobre el diente se verifica que haya asentado correctamente y se aplica presión indicándole al paciente que mantenga la presión mordiendo el instrumento o un pedazo de palo estéril para que el cemento fluya y asiente

Quitar excedentes con hilo dental si se mueve la restauración puede atrapar aire y el paciente puede referir dolor al masticar.

Finalmente el material de cementación puede ser fotopolimerizado en su totalidad por un tiempo de 20 seg. Por cuadrante de restauración, o bien se puede esperar hasta que finaliza su autopolimerización completa verificando el sellado.

Cuando se termina se puede en caso de ser necesario se retira el excedentes ^{14,1,16}.

En la tabla 1, se describen los diferentes sistemas de materiales cerámicos utilizados por composición química, indicaciones, recubrimiento y cementación.

Cerámicas	Composición química	Resistencia flexural	Indicaciones	Recubrimiento	Cementación
Feldospatícas	Caclín, Feldespató Cuarzo Leucita	100MPa – 300MPa	Recubrimiento de metal Carillas Inlay's Onlay's Corona anterior	No es necesario	Cementos híbridos de resina dual Las carillas cerámicas se aconseja utilizar cementos fotopolimerizables
Disilicato de litio		300 MPa	Carillas Inlay's Onlay's Corona anterior	Cerámicas feldospatícas con técnica de estratificación	Cementos híbridos de resina dual
Sistemas de alúmina	Oxido de aluminio (Al ₂ O ₃)	300 MPa – 600MPa	Carillas Inlay's onlay's	Cerámicas feldospatícas con técnica de estratificación	Comonito de resina dual Concritos híbridos de resina dual
Sistemas de alúmina reforzada con zirconia	67%Oxido de Alúmina (Al ₂ O ₃) 33% Oxido de Zirconio (ZrO ₂)	720MPa	Corona anterior Corona posterior Inlay's onlay's Puentes con retenedores tipo inlay's y onlay's Sobresimplantes Puentes de 3, 4, 6 unidades	Cerámicas feldospatícas con técnica de estratificación	Cementos híbridos de resina dual hay que agregar un primer para zirconia
Sistemas de zirconia	Oxido de zirconia (ZrO ₂)	750MPa – 900MPa	Corona anterior Corona posterior Inlay's onlay's Puentes con retenedores tipo inlay's y onlay's Carillas Sobresimplantes Puentes de 3, 4, 6 y 14 unidades	Cerámicas feldospatícas con técnica de estratificación	Cementos híbridos de resina dual
Sistemas de zirconia Y-TZP-A	91%Oxido de zirconia (ZrO ₂) 5% Oxido de litio (Li ₂ O) 3% Oxido de calcio (CaO) < 1 % Oxido de aluminio (Al ₂ O ₃)	1000MPa – 1.2 GPa	Corona anterior Corona posterior Inlay's onlay's Puentes con retenedores tipo inlay's y onlay's Carillas Sobresimplantes Puentes de 3, 4, 6 y 14 unidades	Cerámicas feldospatícas con técnica de estratificación	Cementos híbridos de resina dual

Tabla 1 Tipos de cerámicas

En la tabla 2, se muestran las indicaciones de uso de sistemas cerámicos de recubrimiento comparativo con sistemas de alúmina y zirconia dando por resultado el que sea indicado, contraindicado o donde se presentan casos de no adhesión.

	Cerámica de recubrimiento	Sistema de Alúmina	Sistema de Zirconia
Inlay's	✓	✓	✓
Onlay's	✓	✓	✓
Carilla	✓	✓	✓
Corona anterior	✓	✓	✓
Corona posterior	*	✓	✓
Puente anterior	*	*	✓
Puente posterior	✗	*	✓

✓ INDICADO
 ✗ CONTRAINDICADO
 * VALORANDO EL CASO
 ⊘ NO PRESENTA ADHESIÓN

Tabla 2 Indicaciones de los sistemas cerámicos de recubrimiento

En la tabla 3 se presentan materiales de diferentes tipos de cerámicas, fabricación, aplicación y algunos fabricantes ¹⁷.

Sistema	Material	Método	Estética	Fabricante
Vitadur	Oxido de aluminio	Sinterizado	Capas	Vita Zahnfabrik
Dicor	Cerámica vítrea	Colado/aposición de cerámica	Pintado	DeTrey/Densply
Dicor Plus	Cerámica vítrea	Colado/aposición de cerámica	Capas	DeTrey/Densply
Olympia	Cerámica vítrea	Colado/aposición de cerámica	Pintado	Olympia
Will Glas	Cerámica vítrea	Colado/aposición de cerámica	Capas	W. Geller
Cerestore	Oxido de aluminio	Presión/Sinterizado	Capas	Johnson and Johnson
AllCeram	Oxido de aluminio	Presión/Sinterizado	Capas	Innotek
Hi-Ceram	Oxido de aluminio	Sinterizado	Capas	Vita Zahnfabrik
Mirage	Cerámica vítrea	Sinterizado	Capas	Concorde
Cerapearl	Apatita	Colado/aposición de cerámica	Pintado	Kyocera
Optec	Cerámica vítrea	Sinterizado	Capas	Jeneric
InCeram	Oxido de aluminio	Sinterizado/infiltrado	Capas	Vita Zahnfabrik
Empress	Cerámica vítrea	Presión	Pintado/Capas	Ivoclar
Cerapress	Cualquiera	Presión	Pintado/Capas	Cerapress

Tabla 3 Sistemas de cerámica de revestimiento para coronas y puentes. Fuente: Schmideder J., Atlas Odontología estética, Ed. Masson

En la tabla 4 se muestra la comparación por costo, dureza, y otras propiedades de las cerámicas con la alúmina y zirconia.

	Metal cerámicas	Cerámicas de revestimiento	Alúmina	Zirconia
Propiedades ópticas	Apariencia opaca	Capacidad de caracterizar	Color blanco	Color Blanco grisáceo
Reflexión de la luz	mala	mayor	bueno	bueno
Biocompatibilidad	bueno	bueno	bueno	bueno
Estabilidad química	estable	estable	estable	estable
Compatibilidad con otros materiales y posibilidad de ser adheridas y grabadas	Convencional adhesiva	adhesiva	adhesiva	adhesiva
Conductividad térmica	Alta	poca	poca	poca
Radiolucidez	radiolucido	radiolucido	radiolucido	radiolucido
Resistencia a la abrasión	BUENA	BUENA	BUENA	MAYOR
Resistencia flexural		Reforzada con alúmina 120 MPa - 140 MPa Reforzada con leucita 140 MPa Disilicato de litio 360 MPa Infiltradas por vidrio aluminizada al 97% - 400MPa Cerámicas con contenido de alúmina y magnesio - 280 MPa - 320 MPa Cerámica de óxido de aluminio y zirconio - 600 MPa Cerámicas con contenido de alúmina y zirconio e infiltrada de vidrio - 750 MPa Cerámicas aluminizada al 99.5% - 700 MPa Vidrios Ceramizados - Disilicato y ortofosfato de litio - 350 MPa - 450 MPa - Policristales de Zirconio Tetragonal Estabilizado con litio - 900 MPa a 1,2 GPa	300 MPa - 600 MPa	750 MPa
Procesado	Vaciado, recubrimiento, estratificado	Vaciado, frosado, inyectado, recubrimiento, estratificado	barbotina, CAD-CAM	barbotina, CAD-CAM
Costo	Económico	moderado	elevado	elevado

Tabla 4 Sistemas cerámica de revestimiento metal cerámica, cerámica, alúmina y zirconia

En la tabla 5 se presenta el análisis comparativo de las cerámicas con respecto a las temperaturas de procesamiento con los ventajas y desventajas y se da una sistema general de composición.

DENOMINACIÓN	TEMPERATURA	INDICACIONES	VENTAJAS	INCONVENIENTES	COMPOSICIÓN PORCENTAJE
Alta fusión	1300-1370 °C	Producción industrial de dientes	> Resistencia < Translucidez > Solubilidad Soporta muy bien modificaciones repetidas	Gasto energético elevado	
Media fusión	1100-1300 °C	Núcleo de elaboración de coronas jacket	< Intervalo de fusión < Cambio dimensional al unir < porosidad superficial < Grietas superficiales	La porcelana se deforma durante las reparaciones repetidas	Dióxido de silice (64.2%) Óxido bórico (2.8%) Óxido potásico (6.2%) Óxido sodico (1.9%) Óxido de aluminio (2.8%) Óxido de litio (2.1%) Óxido de Mg (0.5%) Pentóxido de teluro (0.7%)
Baja fusión	850 - 1100 °C	Recubrimiento calcico de núcleos aluminosos y técnicas ceramometálicas			Dióxido de silice (69.4%) Óxido bórico (7.5%) Óxido cálcico (1.5%) Óxido potásico (8.3%) Óxido sodico (4.8%) Óxido de aluminio (6.1%)
Muy bajas o ultra baja fusión	< 850 °C	Combinación con metales como el titanio, pequeñas rectificaciones, puntos de contacto Anatomía oclusal, ángulos, etc	Mejora las propiedades de las cerámicas de media y baja fusión		
Temperatura ambiente		Procesamiento directo en clínica	Evita laboratorio de prótesis		

Tabla 5 Clasificación de las cerámicas de acuerdo a temperaturas de procesamiento

los pacientes que acuden al consultorio dental buscan mejorar su aspecto, la cosmética dental busca para modificar los dientes naturales como restauraciones que superen las expectativas tanto del paciente como del odontólogo. Las técnicas innovadoras en la odontología estética están en constante evolución, buscando materiales que tengan características ópticas y físicas similares a la de los dientes naturales, que se han logrado con el uso de la alúmina y la zirconia, materiales que han dado resultados óptimos en restauraciones libres de metal, resistentes y con características ideales para la rehabilitación no solo funcional sino estética creando dientes de fantasía. Un gran aporte es el sistema CAD-CAM que a través del fresado de bloques de alúmina o zirconia permite la obtención de restauraciones libres de metal en poco tiempo, y con el uso de cámaras intraorales se puede iniciar el procedimiento con la toma digital de la preparación en la cavidad bucal, obteniendo la restauración en el consultorio dental en un lapso de 30 minutos.

La principal desventaja de este sistema es el monocromatismo de las restauraciones, por lo que es conveniente combinar las cofias de zirconia con sistemas de porcelana estratificada, lo que da resultados más estéticos, favorables para el paciente y que superen las expectativas tanto del paciente como el odontólogo. El cementado de la restauración también es importante, ya que el color del material adhesivo influye directamente en el color y en el aspecto de la restauración, por ello es buena opción elegir el color ideal del adhesivo colocar un adhesivo transparente para no alterar el aspecto de la restauración y asegure la durabilidad de la restauración.

Conclusiones

La importancia de tener una sonrisa agradable aumenta la belleza, es por eso que actualmente

Referencias

- 1 Rielson J. Alves Cardoso, Elenice A. Nogueira Goncalvez, Estética Odontológica Nueva Generación, Sao Paulo Brasil, Ed. Artes Médicas, 2003
- 2 Balarezo A, Taibe C., Sistema In-Ceram Y Sistema Procera, Diciembre Del 2006
- 3 Álvarez Fernández M. Ángeles, Peña-López J.M Et Al, Rcoe Características Generales Y Propiedades De Las Cerámicas Sin Metal, V.8 N.5 Madrid Set.- Oct. 2003
- 4 Fernández Bodereau E., Benosse L.M., Cabanillas G., Avances En Odontoestomalogia, “Restauraciones Estéticas De Porcelana Pura. Sistema Cercon “, Vol.27. No. 5 Madrid Set.- Oct. 2011
- 5 Vilarrubi A., Pebe P., Rodriguez A., Odontoestomalogia “Prótesis Fija Convencional Libre De Metal: Tecnología Cad Cam-Zirconia, Descripción De Un Caso Clínico”, Vol. 13 No. 18, Montevideo, Dic, 2011
- 6 Solano Villamar P., “Coronas In-Ceram: La Alternativa Del 2006” Revista Científica, Formula Odontológica, Publicación Oficial De La Asociación De Odontología Restauradora Y Biomateriales Núcleo Guayas, Vol. 5 No. 1/2007
- 7 Schmidserder J., Atlas Odontología Estética, Ed. Masson
- 8 Odontología Restauradora Y Estética, Adair Luiz Stefanello Busatato, Pedro A González Hernández, Ricardo Prates Macedo, Editorial Artes Médicas, Sao Paulo Brasil, 2009
- 9 Mondelli Aquira J., Ishikiriyama Et Al, Fundamentos De Odontología Restauradora, Editorial Livraria Santos, 2009
- 10 Stephen F. Rosenstiel, Martin F. Land, Junhes Fujimoto, Protesis Fija Contemporánea, Cuarta Edición, Elsevier, España, 2009
- 11 Pascal Magne, Urs Belser, Restauraciones De Porcelana Adherida En Los Dientes Anteriores Método Biomimético, Editorial Quintessence, S.L., Barcelona España, Traducción Al Castellano, 2004
- 12 Bertoldi Hepburn A., Porcelanas Dentales 2da Parte: Clasificación Según El Método De Elaboración De La Restauración, Raa Vol.Li – Num. 1- 2013.
- 13 Antonio Fons Font Et Al, Selección De La Cerámica A Utilizar En Tratamientos Mediante Frentes Laminados De Porcelana Medicina Oral, Patología Oral, Cirugía Bucal (Internet), Versión On-Line ISSN 1698- 6946, V. 11 N. 3 Madrid Mayo – Junio. 2006
- 14 Robles Aguilar O., Sistema Lava Y Procera Para La Elaboración De Prótesis Parcial Fija Unitaria Anterior, Investigación Bibliográfica, Tesis Universidad Autónoma Del Estado De México, Facultad De Odontología, Estado De México, México, Marzo 2012
- 15 García González J.Y, Iturbe Aldaraca K.I., Procedimientos Clínicos Y De Laboratorio Para Reparaciones En Restauraciones Estéticas: Zirconia, Investigación Científica, Tesis, Universidad Autónoma Del Estado De México, Facultad De Odontología, Estado De México, México ,Abril 2012.
- 16 Colin Maldonado N., Onofre Montañez M., Factores Que Condicionan El Desempeño de Resinas Nano Híbridas y Porcelanas Libres De Metal En La Rehabilitación De Piezas Tratadas Endodónticamente, Tesis, Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad De Odontología, Estado de México, México, Marzo 2008

Carga parasitaria de ovinos (*Ovis aries*) manejados en sistemas de producción estabulado y pastoreo en áreas irrigadas con aguas residuales

SÁNCHEZ-HERRERA, Susana*†, HERNÁNDEZ-BAUTISTA, Julio, NOGUEZ-ESTRADA, Juan y RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, Nellybeth

Recibido Enero 24, 2016; Aceptado Marzo 08, 2016

Resumen

El objetivo fue determinar la carga parasitaria en *Ovis aries*, mediante exámenes coprológicos, relacionando los sistemas de producción estabulado y pastoreo en áreas irrigadas con aguas residuales. Se tomaron muestras de heces fecales a 20 ovinos aleatoriamente en diferentes corrales, y se analizaron las muestras de heces fecales mediante el método de sedimentación para detectar huevecillos de parásitos hepáticos en ovinos y por Mc Master para determinar la cantidad de huevecillos de parásitos gastrointestinales. La carga parasitaria se determinó con la cantidad de huevecillos por gramo de heces. Los resultados mostraron que en los animales de sistemas de pastoreo existen cargas elevadas de parásitos gastrointestinales en comparación a de sistemas estabulados. Existe una alta correlación entre la carga parasitaria, la coloración de la conjuntiva y la condición corporal. En el análisis de *F. hepatica*, no se observaron huevecillos en ambos sistemas de producción. La técnica Mc Master se considera más confiable en comparación a la de sedimentación.

Ovinos, parásitos, sedimentación, Mc Master

Abstract

The objective was to determine the parasite load in *Ovis aries*, by dregs examinations relating feedlot production systems and grazing in irrigated areas with sewage. Dregs samples in 20 different randomly sheep were taken, and stool samples were analyzed by sedimentation methods to detect eggs of liver parasites in sheep and McMaster to determine the amount of eggs of gastrointestinal parasites. The parasite load was determined with the number of eggs per gram of dregs. The results showed that in animals grazing systems are high loads of gastrointestinal parasites compared to systems of stabled. There is a high correlation between parasite load, the coloration of the conjunctiva and body condition. In the analysis of *F. hepatica*, no eggs were observed in both production systems. McMaster technique is considered more reliable count of parasite eggs, compared to sedimentation.

Sheep, parasites, sedimentation, McMaster

Citación: SÁNCHEZ-HERRERA, Susana, HERNÁNDEZ-BAUTISTA, Julio, NOGUEZ-ESTRADA, Juan y RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, Nellybeth. Carga parasitaria de ovinos (*Ovis aries*) manejados en sistemas de producción estabulado y pastoreo en áreas irrigadas con aguas residuales. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-6: 19-23.

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: ssanchez@upfim.edu.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La parasitosis gastrointestinal es identificada como uno de los problemas sanitarios más importantes en los sistemas de producción ovina a nivel mundial, afectando la salud y bienestar de los animales manifestándose con diarreas, pérdidas de apetito, anemia leve a severa y mortandades (Mederos & Banchemo, 2013). Las enfermedades parasitarias requieren de una atenta consideración, debido a su influencia negativa en los resultados de producción. Aunque en la actualidad no se tienen datos precisos del valor económico de los daños por parasitosis, se acepta que las pérdidas oscilan entre un 10 y 15% (Delgado & Mera, 2011).

Los daños que pueden causar algunos parásitos tienen relación a la cantidad que hospeda el animal y el ritmo con el que llegan a su cuerpo. Algunos hospederos pueden soportar pequeñas cargas parasitarias sin presentar síntomas clínicos, ya que los mecanismos compensadores y reguladores del organismo pueden reparar la alteración. De lo contrario cargas elevadas o infecciones prolongadas durante mucho tiempo, pueden perturbar la salud del hospedero (Delgado & Mera, 2011).

Con gran capacidad de multiplicación y gran poder extractivo, causan elevados perjuicios al criador. Mientras que en la oveja pueden causar: falta de apetito, anemia, pérdida de peso, baja producción de lana y si no es tratada lleva a la muerte (Fundación Social de Holcim Colombia, 2011). En el municipio de Mixquiahuala de Juárez, la alimentación de los pequeños rumiantes se basa principalmente en el pastoreo en áreas irrigadas con aguas residuales, donde las condiciones son idóneas para la proliferación de los distintos parásitos, ocasionando pérdidas al afectar los rendimientos productivos.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar las cargas parasitarias en relación al sistema de manejo mediante el análisis con exámenes coprológicos, para el conteo de huevos de parásitos gastrointestinales y hepáticos. El área de estudio fue en la Colonia Veracruz, perteneciente al Municipio Mixquiahuala de Juárez, en el Estado de Hidalgo, en atención al “Programa Estatal de Asistencia Técnica y Capacitación Pecuaría a Ovinocultores”; y en las instalaciones del laboratorio 3 de Parasitología perteneciente a la Facultad de Estudios Superiores FES-Cuautitlán de la UNAM.

Metodología a desarrollar

Diagnóstico Inicial

Esta investigación se llevó a cabo en el Municipio de Mixquiahuala, en la localidad “Colonia Veracruz” ubicada a 2000 msnm, donde se evaluaron 20 ovinos en dos diferentes sistemas de producción: estabulado con alimentación basada en el uso de concentrados, forrajes secos (leguminosas, gramíneas), y en un sistema de pastoreo donde la principal fuente de alimento fueron los rastrojos y algunas pastos nativos que se encuentran dentro de la zona de residencia.

Técnicas coprológicas

Las muestras de las heces fueron tomadas directamente del recto de los ovinos para evitar posible contaminación con nematodos de vida libre. La extracción de heces se realizó por la mañana tomando de 5 a 10 g de muestra. Las muestras se almacenaron en bolsas de plástico con su respectiva identificación y fueron trasladadas en un termo al laboratorio de análisis de la FES Cuautitlán.

El número de muestras se obtuvo del 10% del total de animales asignados al azar, como se indica en el procedimiento recomendado por la Universidad de Murcia.

Técnica MC Master

Para el conteo de huevos de parásitos gastrointestinales, se empleó la técnica cuantitativa Mc Master utilizando como disolvente una solución salina sobresaturada (NaCl). En un recipiente Mc Master se colocaron 2 g de materia fecal y se disolvieron en solución salina sobresaturada mezclándose hasta lograr la homogenización de las muestras. Con esta solución se llenaron dos cámaras Mc Master evitando la presencia de burbujas (Figura 1). Estas cámaras se colocaron en el microscopio y se observaron con el objetivo 10X.

Para determinar los niveles de infestación por parásitos gastrointestinales por animal examinado se utilizó la fórmula propuesta por Botello, 2013.

Técnica de sedimentación

Para la identificación de *F. hepatica*, se utilizó el método de sedimentación ya que permite visualizar la concentración de los huevos en la materia fecal, éste fue observado en un microscopio estereoscópico.

Para esta técnica de sedimentación, se utilizó agua corriente como disolvente de las heces fecales, disolviendo 4 g de muestra de cada tratamiento en 500 ml (figura 2), con la finalidad de deshacer las partes más grandes de la misma. Las soluciones se dejaron en reposo durante 15 minutos hasta sedimentación, posteriormente se eliminó el agua y la materia orgánica que se encontraba flotando.

Se realizaron 5 diluciones con agua hasta lograr eliminar la mayoría de partículas de materia orgánica. El sobrante se colocó en cajas Petri de vidrio (Figura 3), y se le agregó 2 gotas de lugol, para teñir los huevecillos y lograr su identificación (Maco *et al.*, 2002). Se identificó la presencia de huevecillos de *F. hepatica* con ayuda de un microscopio estereoscópico. Para observar las muestras, se trazó una línea radial en la base de la caja Petri, observándose de forma circular. La identificación de huevecillos de *F. hepatica* se realizó cualitativamente, para determinar la presencia o ausencia del parásito. Se llevó a cabo la relación del promedio de Huevecillos en Materia Fecal (HPG) encontrado con la coloración conjuntiva ocular mediante el método de FAMACHA[®] (Salazar, 2009) así como la relación de HPG con la condición corporal de las ovejas (Manazza, 2006).

Resultados

Carga parasitaria

En la Tabla 1 se observa que la carga parasitaria fue mayor en las muestras que correspondieron a la población de animales manejados en sistemas de pastoreo con el uso de aguas residuales (90%). En la tabla 2, se muestra que la carga parasitaria se clasificó en los niveles moderados, leves y negativos (30%, respectivamente), solo en el 10% de las muestras se clasificaron con cargas elevadas. Esto evidencia que, el sistema de manejo influye en el grado de infestación y control de la parasitosis, viéndose más afectados los animales que son manejados en sistemas de pastoreo, ya que como se menciona en la literatura la mayoría de los parásitos cumplen parte de su ciclo biológico en el ambiente, alojándose en los forrajes ricos en nutrientes y con condiciones ambientales ideales, en donde los hospederos vuelven a ingerirlos.

En el sistema estabulado, el ciclo biológico de los parásitos se ve interrumpido, ya que los desechos son extraídos de los corrales y por el proceso de henificación de los forrajes.

Nivel de infección	N	%	HPG (promedio)
Negativo = 0	0	0	0
Leve 0 – 500	1	10	250
Moderado 500 – 1000	0	0	0
Alto >1000	9	90	18917

Tabla 1 Nivel de infestación de parásitos gastrointestinales en ovinos manejados en pastoreo

Nivel de infección	N	%	HPG (promedio)
Negativo = 0	3	30	0
Leve 0 – 500	3	30	350
Moderado 500 – 1000	3	30	760
Alto >1000	1	10	6850

Tabla 2 Nivel de infestación por parásitos gastrointestinales en ovinos manejados en un sistema estabulado

Coloración de la conjuntiva ocular y el promedio de HPG

El color de la conjuntiva, está relacionado con la presencia de parásitos, siendo el color rojo un indicador de baja carga de parásitos, en contraste con el color blanco que se relacionó con un alto grado de infestación para ambos sistemas de producción.

Así la tabla 3 muestra aquellos animales sometidos al sistema de pastoreo, en el cual el menor número de HPG corresponde a aquellos animales que poseen conjuntiva rosa y el mayor número de HPG corresponde a los ovinos con una conjuntiva de color blanco; así mismo la tabla 4 hace referencia a lo mencionado anteriormente sin embargo cabe resaltar que el número de HPG en animales en el sistema estabulado es mucho menor en comparación a aquellos que presentan el sistema de pastoreo.

Color conjuntiva	N	HPG (promedio)
Rojo	1	250
Rojo-Rosado	1	4150
Rosado	3	4900
Blanco-Rosado	2	8275
Blanco	3	44950

Tabla 3 Relación entre el color de la conjuntiva ocular y el promedio de HPG de parásitos gastrointestinales en ovinos con un sistema de pastoreo

Color conjuntiva	N	HPG (promedio)
Rojo	4	28
Rojo-Rosado	1	0
Rosado	3	583
Blanco-Rosado	1	700
Blanco	1	6850

Tabla 4 Relación entre el color de la conjuntiva ocular y el promedio de HPG de parásitos gastrointestinales en ovinos con sistema estabulado

Condición corporal y el promedio de HPG

La carga parasitaria está relacionada con la condición corporal, así la tabla 5 muestra que para los animales sometidos al sistema de pastoreo presentaban en general una baja condición corporal, además de que el mayor número de HPG los presentaban los animales más delgados.

Condición corporal	N	HPG (promedio)
Muy Obeso	0	0
Obeso	0	0
Normal	4	11888
Delgado	3	25817
Muy Delgado	3	15167

Tabla 4 Relación entre la condición corporal y el promedio de HPG de parásitos gastrointestinales en ovinos con un sistema de pastoreo

Para el caso de los ovinos sometidos a un sistema estabulado aquellos animales con el menor número de HPG presentaron en general una buena condición corporal, tal como lo muestra la tabla 6.

Condición corporal	N	HPG (promedio)
Muy Obeso	1	0
Obeso	5	362
Normal	3	250
Delgado	1	6850
Muy Delgado	0	0

Tabla 5 Relación entre la condición corporal y el promedio de HPG de parásitos gastrointestinales en ovinos con un sistema estabulado

Es importante mencionar que los productores de la región emplean programas de aplicación antihelmíntica, sin embargo en muchas ocasiones existe resistencia natural a parásitos gastroentéricos a productos desparasitantes (Herd *et al.*, 1984; Campos *et al.*, 1990).

Agradecimientos

El equipo de trabajo agradece al laboratorio de análisis de la FES Cuautitlán por las facilidades para realizar la presente investigación.

Conclusiones

Los ovinos manejados en un sistema de pastoreo con el uso de aguas residuales son más afectados por parásitos gastrointestinales en comparación a los alimentados en sistemas estabulados.

La época de muestreo, la cantidad de muestra y el ciclo biológico del parásito, son limitantes para determinar la existencia de huevecillos, además de que existe relación entre la carga parasitaria, la coloración conjuntiva ocular y la condición corporal.

Por lo tanto la coloración conjuntiva ocular y la condición corporal, se pueden usar como indicadores de la existencia de parásitos.

Referencias

- Botello, M. J. E., 2013. Manual de Prácticas de Parasitología, Estado de México: UAEM.
- Campos R., R., D. Herrera R., H. Quiróz R., y S. Olazarán J. 1990. Resistencia de *Haemonchus contortus* a bencimidazoles en ovinos de México. *Téc. Pec. Méx.* 28: 30-34.
- Delgado, A. F. M. & Mera, J. K. Q. 2011. Determinación de la carga parasitaria en tres especies zootécnicas y su relación con las condiciones climáticas, Sangolquí, Ecuador: S.N.
- Fundación Social de Holcim Colombia, 2011. Guía Práctica para pequeños productores ovinos, Colombia: ASOPROVINOS.
- Herd, R.P.; Parker C. and McClure K. 1984. Epidemiologic approach to the control of sheep nematodes. *J. Am. Vet. Assoc.* 184:680-687
- Maco, V.; Marcos, L.; Terashima, A.; Samalvides, F.; Miranda, E.; Espinoza, J.; Gotuzzo, E., 2002. Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepatica*. *Rev. Med. Hered.* 13(2): 49- 57.
- Manazza, M. J. 2006. Condición Corporal en Ovinos, S.L.: INTA.
- Mederos, A., y Banchemo, G. 2013. Parasitosis gastrointestinales de ovinos y bovinos: situación actual y avances de la investigación. *Revista INIA*, 34, 1-6.
- Salazar, E.J. 2009. El método FAMACHA: Para el diagnóstico de las anemias producidas por *Haemonchus contortus* en cabras y ovejas. *ECAG-Infoma.* 48:42-43.

La mezcla anestésica Ketamina-Xilacina afecta la función ovárica e incide en el ciclo estral de la rata

MORÁN, José Luis^{1*}†, HANDAL, Anabella¹, DÍAZ, Alfonso² y PAVÓN, Selyna³

¹Departamento de Biología y Toxicología de la Reproducción, Instituto de Ciencias

²Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

³Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Realística de México.

Recibido Enero 18, 2016; Aceptado Febrero 29, 2016

Resumen

Se estudiaron los efectos de la mezcla del anestésico-sedante Ketamina-Xilacina (K+X) para analizar sus efectos sobre la ovulación espontánea (OE) y el ciclo estral (CE) en ratas hembra adultas de la cepa CII-ZV intactas y con CE regular de cuatro días (animales cíclicos: AC). A las 13:00 del proestro, un grupo de AC recibieron la dosis de K+X recomendada por la Universidad de Cornell para su uso en animales de laboratorio y se evaluaron sus efectos sobre la OE en la mañana del estro esperado. Otro grupo de AC recibieron media dosis de la misma mezcla K+X. Los efectos sedantes fueron 100% efectivos en todos los animales tratados; sin embargo, la dosis recomendada bloqueó la OE en todos los animales de este grupo pero la dosis media no la afectó (0/5 vs. 5/5, $p < 0.01$; prueba de probabilidad exacta de Fisher). Los resultados indican que la dosis de K+X recomendada por la Universidad de Cornell altera mecanismos neuroendocrinos y endocrinos que conducen a la OE, al afectar las señales neurales que llevan a la descarga preovulatoria de gonadotropinas y la secreción de estrógenos necesarios para su efecto *feedback positivo* al nivel central y regular la secreción de la GnRH.

Ketamina-Xilacina, Ciclo Estral, Ovulación Espontánea, Secreción de Gonadotropinas, Rata Hembra

Abstract

We studied the effects of mixture sedative-anesthetic Ketamine-Xilacine (K+X) to analyze its effects on spontaneous ovulation (SO) and the estrus cycle (EC) in intact CII-ZV female adult rats with regular EC-fourth days (cyclic animals: CA). At 13:00h in the proestrous day, a CA group was treated with Cornell's University recommended dosage of K+X and estimated its effects on SO in the morning of expected estrus day. Equally, other CA group was treated with half dosage of same K+X mixture. The sedative effects were effective at 100% in all treated animals; however, recommended dosage of K+X blocks SO in this experimental group but not in the group treated with half dosage (0/5 vs. 5/5, $p < 0.01$; Fisher's exact probability test). These results indicate that the mixture K+X of Cornell's University recommended dosage modifies the neuroendocrine and endocrine mechanisms lead ovulation, by disrupts the neural signs that lead to gonadotrophins preovulatory surge and estrogen secretion need for *positive feedback* into central regulatory circuits of GnRH hypothalamic secretion.

Ketamine-Xilacine, Estral Cycle, Spontaneous Ovulation, Gonadotrophin Secretion, Female Rat

Citación: MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso y PAVÓN, Selyna. La mezcla anestésica Ketamina-Xilacina afecta la función ovárica e incide en el ciclo estral de la rata. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-6: 24-36.

*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: moranperales@yahoo.com.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La pérdida de la sensibilidad dolorosa inducida por la utilización de fármacos anestésicos se denomina *anestesia* y es utilizada durante la realización de técnicas quirúrgicas que implican la remoción o abordaje de determinados tejidos corporales en los animales (Fish et al, 2008; Kohn et al, 1997; Vives et al, 1997). Existen anestésicos con diferentes potencias depresoras de la función nerviosa, pero invariablemente se utilizan para bloquear las señales dolorosas mediadas por los nervios que alcanzan los diferentes órganos y tejidos (López-Timoneda & Gasco, 2008; Marshall & Longnecker, 2010). En la actualidad, existen normas nacionales e internacionales que se recomiendan para los tratamientos quirúrgicos en animales de experimentación (roedores, lagomorfos, perros, gatos, porcinos y primates no-humanos), todas ellas aplicables bajo estrictos códigos de bioética y bienestar animal (NOM-062-ZOO-1999). Sin embargo, muchos estudios experimentales presentan un verdadero dilema entre lo bioético y la necesidad del avance en el conocimiento científico.

El presente trabajo aborda el estudio de una de las funciones reproductivas más esenciales como es la ovulación espontánea en la rata adulta ¿Cómo analizar un fenómeno crucial y estudiar sus mecanismos básicos si para estudiar la función de un órgano corporal se requiere de la aplicación de una técnica quirúrgica que causa lesión y dolor? Dado que todas las funciones del sistema endocrino requieren como mediador al sistema nervioso (Guyton & Hall, 2006), el estudio de la fisiología reproductiva de la hembra está forzosamente relacionada con la función neuroendocrina del hipotálamo como mediador de la descarga preovulatoria de las gonadotropinas, mismas que al actuar sobre las gónadas inducen el desarrollo folicular y la ovulación (Freeman, 2006; Guyton & Hall, 2006).

Por otra parte, existen numerosas pruebas experimentales que postulan que las funciones principales de los ovarios (la secreción de esteroides sexuales y la liberación de gametos viables) son moduladas por las señales nerviosas sensoriales y autonómicas que ingresan a la glándula por ramas nerviosas provenientes de diversos ganglios y plexos del Sistema Nervioso Periférico (Burden, 1985; Dissen et al, 1993; Lawrence & Burden; 1980; Mayerhofer et al, 1997; Strauss & Williams, 2009).

Las señales nerviosas en el control de las funciones endócrinas del ovario juegan un papel crítico y por tanto, el empleo de un anestésico acarrea el riesgo potencial de afectar indirectamente la secreción de gonadotropinas y así, la función ovárica ¿Qué hacer para estudiar el papel de estas señales nerviosas que inervan a los ovarios y que afectan su funcionamiento si tenemos que confrontar el compromiso ético del buen y mejor trato hacia nuestros animales de experimentación e infringir en ellos el menor dolor posible?

Existen evidencias claras que el efecto de anestésicos inyectables comunes como el pentobarbital sódico aplicado en la tarde del proestro, es capaz de bloquear la ovulación en la mañana del estro al inhibir la descarga hipotalámica de la GnRH y con ello suprimir el pico preovulatorio de las gonadotropinas que precede a la ovulación (Domínguez & Smith, 1974).

Por lo anterior, se decidió analizar hasta donde un anestésico no inhalable convencional puede ser utilizado en ratas adultas sabiendo que produzca alteraciones endocrinas, neuroendocrinas y/o neurales mínimas que no afecten los parámetros reproductivos fundamentales como son la secreción de gonadotropinas, la duración del ciclo estral y sobretodo, la ovulación espontánea en la rata de laboratorio.

En el presente estudio se buscó la dosis efectiva para inducir una anestesia y analgesia profunda que no afectara de modo crítico la ovulación espontánea en la rata adulta. Para ello, se probó un anestésico no inhalable como la mezcla de *Ketamina-Xilacina* que indujera una sedación profunda pero de duración no prolongada, en la dosis recomendada por la *Cornell University* (Gourdon J. CARE 101.01: Rodent Anesthesia, *Cornell University*, 2006) para realizar cirugías invasivas en roedores (Mason, 1997) y comparar este tiempo de sedación con el uso de la mitad de la dosis de la misma mezcla que no afecte la ovulación espontánea en ratas adultas.

Materiales y Métodos

Se utilizaron ratas hembra adultas de la cepa CII-ZV, con pesos corporales entre los 200 y 250 g y mantenidas en condiciones de iluminación controlada (14h Luz/ 10h Oscuridad; luces de las 05:00 a las 19:00 h) y libre acceso al agua y al alimento balanceado.

En todos los animales se realizaron frotis vaginales diariamente entre las 08:00 y 10:00 h, con el fin de detectar ratas con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración: estro, diestro-1, diestro-2 y proestro para asignarlos a los diferentes experimentos.

Preparación del anestésico. Para preparar 10 ml de una mezcla de anestésico se utilizaron 3.75 ml de *Ketamina* (100 mg/ml), 0.5 ml de *Xilacina* (100mg/ml) y 5.75 ml de solución salina (NaCl 0.9%).

Los animales de los diferentes grupos experimentales recibieron una dosis con 0.2 ml de la mezcla o la mitad de la dosis con 0.1 ml de la misma mezcla por cada 100 gramos de peso corporal vía intraperitoneal (i.p.).

Experimento 1. Evaluación de los efectos de la dosis recomendada de la mezcla de anestésico/sedante *Ketamina-Xilacina* sobre la duración del ciclo estral y la ovulación espontánea en ratas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración. Luego de tres ciclos estrales consecutivos de cuatro días de duración, grupos de ocho animales con frotis vaginal característico del estro, diestro-1, diestro-2 o proestro recibieron una única dosis completa de anestésico *Ketamina-Xilacina* (0.2 ml/100 gramos de p.c.; i.p) a las 13:00 h. Se registró el tiempo del efecto (latencia de inmovilidad) del anestésico hasta que el animal comenzó a moverse nuevamente.

Al día siguiente del tratamiento con la mezcla *Ketamina-Xilacina* se reanudó la toma de los frotis vaginales y cada grupo fue dividido en: 1) animales a los que se les aplicó eutanasia en la mañana del estro esperado o 2) animales a los que se les aplicó eutanasia hasta la mañana del siguiente estro vaginal observado. En este último grupo se analizó la duración del ciclo estral como estimador de la alteración en la secreción de gonadotropinas.

Experimento 2. Evaluación de los efectos de la mitad de la dosis de la mezcla de anestésico/sedante *Ketamina-Xilacina* sobre la duración del ciclo estral y la ovulación espontánea en ratas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración. Luego de tres ciclos estrales consecutivos de cuatro días de duración, otros grupos de ocho animales con frotis vaginal característico del estro, diestro-1, diestro-2 o proestro recibieron la mitad de la dosis del anestésico/sedante de *Ketamina-Xilacina* (0.1 ml/100 gramos de p.c.; i.p) a las 13:00 h. Se registró el tiempo del efecto (latencia de inmovilidad) del anestésico hasta que el animal comenzó a moverse nuevamente.

Al día siguiente del tratamiento con la mezcla Ketamina-Xilacina se reanudó la toma de los frotis vaginales y cada grupo fue dividido en: 1) animales a los que se les aplicó eutanasia en la mañana del estro esperado o 2) animales a los que se les aplicó eutanasia hasta la mañana del siguiente estro vaginal observado. En este último grupo se analizó la duración del ciclo estral como estimador de la alteración en la secreción de gonadotropinas.

Experimento 3. Reemplazo hormonal de las señales hipotalámica, adenohipofisiaria u ovárica sobre la capacidad ovulatoria inducida en los animales tratados con la combinación de anestésico/sedante Ketamina-Xilacina.

Luego de tres ciclos estrales consecutivos de cuatro días de duración, otros animales con frotis vaginal característico del estro, diestro-1, diestro-2 o proestro que recibieron tratamiento con la dosis única de anestésico Ketamina-Xilacina a las 13:00 h. y presentaron signos de alteración en la duración del ciclo estral, fueron tomados como modelo para la realización del reemplazo hormonal.

Con base en los resultados de los Experimentos 1 o 2, tres grupos de cuatro animales con tratamiento de la dosis única de anestésico Ketamina – Xilacina a las 13:00 h recibieron una hora después (14:00 h.) el reemplazo hormonal de las señales hipotalámicas, adenohipofisiarias u ováricas, sobre la respuesta ovulatoria inducida:

Grupo I.- Tratamiento con GnRH [3.7 µg/ Kg, i.m]

Grupo II.- Tratamiento con hCG [5 ui, i.m.]

Grupo III.- Tratamiento con BE [BE; 10 µg i.m.]

Al día siguiente del tratamiento con la mezcla Ketamina-Xilacina más el reemplazo hormonal se reanudó la toma de los frotis vaginales y cada grupo fue dividido en: 1) animales a los que se les aplicó eutanasia en la mañana del estro esperado (animales que recibieron tratamiento con GnRH, hCG) o 2) animales a los que se les aplicó eutanasia la mañana del siguiente diestro-1 esperado (BE).

Eutanasia y Autopsia. Todos los animales fueron sacrificados por medio de una sobredosis con pentobarbital sódico (80mg/kg de peso; i.p.). A la autopsia se disecaron los oviductos, ovarios y útero; los oviductos fueron inspeccionados bajo estereomicroscopio en busca de los signos de ovulación (ovocitos liberados, en cuyo caso fueron contados). Los ovarios y el útero fueron pesados en balanza analítica con precisión de 0.1mg e inmediatamente colocados en solución de Böuin durante 24 horas para su posterior análisis histológico.

Análisis Histológico de los Ovarios. Todos los ovarios disecados de los animales fueron procesados para su inclusión en bloques de parafina y un análisis morfo-histológico que comprendió seis etapas (Luna, 1975):

1.-Fijación. Los ovarios fueron colocados en solución de Böuin por un periodo no mayor de 24 horas. Después los órganos se cambiaron a alcohol 70% por tiempo indefinido hasta la siguiente etapa.

2.-Deshidratación. La deshidratación se inició con el cambio de alcohol 70% a dos cambios consecutivos en alcohol 96% de una hora cada uno, seguidos de dos cambios en alcohol absoluto de una hora cada uno.

3.-Aclaramiento. Seguido de la deshidratación y con el fin de eliminar las trazas de alcohol, los órganos se colocaron en un primer cambio de cloroformo puro durante un periodo de 2 a 24 horas, al cabo de las cuales los ovarios fueron colocados en cloroformo puro durante un periodo de 2 horas.

4.-Inclusión en Parafina. En un horno de inclusión ajustado a 56-57°C, los ovarios fueron colocados en recipientes con parafina fundida durante un tiempo máximo de dos horas. Al cabo de este tiempo, cada órgano fue depositado en un bloque de parafina pre-solidificada. Cada bloque se dejó enfriar a temperatura ambiente por un periodo no menor de 24 horas.

5.- Corte Seriado. Utilizando un micrótomo de rotación RM-2125RT (LEICA Inc., USA), los bloques fueron cortados en serie a 10 µm de grosor y extendidos en baño de flotación a 45°C. Los cortes se colocaron en portaobjetos gelatinizados (Solución de gelatina para inclusión 3%) y numerados. Los cortes se dejaron secar a temperatura ambiente en una cámara hermética de vapores de formol 37% durante 24 horas.

6.-Tinción y Montaje de los Cortes Histológicos. Los cortes fueron teñidos con la técnica de hematoxilina–eosina (Luna, 1975) y montados en resina sintética.

Los portaobjetos numerados permanecieron en una superficie plana dejándose secar a temperatura ambiente durante una semana. Al cabo de este periodo de secado, a cada portaobjetos se le eliminan los residuos de resina con un paño de algodón embebido con xilol.

Análisis de la Población Folicular del Ovario. Para el análisis de la población folicular se eligieron al azar los ovarios de tres animales de cada grupo experimental.

Se contó el número total de folículos con núcleo y nucleolo del ovocito bien definidos y que presentaran al menos dos capas de células de la granulosa en cada folículo. De estos, se registró la presencia o ausencia de antro.

Asimismo, en todos los folículos se registró la presencia o ausencia de los signos propios de atresia. De acuerdo a los criterios establecidos por Hsueh y colaboradores (1994), se consideró como folículo atrésico aquél que presentó una o más de las siguientes características:

- Presencia de tejido conjuntivo vascularizado.
- Localización excéntrica del núcleo del ovocito
- Granulación del núcleo y nucleolo del ovocito.
- Desprendimiento de las células de la granulosa en el antro.
- Engrosamiento (hipertrofia) de las capas de la teca.
- Teca interna separada de la membrana basal.
- Picnosis nuclear de las células de la granulosa.

Conteo de Cuerpos Lúteos Frescos. Con el fin de confirmar el número de ovocitos liberados en el día del sacrificio, se contó el número de cuerpos lúteos frescos en los ovarios de los animales. Las características que se tomaron en cuenta para considerar un cuerpo lúteo fresco fueron las siguientes:

- Extravasación central de sangre en el cuerpo lúteo.
- Presencia de cavidades rellenas de sangre.

- Presencia de poblaciones celulares heterogéneas: las células de la granulosa luteinizadas tienen formas poligonales, de aspecto pálido y pueden ser grandes ó chicas con núcleo y citoplasma bien definidos. Las células luteinizadas de la teca son más pequeñas que las del folículo.
- Tamaño del cuerpo lúteo fresco aproximadamente de tamaño similar a un folículo preovulatorio.

Análisis Estadístico. Los datos de número de ovocitos liberados, cuerpos lúteos y de los días de duración del ciclo estral fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguido por la prueba de Dunn o con la U de Mann-Whitney para comparar pares de medias. Los pesos relativos de los ovarios y del útero se analizaron por Análisis de Varianza Múltiple, seguido de la prueba de Tukey-Kramer. Las tasas de animales ovulantes, de estro vaginal, de diestro vaginal y de útero distendido serán analizadas por la prueba de Probabilidad Exacta de Fisher. En todos los casos, se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad sea igual o menor del 5 %.

Resultados

Independientemente de la dosis de anestésico sedante utilizada en los grupos experimentales, se observó diferencia en el efecto sedante, estimado como por el lapso en que el animal está absolutamente inmóvil y en posición decúbito lateral hasta que cambió a la posición decúbito dorsal, entre los grupos de animales tratado con la mezcla de anestésico-sedante Ketamina-Xilacina a las 13:00h del día del Proestro y que recibieron la dosis completa o media dosis (Dosis Completa: 209±5 minutos vs. Dosis Media: 165±3 minutos; $p < 0.01$, U de Mann-Whitney).

Experimento 1. Evaluación de los efectos de la dosis recomendada de la combinación de anestésico/sedante Ketamina-Xilacina sobre la duración del ciclo estral y la ovulación espontánea en ratas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración.

La administración de la dosis combinada de Ketamina-Xilacina recomendada por la Universidad de Cornell que se suministró a cada animal de este experimento equivalen a 75 µg de Ketamina + 10 µg de Xilacina por cada 100 g de peso corporal, vía intraperitoneal (i.p.). Aparentemente, la administración de Ketamina pura (75µg/100 g peso corporal, i.m.) a las 13:00h del día del proestro en un grupo de animales cíclicos intactos no afectó la ovulación en la mañana siguiente (4/4) pero indujo la presencia de útero distendido en todos los casos (4/4).

En cambio, la administración de Xilacina pura (10µg/100 g peso corporal, i.m.) a las 13:00h del día del proestro inhibió relativamente la ovulación a la mañana siguiente (1/4) y presencia de útero distendido en todos los casos (4/4) (Tabla 1).

Con base en la apariencia del frotis vaginal en la mañana del sacrificio y en comparación con el grupo de animales intactos, la dosis recomendada de Ketamina-Xilacina (dosis completa) afectó significativamente la duración del ciclo estral (estimada por la presencia del estro vaginal) en el grupo de animales tratados a las 13:00 h del día del Diestro-1, sin afectar la presencia del estro vaginal en los animales tratados en los otros días del ciclo (Tabla 2).

Grupo	TAO	Ovocitos del Lado Izquierdo	Ovocitos del Lado Derecho	Total de Ovocitos Liberados	TUD
Control Absoluto	26/26	6.3 ± 0.3	5.4 ± 0.2	11.7 ± 0.3	4/26
Ketamina	4/4	6.6 ± 0.6	7.0 ± 0.6	13.6 ± 0.9	4/4 *
Xilacina	1/4 *	0	6	6	4/4 *

* p<0.001 comparado con el Control Absoluto (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher).

Tabla 1 Tasas de animales ovulantes (TAO), de estro vaginal (TEV) y de útero distendido (TUD) que presentaron las ratas adultas con ciclo estral regular de cuatro días (estro, diestro-1, diestro-2 y proestro) al momento del sacrificio y media±e.e.m. del número de ovocitos liberados por los animales a los que se les administró la dosis recomendada de la mezcla de anestésico Xilacina y el sedante Ketamina (10 µg de Xilacina + 75 µg de Ketamina /100 g peso; i.p) a las 13:00 h en diferentes días del ciclo estral. Todos los animales se sacrificaron en la mañana del estro esperado luego del tratamiento con la mezcla Ketamina-Xilacina

Grupo	TEV	TAO	Ovocitos del Lado Izquierdo	Ovocitos del Lado Derecho	Total de Ovocitos Liberados	TUD
Control Absoluto	26/26	26/26	6.3 ± 0.3	5.4 ± 0.2	11.7 ± 0.3	4/26
Estro	5/5	5/5	7.0 ± 0.7	5.6 ± 1.6	12.6 ± 2.0	3/5
Diestro-1	2/5**	2/5**	7.5 ± 0.5	6.0 ± 0.0	13.5 ± 0.5	5/5 *
Diestro-2	4/4	0/4 *	0	0	0	4/4 *
Proestro	5/5	0/5 *	0	0	0	4/5 *

* p<0.003 comparado con el Control Absoluto y el grupo tratado en el Día del Estro (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher); **p<0.003 comparado con el Control Absoluto (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher).

Tabla 2 Tasas de animales ovulantes (TAO), de estro vaginal (TEV) y de útero distendido (TUD) que presentaron las ratas adultas con ciclo estral regular de cuatro días (estro, diestro-1, diestro-2 y proestro) al momento del sacrificio y media±e.e.m. del número de ovocitos liberados por los animales a los que se les administró la dosis recomendada de la mezcla de anestésico Xilacina y el sedante Ketamina (10 µg de Xilacina + 75 µg de Ketamina /100 g peso; i.p) a las 13:00 h en diferentes días del ciclo estral. Todos los animales se sacrificaron en la mañana del estro esperado luego del tratamiento con la mezcla Ketamina-Xilacina

El signo de la aparente ausencia del estro vaginal en el grupo tratado en el día del Diestro-1 es significativamente menor comparada con los grupos tratados con la dosis completa de Ketamina-Xilacina a las 13:00 h de los otros días del ciclo (Diestro-1: 2/5 vs. Otros Días: 14/14; p<0.01 Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher). De los cuatro grupos experimentales, solo los animales tratados con la dosis completa de Ketamina-Xilacina a las 13:00h del día del Estro ovularon en la mañana del estro esperado y liberaron una cuota normal de ovocitos comprado con el grupo control.

Se observó una caída significativa en la tasa de animales ovulantes en el grupo tratado con la mezcla de anestésico/sedante a las 13:00 h del Diestro-1, sin cambios en el número de ovocitos liberados respecto al grupo de animales intactos. Sin embargo, en los grupos de animales tratados a las 13:00 h del día del Diestro-2 o Proestro se observó la ausencia absoluta de ovulación en la mañana del estro esperado aunque el 100% de los animales presentó el signo de estro vaginal (Tabla 2).

En los diferentes grupos tratados con la dosis completa de la mezcla de anestésico/sedante se observó una notable presencia del signo de útero distendido (Ketamina-Xilacina: 16/19 vs. Control Absoluto: 4/26, p>0.0001; Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher). Sin embargo, este signo es significativamente mayor solo en los grupos tratados en los días del Diestro-1, Diestro-2 y Proestro, respecto al grupo de animales tratados con Ketamina-Xilacina en el día del Estro (Estro: 3/5 vs. Otros Días: 13/14, p<0.04; Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher) (Tabla 2).

El análisis histológico de los ovarios de los animales que recibieron la dosis completa de la mezcla Ketamina-Xilacina en el grupo tratado en la tarde del proestro y sacrificado en la mañana siguiente (estro esperado), mostró un gran número de folículos grandes con apreciables signos de atresia, presencia de folículos pequeños sin antro y una población de cuerpos lúteos viejos.

Experimento 2. Evaluación de los efectos de la mitad de la dosis de la mezcla de anestésico/sedante Ketamina-Xilacina sobre la duración del ciclo estral y la ovulación espontánea en ratas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración.

La administración de la mitad de la dosis recomendada por la Cornell University de la mezcla Ketamina-Xilacina que se suministró a cada animal del presente experimento equivalen a 37.5 µg de Ketamina + 5 µg de Xilacina por cada 100 g de peso corporal, vía intraperitoneal (i.p.). Con excepción del grupo de animales tratados a las 13:00 h del Diestro-1, la mitad de la dosis de la mezcla de sedantes/anestésicos Ketamina-Xilacina no afectó la duración del ciclo estral ni la ovulación espontánea en los grupos tratados en el día del Estro, Diestro-2 o del Proestro, pese a que el 100% de los animales de este último grupo presentó el signo de distención uterina.

Al igual que en el Experimento No. 1, el tratamiento con la mezcla del sedante/anestésico a las 13:00 h del Diestro-1 indujo una caída significativa en la tasa de animales ovulantes (Tabla 3).

El número de ovocitos liberados en el grupo de animales tratados con la mitad de la dosis recomendada de Ketamina-Xilacina a las 13:00 h del día del Proestro fue relativamente mayor respecto al grupo de animales intactos, acompañado de la presencia de útero distendido en el 100% de los animales (Tabla 3).

El análisis histológico de los ovarios de los animales que recibieron la dosis media de la mezcla Ketamina-Xilacina en el grupo tratado en la tarde del proestro y sacrificado en la mañana siguiente (estro esperado), se observaron claros signos de ovulación revelado por la presencia de cuerpos lúteos frescos, acompañados de una población heterogénea de folículos medianos y pequeños.

Grupo	TEV	TAO	Ovocitos del Lado Izquierdo	Ovocitos del Lado Derecho	Total de Ovocitos	TUD
Control Absoluto	26/26	26/26	6.3 ± 0.3	5.4 ± 0.2	11.7 ± 0.3	4/26
Estro	10/11	9/11	6.7 ± 0.8	7.0 ± 0.7	13.7 ± 0.5	2/11
Diestro-1	6/9*	4/9*	7.2 ± 1.1	6.2 ± 0.2	13.5 ± 1.3	4/9
Diestro-2	7/8	7/8	6.7 ± 0.6	6.0 ± 0.7	12.7 ± 0.5	1/8
Proestro	5/5	5/5	7.4 ± 0.7	6.2 ± 0.4	13.6 ± 0.5**	5/5*

* p<0.05 comparado con el Control Absoluto y el grupo tratado en el Día del Estro (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher); **p<0.0001 comparado con el Control Absoluto (U de Mann-Whitney).

Tabla 3 Tasas de animales ovulantes (TAO), de estro vaginal (TEV) y de útero distendido (TUD) que presentaron las ratas adultas con ciclo estral regular de cuatro días (estro, diestro-1, diestro-2 y proestro) al momento del sacrificio y media±e.e.m. del número de ovocitos liberados por los animales a los que se les administró la dosis media de la mezcla de anestésico Xilacina y el sedante Ketamina (5µg de Xilacina + 37.5 µg de Ketamina /100 g peso; i.p) a las 13:00 h en diferentes días del ciclo estral. Todos los animales se sacrificaron en la mañana del estro esperado luego del tratamiento con la mezcla Ketamina-Xilacina

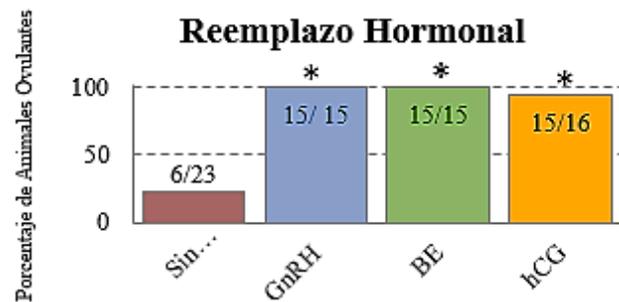


Gráfico 1 Efecto del reemplazo hormonal sobre el porcentaje de ovulación en los animales tratados con la dosis completa de la mezcla de anestésico Xilacina y el sedante Ketamina (i.p) a las 13:00 h del proestro vaginal. Una hora después (14:00 h), grupos de animales fueron tratados con: 1) GnRH [3.7 µg/ Kg, i.m], 2) benzoato de estradiol [BE; 10 µg i.m.], 3) hCG [5 ui, i.m.]. En los grupos tratados con GnRH o hCG, la autopsia se realizó entre las 09:00 y 10:00h del día del estro esperado; en cambio en los grupos tratados con BE, la autopsia se realizó entre las 09:00 y 10:00h en la mañana del diestro-1 esperado (* p<0.001 comparado con el grupo sin tratamiento hormonal; prueba de Probabilidad Exacta de Fisher)

Grupo	Reemplazo Hormonal Con:	TAO	Ovocitos del Lado Izquierdo	Ovocitos del Lado Derecho	Total de Ovocitos Liberados	TUD
Diestro-1 DM	GnRH	4/4	7.0±0.7	7.0±0.2	14.0±1.2	4/4
Diestro-1 DC	GnRH	4/4	6.7±1.0	7.5±0.3	14.2±0.7	4/4
Diestro-2 DC	GnRH	4/4	5.7±1.3	8.7±0.6	14.4±1.3	4/4
Proestro DC	GnRH	3/3	7.0±1.5	4.6±0.3	11.6±1.4	1/3
Diestro-1 DM	hCG	4/4	5.2±1.4	5.7±1.2	10.9±2.0	4/4
Diestro-1 DC	hCG	4/4	4.3±1.9	7.8±1.9	12.1±1.3	4/4
Diestro-2 DC	hCG	4/4	5.8±0.9	5.0±0.8	10.8±1.3	4/4
Proestro DC	hCG	3/4	4.7±0.3	6.3±0.3	11.0±0.6	0/4*
Diestro-1 DM	BE	4/4	5.2±0.8	3.7±0.2	8.9±0.8	4/4
Diestro-1 DC	BE	4/4	5.7±1.2	4.0±0.6	9.7±0.9	4/4
Diestro-2 DC	BE	4/4	6.2±0.5	6.2±0.5	12.4±0.3	4/4
Proestro DC	BE	3/3	4.0±1.1	4.0±0.6	8.0±1.7	0/3*

* $p < 0.03$ comparado contra los grupos tratados en Diestro-1 y Diestro-2 (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher)

Tabla 4 Tasas de animales ovulantes (TAO) y de útero distendido (TUD) y media±e.e.m. del número de ovocitos liberados por los animales a los que se les administró la dosis media (DM) a las 13:00 h del Diestro-1 y la dosis completa (DC) a las 13:00 h del Diestro-1, Diestro-2 o Proestro de la mezcla de anestésico/sedante Xilacina-Ketamina (i.p) seguido del reemplazo hormonal con GnRH (3.7 µg/kg de peso corporal; i.m.), hCG (5 ui; i.m.) o BE (Benzoato de Estradiol; 10µg/animal; i.m.). Todos los animales se sacrificaron en la mañana del estro esperado luego del tratamiento con la mezcla Ketamina-Xilacina y el reemplazo hormonal

Experimento 3. Evaluación de los efectos del reemplazo hormonal de las señales hipotalámica, adenohipofisiaria u ovárica sobre la capacidad ovulatoria inducida en los animales tratados con la mezcla de anestésico/sedante Ketamina-Xilacina.

El reemplazo de las señales hipotalámica, adenohipofisiaria u ovárica restableció la ovulación en prácticamente todos los grupos que presentaron fallas en la ovulación por el tratamiento con la mezcla de anestésico/sedante Ketamina-Xilacina (Con Reemplazo Hormonal: 45/46 vs. Sin Reemplazo Hormonal: 6/23; $p < 0.0001$, Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher) (Gráfico 1; Tabla 4).

La frecuencia de útero distendido entre los grupos con reemplazo hormonal fue significativamente baja en los animales tratados en la tarde del proestro (Diestro-1 + Diestro-2: 36/36 vs. Proestro: 1/10, 0.001; Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher).

Discusión

Los resultados del presente estudio muestran claramente que la interrupción de las señales nerviosas inducida por la administración de la dosis recomendada por la Universidad de Cornell de la mezcla de los fármacos sedantes/anestésicos Ketamina-Xilacina altera los mecanismos endócrinos y neuroendócrinos que controlan el ciclo estral y la secreción de gonadotropinas, lo que aparentemente depende de la dosis de la mezcla de los sedantes/anestésicos utilizados en el estudio e incluso del día del ciclo en que es administrado.

La Ketamina es considerada un anestésico disociativo que actúa inhibiendo el movimiento y el dolor de modo muy efectivo, sin embargo, su empleo como anestésico puro no es recomendable para la rata (Shibutani, 2000; Svendsen, 1994), ya que sus efectos colaterales pueden resultar en alteraciones indeseadas sobre la actividad cardíaca y múltiples cambios autonómicos. Como pre-anestésico es ampliamente utilizado en la clínica de pequeñas especies y en los animales del presente trabajo su empleo como anestésico-sedante puro no mostró alteraciones en la ovulación espontánea ni el número de ovocito liberados.

La Xilacina es el sedante más común empleado en la medicina veterinaria y en los animales de laboratorio (Shibutani, 2000), pero se han descrito efectos adversos en la rata desde hace más de cuarenta años (Green, 1975). En dosis recomendadas para su uso veterinario en la rata produce una sedación profunda pero acompañada de efectos colaterales de difícil manejo y que pueden ocasionar la muerte por hipotermia.

El grupo control tratado con Xilacina pura resultó en la inhibición absoluta del pico preovulatorio de la GnRH y de las gonadotropinas, lo cual confirma graves alteraciones en el funcionamiento y control que el sistema nervioso autónomo debe desempeñar para garantizar la supervivencia.

Aunque no reportamos la tasa de mortalidad en los animales tratados con la mezcla de Ketamina-Xilacina del presente trabajo y que por descuido inicial no se colocaron en un ambiente tibio, el índice de mortalidad fue superior al 70%. Esta letalidad es muy probablemente atribuible a la Xilacina ya que la hipotermia es uno de sus efectos colaterales más notables y que suele ocasionar falla cardiorrespiratoria.

Con base en lo anterior, se recomienda utilizarla en dosis perfectamente calculadas y tomando en cuenta el índice de grasa corporal para evitar sobredosificaciones. También es recomendable el monitoreo permanente en los animales bajo sus efectos hasta que los animales puedan moverse nuevamente.

Independientemente de la dosis utilizada de la mezcla de Ketamina-Xilacina, el periodo de sedación profunda se mantuvo casi por 190 minutos. De no vigilar esta condición, es altamente probable que los casos de hipotermia fatal se incrementen considerablemente.

En los grupos control tratados con Ketamina pura o Xilacina pura, mostraron alteraciones en la secreción de estrógenos ya que la tasa de útero distendido en la mañana del estro esperado fue del 100% en ambos grupos.

Este resultado apoya la hipótesis general de nuestro grupo de trabajo y que postula que las funciones endócrinas están bajo la influencia del sistema nervioso autónomo.

Cualquier alteración de la calidad en la información nerviosa, necesariamente incide en el control del funcionamiento de glándulas y efectores, que en nuestro caso pueden ocasionar falla en los mecanismos que controlan la ovulación espontánea en la rata (Cruz et al, 1986; Cruz et al, 1989, Cruz et al, 1992; Chávez & Domínguez, 1994; Domínguez & Smith, 1974; Domínguez et al, 1985; Domínguez et al, 1989).

La dosis recomendada de la mezcla con Ketamina-Xilacina por la Universidad de Cornell tuvo efectos sobre la capacidad del sistema para lograr la ovulación exitosa que dependieron del día del ciclo estral en que los animales fueron tratados con la mezcla de anestésico-sedante.

Aparentemente, solo los animales tratados en el día del Estro lograron ovular normalmente (5/5) pero aquellos tratados en los otros días del ciclo estral fueron prácticamente ineficaces en lograr la ovulación (2/14) y todos estos presentaron signos de útero distendido (14/14).

Pese a lo anterior, el uso de la dosis media de la mezcla de Ketamina-Xilacina produjo efectos diferentes que dependieron del día del ciclo estral en que se realizó la sedación.

Con excepción de los grupos tratados en el día del Diestro-1, hubo una notable recuperación del signo de ovulación espontánea (21/24) y no se observaron cambios en el número de ovocitos liberados entre los grupos tratados con la mezcla de sedante-anestésico. Sin embargo, queda analizar porqué en el día del Diestro-1 el sistema no logra recuperar la capacidad ovulatoria independientemente de la dosis de Ketamina-Xilacina que hayan recibido (Tasa de Animales Ovulantes en los grupos tratados en Diestro-1: 6/14).

Por otra parte, resulta de particular interés que el empleo de la dosis completa de la mezcla de sedante-anestésico Ketamina-Xilacina en los animales, ellos hayan presentado el signo de estro vaginal acompañado de la presencia de ovocitos ocurre únicamente en el grupo tratado a las 13:00 h del día del Estro, pero que esto no haya ocurrido con los animales tratados en los días del Diestro-2 y del Proestro, a pesar de que todos ellos muestren el signo de estro vaginal pero con ausencia de ovocitos en los oviductos.

Finalmente, las fallas en la ovulación espontánea en los grupos tratados con la mezcla del sedante- anestésico son el resultado de la alteración de las señales ováricas que regulan la actividad del eje Hipotálamo-Adenohipófisis-Ovario, ya que el reemplazo hormonal con estrógenos indujo la ovulación en el 100% de los casos. La falta de esta señal ovárica, ocasiona la ausencia de la señal hipotalámica y en consecuencia, la ausencia de gonadotropinas en los animales sedados con la mezcla de Ketamina-Xilacina.

Conclusiones

Los resultados del presente estudio muestran que la dosis recomendada de la mezcla anestésica Ketamina+Xilacina para uso veterinario altera los mecanismos neuroendocrinos y endocrinos que conducen a la ovulación, por interrumpir las señales nerviosas que condicionan la secreción pre-ovulatoria de las gonadotropinas y la secreción de estrógenos necesaria para su efecto *feedback positivo* en los centros neurales que regulan la secreción de la GnRH. Además, la utilización de la mitad de la dosis recomendada de la mezcla Ketamina+Xilacina es adecuada para inducir una sedación profunda de más de 180 minutos bajo la cual podría emplearse una técnica quirúrgica común.

Agradecimientos

Agradecemos al MVZ Carlos Escamilla Weinmann, director del Bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y a todo su personal, su muy apreciable apoyo en el suministro y alojamiento de los animales de experimentación utilizados en el presente trabajo.

Referencias

- Burden, H. W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: Catecholamines As Hormone Regulators. Eds. N. Ben Jonathan, J.M. Bahr & R.I. Weiner. Sero Symposia Publications. Raven Press. New York, pp. 262-278
- Cruz, M. E., J. Castro & R. Domínguez (1992). A comparative analysis of the neuroendocrine mechanisms regulating ovulation, affected by a unilateral implant of atropine in the preoptic-anterior hypothalamic area, in intact and hemiovariectomized adult rats. *J Endocrinol* 133: 205-210.
- Cruz, M. E., L. P. Jaramillo & R. Dominguez (1989). Asymmetric Ovulatory response induced by a unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. *J Endocrinol* 123: 437-439.
- Cruz, M. E., R. Chavez & R. Domínguez (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adults rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Rev. Inv. Clin.* 38:167-171.
- Dissen, G.A., W.L. Dees & S.R. Ojeda (1993). Neuronal and neurotrophic control of ovarian development. En: *The Ovary*. Eds. E.Y. Adashi & P.C.K. Leung. Raven Press. New York, pp 1-19

Domínguez R & E.R. Smith (1974). Barbiturate blockade of ovulation on days other than proestrus in the rat. *Neuroendocrinology* 14:212-223

Domínguez, R., L. Riboni, D. Zipitria & R. Revilla (1985). Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the oestrous cycle of the rat. *J Interdis Cycle Res* 16: 285-294.

Domínguez, R., M. E. Cruz & R. Chavez (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En "Growth Factors and the Ovary". Eds. A. N. Hirshfield. Plenum Press, New York. pp 321-325.

Fish R.E., Brown M.J., Danneman P.J. & Karas A.Z. (2008). Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. En: American College of Laboratory Animal Medicine series. USA. Chapter 10 Anesthesia and Analgesia for Laboratory Rodents. Pgs. 239-268. Chapter Ethical Issues in Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animal. Pags. 561-567.

Freeman, M.E. (2006). Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction: Reproductive Processes and Their Control. 3th Edition. Volume 2. Chapter 43. Editor in Chief J. D. Neill. Elsevier Academic Press. London. Pags. 2327-2387.

Gourdon J. (2006). Rodent Anesthesia. CARE 101.01. Cornell Center for Animal Resources an Education. Cornell University.

Green, C.J. (1975). Neuroleptanalgesic drug combinations in the anaesthetic management of small laboratory animals. *Laboratory Animals* 9(3): 161-178

Guyton A.C. & J.E. Hall (2006). Pituitary hormones and their control by the hypothalamus. En: "Textbook of Medical Physiology". 11th Edition. Eds. A.C. Guyton and J.E. Hall. Unit XIV. Chapters 74, 75 and 81. Elsevier Saunders. Philadelphia Pag. 918-929

Hsueh, A. J. W. H. Billig & A. Tsafiriri (1994). Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. *Endocrine Rev* 15:707-724.

Kohn, D.F., Benson, G.J., Wixson, S.K., White, W.J. (1997), *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals*; Academic Press, New York; Chapter 15.

Lawrence, L. E. & H. W. Burden (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anatomical Records* 196:51-59.

Luna, L.G. (1975). Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Company. New York. pp. 21 y 52.

López-Timoneda F. & Gasco, M. C. (2008). Fármacos Anestésicos Generales. En: Velazquez: Farmacología Básica y Clínica. 18ª. Edición. Capítulo 13. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. Pags. 229-242.

Marshall, B.E & D.E. Longnecker (2010). Anestésicos Generales. En: Goodman-Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9ª. Edición. Tomo 1, Sección III. Editorial McGraw-Hill/Interamericana, México. 327-351.

Mason, D.E. (1997). Anesthesia, analgesia, and sedation for small mammals. En: "Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery". Eds. E.V. Hiller E.V. & K.E. Quesenberry W.B. Saunders Company. Philadelphia. Pp. 378-391

Mayerhofer, A., G.A. Dissen, M.E Costa & S.R. Ojeda (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 178: 3320-3329

NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. Senasica, Dirección General de Salud Animal. SAGARPA.

Shibutani M. (2000). Anesthesia, Artificial Ventilation and Perfusion Fixation. En: *The Laboratory Rat. The Handbook of experimental animals*. Edit. Academic Press, pp 512-521.

Svendsen, P. (1994). In Svendsen, P. and Hau, J. Eds *Handbook of Laboratory Animal Science, Vol 1, Selection and Handling of Animals in Biomedical Research*, pp, 311-337. Boca Raton: CRC Press

Vives M.A., M. T. Higuera y A. Leuza. (1997). Antecedentes históricos de la anestesia veterinaria. En: *Anestesia Práctica de Pequeños Animales*, eds. L.J. Esquerro Calvo, M.A. Vives Valles & J. Uson Gargallo. McGraw-Hill / Interamericana. Madrid. Pags. 1-14.

Obtención de biogás a base de biomasa de nopal a nivel laboratorio (*Opuntia ficus –indica*) variedad *Atlixco*

ARREGUIN, Javier*†, RAMOS, Maribel, CARAPIA, Isaias y LEZAMA Paulina

Recibido Enero 25, 2016; Aceptado Marzo 10, 2016

Resumen

En nuestro país existe la problemática de la generación de recursos energéticos limpios y renovables. Ante dicho problema el uso de los residuos del nopal representa una interesante opción de obtención de energía, por lo cual el presente trabajo está encaminado a encontrar una manera óptima que permita obtener biogás a pequeña escala en laboratorio a partir de la biomasa del nopal y saber cuánta es la cantidad de biogás que se puede producir, así como los factores que intervienen en el proceso para posteriormente llevarlo a la práctica a una escala mayor y poder hacer recomendaciones a los productores que deseen tener una alternativa más como fuente de energía y de ingreso económico a partir del cultivo del nopal. La producción de energía a base de la biomasa del nopal adicionalmente se considera una fuente inagotable y limpia pero a su vez provee la ventaja de ser aprovechable en el lugar donde se produce.

Biogás, biomasa, nopal

Abstract

In our country there is the problem of the generation of clean and renewable energy resources. Faced with this problem the use of waste nopal represents an interesting option of obtaining energy, so this work is aimed at finding an optimal way to obtain small-scale biogas laboratory from biomass nopal and know how much is the amount of biogas that can be produced, and the factors involved in the process to subsequently implementing it on a larger scale and to make recommendations to producers who wish to have an alternative source of energy and income economic from nopal farming. Production of energy from biomass in addition nopal is considered an inexhaustible and clean source but in turn provides the advantage of being usable in the place where it occurs.

Biogas, biomass, nopal

Citación: ARREGUIN, Javier, RAMOS, Maribel, CARAPIA, Isaias y LEZAMA Paulina. Obtención de biogás a base de biomasa de nopal a nivel laboratorio (*Opuntia ficus –indica*) variedad *Atlixco*. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-6: 37-41.

*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: jaarreguin@itess.edu.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La idea de la aplicación de biogás, como fuente de energía renovable, ha despertado un gran interés en los últimos años, siendo tal vez una de las tecnologías de más fácil implementación, sobre todo en sectores rurales en donde la abundancia de materia orgánica hace atractiva esta alternativa ya que ofrece una oportunidad única de mitigar el cambio climático y simultáneamente aumenta el suministro de energía aprovechable en áreas rurales. Dentro de las cactáceas, el género *Opuntia* es el más diverso y ampliamente distribuido en América (Scheinvar, 2011), siendo estas nativas del Continente Americano, en específico de la América Tropical. La familia Cactaceae presenta un gran número de endemismos lo que puede explicar tomando en cuenta que la historia de estas plantas es relativamente reciente. Se han descrito hasta la fecha 125 géneros y 2, 000 especies (INE, 2007).

Tradicionalmente, el nopal ha sido de los alimentos de mayor consumo del pueblo mexicano, tanto que en los últimos años se ha incrementado su demanda, principalmente en las áreas urbanas lo que se refleja en la superficie cultivada en el país (Ruiz S, 2010)

El nopal tiene varias aplicaciones de valor comercial en México en las que destacan la producción de nopal para verdura, tuna, el nopal forrajero y la producción de grana cochinilla; de esta última aplicación se han planteado proyectos para la obtención de biogás a partir de las pencas que quedan como desecho después de la cosecha de la grana cochinilla, por lo que en el año 2010 inicio el interés del Instituto de Investigaciones Eléctricas (IIE) por determinar la efectividad de la producción de biogás a partir del nopal, motivado por la búsqueda de fuentes de energía renovable de acuerdo a la ley de promoción de los bioenergéticas, a la ley de energías renovables y a la ley de cambio climático (Arvizu. J, 2015)

El biogás es el gas que se genera naturalmente o por medio de dispositivos específicos como el biodigestor, y que se produce a partir de la fermentación o biodegradación de la materia orgánica. En el ámbito de la energía renovable, esta materia orgánica es conocida como biomasa. La fermentación y biodegradación de la biomasa produce biogás mediante la acción de microorganismos anaerobios; esta es una mezcla conformada principalmente por CO₂ (50%-70%) y CH₄, (25%-40%), que se genera por el proceso biológico de biodigestión anaerobia, que consta de una serie de reacciones bioquímicas en la que residuos orgánicos son degradados o consumidos por un conjunto de microorganismos siendo el resultado final la generación de gas metano (COFUPRO, 2013).

Sin embargo retomando los procesos de producción agropecuaria en comparación a la evolución de la mayoría de los sectores productores en México, ha tenido una lenta o no muy notoria evolución tecnológica y sustentable que no ha permitido alcanzar el máximo aprovechamiento del material biológico producido, generando de esta manera la constante necesidad de nuevas alternativas que cubran las expectativas económicas del productor y la demanda del mercado mientras se reducen los impactos negativos al ambiente por este sector. Por varias razones adversas que tienen los productores de nopal en México, se pretende con el presente trabajo proponer una alternativa tecnológica para incrementar sus ganancias de producción mediante la generación de nuevas fuentes de energía como el metano generado por el biodigestor que se da mediante un proceso biológico anaeróbico que permite cubrir necesidades del productor en donde la aplicación de dicha energía demande un menor índice de gasto económico e insumos químicos ya que el residuo sólido de la biodigestión también puede ser aprovechable como biofertilizante en los cultivos.

Obtención de biogás a base de biomasa de nopal a nivel laboratorio (*opuntia ficus – indica*) variedad *atlixco*.

Materia prima.

Equipos utilizados.

Métodos.

Selección de la materia prima.

Molienda.

Verificación el porcentaje de humedad en la materia prima.

Verificación del pH de la materia.

Diseño del proceso de obtención del biogás.

Primer proceso de obtención de biogás a partir de la biomasa del nopal a tres diferentes temperaturas.

Metodología diseño de bloques completamente al azar.

Medición del biogás producido.

Segundo proceso de obtención de biogás a partir de la biomasa del nopal con diferentes excrementos a una misma temperatura.

Metodología diseño de bloques completamente al azar.

Medición del biogás producido.

Tercer proceso de obtención de biogás a partir de la biomasa del nopal con diferentes excrementos a diferentes temperaturas.

Metodología diseño cuadro latino.

Medición de biogás producido.

Métodos analíticos.

Determinación de humedad de la materia prima.

Determinación del pH en la materia prima.

Determinación del volumen de gas producido.

Determinación del pH de los residuos del proceso de biodigestión.

Determinación de la humedad de los residuos del proceso de biodigestión.

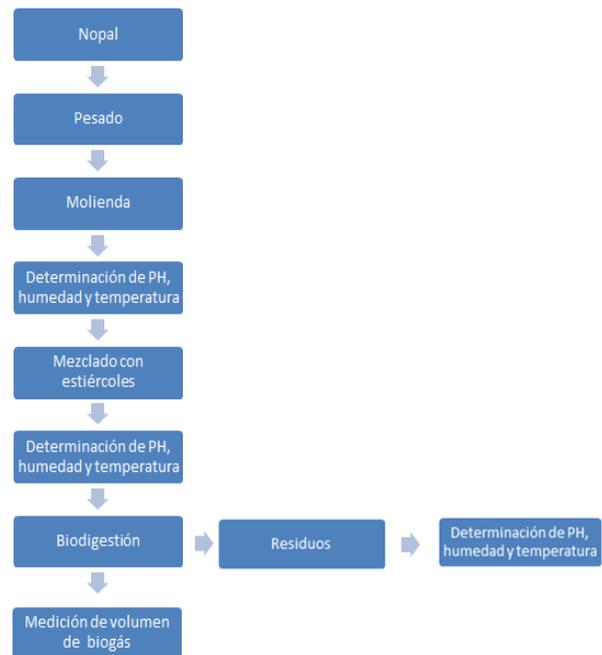


Figura 1



Figura 2 Pruebas a nivel laboratorio 1



Figura 3 Pruebas a nivel laboratorio 2

Metodología a desarrollar

Resultados

Al utilizar tres tipos diferentes de penca de la misma variedad se obtuvieron los siguientes resultados. Para el primer proceso de obtención de biogás a partir de la biomasa del nopal a tres diferentes temperaturas no se obtuvo un resultado significativo.

Para el segundo proceso de obtención de biogás a partir de la biomasa del nopal con diferentes excrementos a una misma temperatura se pudo observar que con la ayuda del estiércol de borrego se obtuvo la mayor cantidad de biogás.

Para el tercer proceso de obtención de biogás a partir de la biomasa del nopal con diferentes excrementos a diferentes temperaturas se obtuvo una cantidad significativa de biogás en todas las muestras pero la mayor producción de biogás se dio en las muestras 3: 1 de nopal y con estiércol de borrego a una temperatura de 30 °C.

En cada uno de los procesos se obtuvieron residuos que por su naturaleza se podrían utilizar como abonos que pueden ser empleados para mejorar o enriquecer los cultivos de nopal u otros cultivos.

Anexos

Cantidad de biogás producido en ml en la segundo proceso

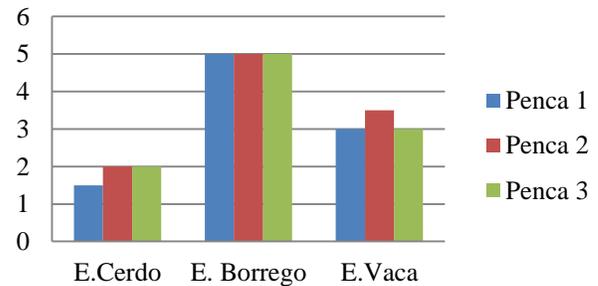


Gráfico 1

Producción de biogás con diferentes excrementos y diferentes temperaturas

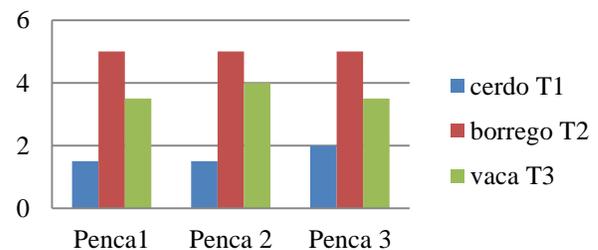


Gráfico 2

Agradecimiento

Agradecemos al Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra y a la empresa PLANPULU PLANTACIONES PUERTO DE LUNA SC. DE RL. DE CV por las facilidades en la realización de este proyecto.

Conclusiones

De acuerdo a este estudio se puede decir que las pencas por si solas no favorecen la producción de biogás como metano, sino que es necesario incorporar al proceso de biodigestión estiércoles para favorecer la fermentación, pero es necesario estar haciendo monitores continuos para verificar que las mezclas mantengan un pH de neutro a ligeramente ácido.

Ya que el pH está estrechamente relacionado con la materia prima utilizada, por lo cual se debe revisar a detalle que materias primas utilizar para favorecer la producción de metano y evitar el aumento de dióxido de carbono el cuál se relaciona con valores de pH menores a 5.

Referencias

Arvizu José L, 2015. Producción de biogás con nopal. Tendencia tecnológica. Importancia comercial del nopal en nuestro país. Boletín IIE, Pág. 64. Abril-Junio.

Coordinadora nacional de las fundaciones produce, 2013. Producción de biogás, energía eléctrica y fertilizante a partir del nopal. Boletín. Diciembre.

Instituto Nacional de Ecología, 2007. Descripción de las plantas cactáceas. Noviembre.

Ruiz Silvestre, fundación produce 2010.El nopal: propiedades y paquete tecnológico para su producción. Memoria de capacitación.

Scheinvar Leia, Gallegos Clemente, 2011. Informe final, Estado del conocimiento de las especies del nopal (*Opuntia* spp.) productoras de xoconostles silvestres y cultivadas. Proyecto CONABIO. Enero.

Producción de materia seca de *Leucaena leucocephala* y vegetación herbácea en un banco de proteína pastoreada por ovinos

ROMÁN-MIRANDA, María Leonor†, PALMA-GARCÍA, José Manuel, ZORRILLA-RIOS José Manuel y MORA-SANTACRUZ, Antonio

Recibido Diciembre 15, 2015; Aceptado Febrero 20, 2016

Resumen

La escasez de forraje de buena calidad en la época seca, representa el mayor limitante en la producción pecuaria, por lo que el productor adquiere concentrados de alto costo, sin embargo, existen alternativas viables como: los sistemas silvopastoriles. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de altura inicial de pastoreo en la producción de materia seca (MS) de *Leucaena leucocephala* y vegetación herbácea, en un banco de proteína. El estudio se realizó en Coquimatlán, Colima, con tres alturas: T₁ (60 cm), T₂ (80 cm) y T₃ (100 cm). El diseño fue al azar, con arreglo de parcelas divididas y comparación de medias con Tukey (P < 0.05). Se realizaron siete pastoreos, con una producción de MS de *Leucaena* de 6.82 a 9.10 t/MS/ha⁻¹ para el T₁ y T₂, con diferencia significativa (P < 0.05), entre estos tratamientos, pero no entre T₂ y T₃; la vegetación herbácea, tuvo mayor producción en época de lluvias T₁ de 2,200 contra 1,800 kg/MS/ha⁻¹ para T₃. Se concluye que la mayor producción de MS esta entre los T₁ y T₂, por la disponibilidad de forraje, donde el animal alterna el consumo de la gramínea y la leguminosa, por estar la altura accesible al ramoneo.

Composición botánica, época de lluvias, época seca, gramíneas, leguminosa

Abstract

The shortage of good quality of forage in the dry season, is one of the greatest limitations in livestock production, so that, the producer is forced to acquire concentrates of high cost, however, there are alternatives available as are: silvopastoral systems. The objective of this study was to determine the effect of the initial height in the dry matter (DM) production of *Leucaena leucocephala* and herbaceous vegetation in a protein bank. The study was conducted in Coquimatlán, Colima, with three heights: T₁ (60 cm), T₂ (80 cm) and T₃ (100 cm). The design was completely at random, with split-plot arrangement and comparison of means with the Tukey test (P < 0.05). Seven grazing periods were conducted, with a production of DM of *Leucaena* of 6.82 to 9.10 t/DM/ha⁻¹ for T₁ and T₂, with difference significant (P < 0.05), among these treatments, but not between T₂ and T₃; the herbaceous vegetation had higher production during the rainy season for T₁ 2,200 against 1,800 kg/ha⁻¹ for T₃. It is concluded that the largest production of DM is between the T₁ and T₂, by the availability of forage, where animal toggles the consumption both in the grass and the legume, by the height accessible browsing.

Chemical composition, rainy season, dry season, grasses and legumes

Citación: ROMÁN-MIRANDA, María Leonor, PALMA-GARCÍA, José Manuel, ZORRILLA-RIOS José Manuel y MORA-SANTACRUZ, Antonio. Producción de materia seca de *Leucaena leucocephala* y vegetación herbácea en un banco de proteína pastoreada por ovinos. Revista de Sistemas Experimentales. 2016, 3-6: 42-50.

†Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

En la mayor parte de las zonas tropicales de nuestro país, la actividad ganadera en forma extensiva, es la más difundida, utilizando recursos de especies herbáceas y arbustivas nativas para su alimentación. Sin embargo, este tipo de producción es la que ocasiona un mayor deterioro de los recursos naturales por el sobrepastoreo.

Por lo cual, es importante desarrollar alternativas para una ganadería sostenible con estrategias que permitan incrementar la producción sin deterioro de los recursos naturales y sistemas resilientes al cambio climático (Milera, 2013; Bacab *et al.*, 2013)

Por otro lado, las zonas tropicales se caracterizan también por presentar una riqueza florística de especies arbóreas y arbustivas, de alto valor proteico que coadyuvan a incrementar los niveles productivos en la actividad pecuaria, entre ellas: *Leucaena leucocephala* (Anguiano *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*, 2015; Naranjo *et al.*, 2016; Santiago *et al.*, 2016).

Por lo que la introducción de especies forestales de uso múltiple como las forrajeras en sistemas silvopastoriles (SSP), son una opción viable que aportará forraje de buena calidad, reducirá la degradación de los recursos naturales y coadyuvará a la mitigación del cambio climático (Bacab *et al.*, 2013; Milera, 2013).

Los sistemas silvopastoriles son una modalidad de los sistemas agroforestales, donde se considera un grupo de técnicas que integran ganadería, pastos y árboles, en ellos, se busca el máximo beneficio por unidad de área (Manidool, 1984).

Un sistema silvopastoril utilizado en varios países tropicales son los bancos de proteína, compuestos por leguminosas arbóreas puras o mezcladas con gramíneas, una de las especies mayormente utilizadas es el guaje *Leucaena leucocephala* originaria de México e introducida en varios países tropicales, por su condición de árbol multipropósito, alto contenido de proteína, resistencia a la sequía y preferencia por la mayoría de rumiantes por ofrecer forraje fresco y de buena calidad durante la época seca (Ruiz *et al.*, 2015; Rojas-Basto *et al.*, 2015; Santana-Neto *et al.*, 2015).

El valor forrajero de *L. leucocephala* como banco de proteína pastoreada por bovinos ha sido ampliamente investigada (Palma *et al.*, 2000; Ruiz *et al.*, 2015), la mayoría de estos estudios se refiere a la altura inicial de pastoreo, debido a su rápido crecimiento y a la disponibilidad de forraje para su consumo. Ruiz y Febles (1987) recomendaron una altura inicial de pastoreo de 1.00 a 1.50 m para bovinos. En ovinos, por lo general se utiliza en el sistema de corte y acarreo, con buena aceptación en su consumo o bien no se señala cuál es la altura de pastoreo. Espinoza *et al.* (2001), indicaron un incremento de peso en ovinos con el uso del banco de proteína de *L. leucocephala* pastoreada por un período de dos horas al día. Los bancos de proteína de *L. leucocephala* para pastoreo, se utiliza en las modalidades de callejones o franjas, donde se introducen especies forrajeras, o bien se establece vegetación nativa entre ellas gramíneas tanto anuales como perennes, que complementa la dieta de los rumiantes en pastoreo (Madera *et al.*, 2013), asimismo, la altura inicial de pastoreo en ovinos, es determinante para el consumo por los animales. Motivo por el cual, el objetivo de este estudio fue evaluar la producción de materia seca de *L. leucocephala* y el comportamiento de la vegetación herbáceas en un banco de proteína pastoreada por ovinos a diferente altura inicial de pastoreo.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en el Rancho “Buenos Aires”, localizado a 5 km de la carretera Colima-Coquimatlán, desviándose 500 m al suroeste, en el municipio de Coquimatlán, Colima, México; dentro de las coordenadas geográficas de 19° 12’ de Latitud Norte; y 103° 49’ de Longitud Oeste. A una altura sobre el nivel del mar de 390 m.

El clima que predomina en el área de estudio de acuerdo a la clasificación de Köppen con las modificaciones propuestas por García (1988), corresponde a un cálido subhúmedo AW₀ con una precipitación pluvial de 800 a 900 mm al año y temperatura media anual de 25° C.

El suelo es de origen aluvial, y pertenece según la clasificación de FAO/UNESCO (INEGI, 1990) a Fluvisol eútrico más Cambisol crómico (Je+Bc), con pendiente del 0 al 2%; de textura franco-arenosa; color castaño claro en seco; estructura granular; consistencia suelta y pH de neutro a ligeramente alcalino. Sin problemas de sales, pobre en fósforo y calcio; de mediana a baja fertilidad y con bajo contenido de materia orgánica (0.92%).

El estudio se realizó en un banco de proteína de *Leucaena leucocephala* var. Perú, establecido tres años antes, la siembra se realizó a chorrillo con una separación de surcos de 1.00 m, al momento de iniciar el experimento había una densidad de 40,000 plantas/ha, los espacios comprendidos entre surco y surco estaban compuestos por vegetación nativa, la cual también fue consumida por los animales. El experimento se realizó en condiciones de temporal, con un solo riego de auxilio en la época más crítica del año.

Se realizó un pastoreo previo a la fase de experimentación para determinar la altura máxima de pastoreo por los ovinos y determinar los tres tratamientos. La altura observada de consumo fue de hasta 100 cm y de tallos jóvenes de 4 mm sin lignificar. Con estos datos se establecieron los tratamientos de altura inicial de pastoreo T₁= 60 cm, T₂= 80 cm y T₃= 100 cm, efectuando una poda a las alturas indicadas para uniformizar los tratamientos. El material comestible a evaluar eran hojas y tallos tiernos, no mayores de 4 mm y no lignificados. El hato de ovinos fue de 54 borregos con un peso promedio de 36 ± 6 kg.

El área experimental fue de 1620 m², dividido en 9 parcelas de 180 m² de 15 x 12 m, siendo la parcela útil de 13 por 10 m. Se utilizó cerco eléctrico para el manejo de los animales, el acceso al banco de proteína fue controlado con un tiempo promedio de ocupación de 2 horas diarias (de 8 a 10 A.M.), de acuerdo a los propuesto por Borroto *et al.* (1993), este manejo se realizó durante las tres épocas (lluvias, inicio de época seca y época seca), el tiempo de estancia tuvo una variación de 1 a 1.5 horas durante la época seca, ajustándose a un 75 a 85% de utilización de acuerdo a una apreciación visual y dentro los rangos señalados por Ruiz *et al.* (1994).

Para medir producción de la materia seca se muestrearon al azar 10 plantas de *Leucaena* según (Machado y Nuñez, 1994), en la parcelas útil, 13 x 10 m, después del pastoreo se realizaba otro muestreo de otras 10 plantas para medir el rechazo y ajustarse al porcentaje de utilización propuesto (75 a 85%). A partir del tercer pastoreo la medición de la biomasa comestible de *L. leucocephala* se realizó en cuatro diferentes estratos divididos como sigue: del suelo a 60, 61 a 80 cm, 81 a 100 y >100 cm.

Para la vegetación acompañante se determinó composición botánica, empleando el método de t'Mannetje y Haydock (1963), y la producción de materia seca se evaluó con muestreos con marcos de 0.25 m².

Se utilizó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con arreglo de parcelas divididas, con tres repeticiones, donde la parcela mayor son las épocas de pastoreo y las subparcelas las diferentes alturas iniciales de pastoreo. La comparación de medias fue mediante la prueba de Tukey (P<0.05).

Resultados y Discusión

Se realizaron un total de siete pastoreos, cuatro en época de lluvias, dos en época seca y uno al inicio de la época seca, los ovinos permanecieron dos horas diarias de tres hasta siete días dependiendo de la disponibilidad de forraje, el primer pastoreo y no obstante de haberse realizado en la época de lluvias la ocupación solo fue de tres días, ya que debido a la poda para uniformizar las alturas había poca disponibilidad de forraje.

Sin embargo, el período de ocupación en el segundo pastoreo fue la misma que en el anterior lo que nos indicó que aún existía poca biomasa comestible, a medida que transcurrieron los siguientes pastoreos la ocupación fue mayor, aún en la época seca (Tabla 1), se observó también ataque de hormiga arriera (*Ata mexicana*) y del psillido *Heteropsylla cubana*, iniciando con el tratamiento de mayor altura T₃ (100 cm), posteriormente la plaga también atacó al T₂ (80 cm) y solo hasta el 6° pastoreo la plaga se presentó en todos los tratamientos, de acuerdo a varios autores esta es la principal plaga de la *Leucaena* que acaba con plantíos donde esta especie es introducida y no existen enemigos naturales.

Es posible que la mayor infestación por esta plaga se presentó por la dificultad de los ovinos en remover con el ramoneo las plantas de mayor altura, coincidiendo con Shelton (1996), quien considera la principal limitante para el establecimiento de bancos de proteína con esta especie, además de bajar significativamente la productividad.

Pastoreos	Epoca	Tratamientos	Días de Ocupación	Horas de ocupación	Observaciones
1º.	Lluvias	T ₁	3	6	
		T ₂	3	6	
		T ₃	3	6	
2do.	Lluvias	T ₁	3	6	
		T ₂	3	6	
		T ₃	3	6	
3er.	Inicio Secas	T ₁	3	6	Ataque de psillido (T ₁) y hormiga
		T ₂	4	8	
		T ₃	3	7	
4to.	Secas	T ₁	3	3	T ₁ , severamente atacado psillido
		T ₂	3	4	
		T ₃	3	3,5	
5to.	Secas	T ₁	3	6,5	Riego de auxilio. T ₂ atacado por psillido
		T ₂	4	8	
		T ₃	4	8	
6to.	Lluvias	T ₁	7	16	Todos los tratamientos atacados por el psillido
		T ₂	6	12	
		T ₃	5	14	
7to.	Lluvias	T ₁	3	6	
		T ₂	3	6	
		T ₃	3	6	

Tabla 1 Tiempo de ocupación por los ovinos en el banco de proteína de *Leucaena leucocephala* en los períodos de pastoreo

La producción total de material comestible para *Leucaena leucocephala* durante el tiempo que duró el experimento fue para T₁ de (6.8 ton/ha al año), T₂ (9.10 ton/ha al año) y T₃ (8.3 ton/ha al año), como se puede observar en el (Cuadro 2), similar estadísticamente en T₂ y T₃ y diferente ambos tratamientos con T₁ en forma acumulada (P>0.05), comparados con la producción en la época seca; estos valores son superiores a lo señalado por Reyes *et al.*, (2015), quienes obtuvieron valores de 497.80 para la época de lluvias y de 204.80 kg de MS/mes/ha⁻¹, en la época poco lluviosa, sin embargo son inferiores a los reportados por Bacab *et al.* (2013), quienes en densidades de 10,000 plantas por ha; en sistemas silvopastoriles intensivos (SSPI), obtuvieron producciones promedio de 2,470 y 2,693 kg MS ha⁻¹ pastoreo⁻¹ en la época seca (marzo-mayo).

Asimismo en la misma localidad Anguiano *et al.* (2012) indicaron producciones a los 100 días de edad de la planta y en densidades de 80,000 plantas/ha, una producción de 6.0 t/ha, valor muy similar para T₁. Sánchez *et al.* (2005), señalaron también la diferencia entre época de lluvias y época seca, con producciones de (1.284 vs 852 kg de MS/ha, respectivamente).

La producción de material comestible de esta leguminosa esta entre los rangos que indicaron Espinoza *et al.* (2007), quienes reportaron valores para follaje y tallos comestibles de 1,3 a 20 toneladas de MS/ha.

En la mismo tabla, se puede observar la variación de producción de materia seca en las épocas de pastoreo, en los diferentes tratamientos, siendo las de mayor producción la segunda época de lluvias, correspondiente al sexto y séptimo pastoreo, cuando las plantas en su mayoría habían rebasado la altura inicial de pastoreo.

En la primera época de lluvias la producción fue menor debido principalmente a la poda que se efectuó, para uniformizar los tratamientos; posteriormente se observó el incremento en la producción conforme transcurría el tiempo con excepción del T₃, esto se explica por el ataque de psillido y hormiga que provocó una disminución en la producción en el cuarto pastoreo.

Pastoreos	Época	Tratamientos	MS/kg/ha
1º.	Lluvias	T ₁	440 ± 144
		T ₂	403 ± 67
		T ₃	436 ± 67
2do.	Lluvias	T ₁	256 ± 29
		T ₂	493 ± 22
		T ₃	486 ± 35
3er.	Inicio Secas	T ₁	566 ± 94
		T ₂	850 ± 61
		T ₃	823 ± 132
4to.	Secas	T ₁	830 ± 149
		T ₂	1223 ± 251
		T ₃	620 ± 50
5to.	Secas	T ₁	1230 ± 102
		T ₂	1693 ± 363
		T ₃	1486 ± 181
6to.	Lluvias	T ₁	2233 ± 52
		T ₂	2646 ± 252
		T ₃	2543 ± 252
7to.	Lluvias	T ₁	1263 ± 168
		T ₂	1795 ± 135
		T ₃	1756 ± 153
	Valor acumulado	T ₁	6818 ± 674 ^b
		T ₂	9103 ± 804 ^a
		T ₃	8150 ± 791 ^a

Tabla 2 Influencia de la época de pastoreo en la producción de materia seca (MS) de *Leucaena leucocephala* pastoreada por ovinos

a,b distinta literal en renglón significa diferencia estadística ($P < 0.05$), prueba de Tukey

A medida que transcurrían los diferentes pastoreos, se observó una mayor producción en los estratos inferiores en los tratamientos T₁ y T₂, por lo que se optó hacer mediciones por estratos a partir del tercer pastoreo. Se observó que en los tratamientos de menor altura inicial (60 cm) y (80 cm), tuvo la mayor producción en los estratos inferiores hasta el quinto pastoreo, a partir del sexto la distribución de la biomasa en el T₁ fue muy similar en los diferentes estratos (Gráfico 1).

En el caso de T₂ y T₃ se observa que la disponibilidad de forraje fue mayor en los primeros tres estratos y a partir del sexto la distribución fue mayor en el último estrato (mayor de 100 cm) (Gráficos 2 y 3), al respecto Espinoza *et al.* (1998) indicaron que también el valor nutritivo difiere a medida que se hacen los cortes en diferentes estratos, en nuestro caso se consideró importante la cantidad y distribución de la biomasa comestible que pudiera ser utilizada por los ovinos.

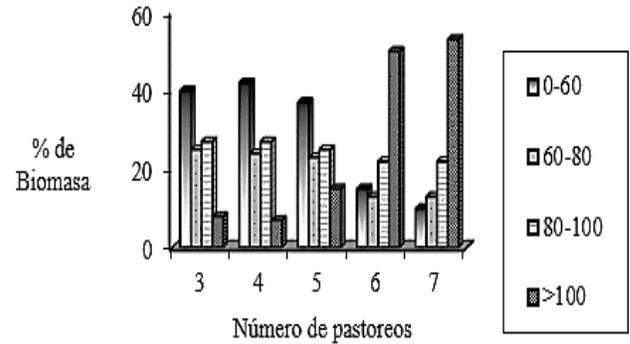


Gráfico 3 Distribución de la Biomasa Comestible de *Leucaena leucocephala* en T100 en (%) en los diferentes pastoreos

En cuanto a la vegetación acompañante los valores de materia seca en las distintas épocas del año se muestran en el (Cuadro 3), siendo en la época de lluvias donde se tuvo la mayor producción de 1.172 hasta 2.024 ton/MS/ha, durante la época seca, la cantidad de materia seca fue prácticamente nula, considerando que la mayoría de las especies son anuales y solo aparecen en la época de lluvias, esto se reflejó en la segunda época de lluvias, con incremento en los tratamientos T₁ y T₂ y disminución en el T₃, probablemente esto se deba a que la mayoría de plantas de *Leucaena leucocephala* habían rebasado la altura de 100 cm y eran inaccesible para los ovinos, con una disminución de la luz disponible para el crecimiento de la vegetación acompañante, además de un sobre pastoreo de la vegetación herbácea, por no tener accesibilidad a la leguminosa. Sin embargo, en el T₁ y T₂, el comportamiento del estrato herbáceo fue diferente, coincidiendo con lo señalado por Espinoza *et al.* (2001), quienes indicaron que las pasturas asociadas a *Leucaena* tienen una mayor recuperación que en monocultivo.

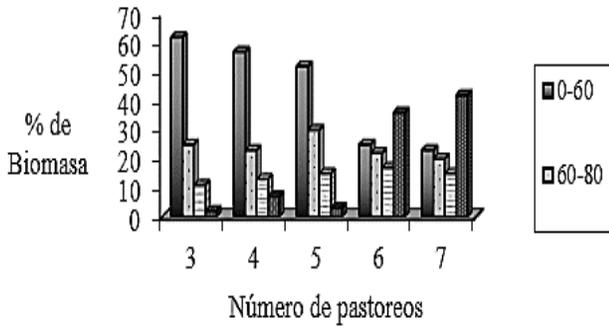


Gráfico 1 Distribución de la Biomasa comestible de *Leucaena leucocephala* en T60 en (%) en los diferentes pastoreos

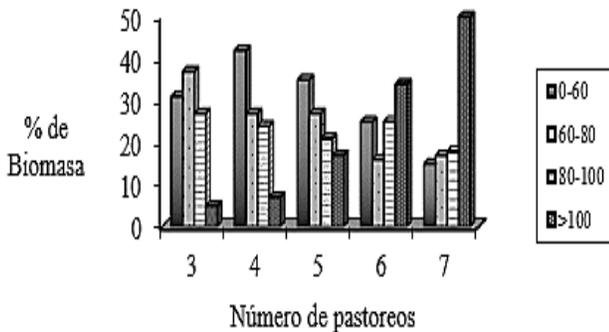


Gráfico 2 Distribución de la Biomasa comestible de *Leucaena leucocephala* en T80 en (%) en los diferentes pastoreos

Tratamiento	Lluvias (1995) MS/ton/ha	Inicio de Secas MS/ton/ha	Secas MS/ton/ha	Lluvias (1996) MS/ton/ha
T ₁	1.172	1.796	0	2.200
T ₂	1.376	2.003	0	1.960
T ₃	2.024	2.100	0	1.800

Tabla 3 Producción de materia seca de la vegetación herbácea de *Leucaena leucocephala* en un banco de proteína

La composición botánica de la vegetación acompañante del banco de proteína estaba formado por especies en su mayoría anuales y de la familia gramínea (Poaceae), con excepción de *Cynodon dactylon* e *Hilaria ciliaris* que son especies perennes, también en el T₂ se encontró una especie de la familia Malvaceae *Sida rhombifolia*. Se pudo observar que en el primer pastoreo en la época lluviosa, la composición botánica fue mayor para *C. dactylon* e *Hilaria ciliaris* de 38 y 40%, respectivamente, estas especies estuvieron presente al inicio de la época de secas y las que presentaron también el mayor porcentaje en la segunda época de lluvias, sin embargo en el T₃ no obstante de estar presentes estas dos especies el *C. dactylon* desaparece al inicio de la época seca, posiblemente influido por el sobrepastoreo y la poca radiación solar, obtenida por el crecimiento de la leguminosa arbórea (Tabla 4).

	Lluvias (1995) (%)	Inicio de Secas (%)	Secas (%)	Lluvias (1996) (%)
Tratamiento 60 cm				
<i>Cynodon dactylon</i>	38	64	--	20
<i>Hilaria ciliaris</i>	40	36	--	45
<i>Eleusine indica</i>	6	--	--	10
<i>Paspalum plicatulum</i>	10	--	--	5
<i>Digitaria sanguinalis</i>	6	--	--	10
<i>Dactyloctenium aegyptium</i>	--	--	--	10
Tratamiento 80 cm				
<i>Cynodon dactylon</i>	44	73	--	50
<i>Hilaria ciliaris</i>	18	27	--	10
<i>Eleusine indica</i>	18	--	--	20
<i>Paspalum plicatulum</i>	10	--	--	15
<i>Digitaria sanguinalis</i>	8	--	--	--
<i>Sida rhombifolia</i>	2	--	--	5
Tratamiento 100 cm				
<i>Cynodon dactylon</i>	45	--	--	--
<i>Hilaria ciliaris</i>	5	57	--	10
<i>Eleusine indica</i>	25	--	--	20
<i>Paspalum plicatulum</i>	--	--	--	25
<i>Digitaria sanguinalis</i>	11	--	--	--

Tabla 4 Composición botánica de la vegetación acompañante de *Leucaena leucocephala* en un banco de proteína

Conclusiones

En cuanto a la producción de MS el mejor tratamiento fue para T₂, así como la disponibilidad de forraje de la vegetación herbácea. Sin embargo, debido a la arquitectura que presentaron las plantas, la que obtuvo mayor producción de biomasa fue el T₁, siendo una buena opción para la altura inicial de pastoreo, ya que el mejor forraje comestible se encuentra accesible para los animales, además de una menor susceptibilidad al ataque del psilido *Heteropsylla cubana*.

Referencias

- Anguiano, J. M.; Aguirre, J. y Palma, J. M. (2012). Establecimiento de *Leucaena leucocephala* con alta densidad de siembra bajo cocotero (*Cocos nucifera*). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 46 (1):103-107.
- Bacab, P. H.M.; Madera, N.B.; Solorio, F.J.; Vera, F. y Marrufo, D. F. 2013. Los sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala*: una opción para la ganadería tropical. *AIA* 17(3): 67-81.
- Borroto, A.; Pérez, R.; Hernández, N. y Bacallao, J. L. 1993. Sustitución del suplemento proteico ovino por banco de proteína. *Ciencia e Investigación Agraria. XIII Reunión ALPA*. pp. 129-130.
- Espinoza, F.; Tejos, R.; Chacón, E.; Arriojas, L. y Argenti, P. 1998. Producción, valor nutritivo y consumo por ovinos de *Leucaena leucocephala*. *Zootecnia Trop.* 16(2):163-181.
- Espinoza, F.; Araque, C.; León, L.; Quintana, H. y Perdomo, E. 2001. Efecto del banco de proteína sobre la utilización del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) en pastoreo con ovinos. *Zoot. Trop.* 19 (3): 307-318.

- Espinoza, F.; Torres, A. y Chacón, E. 2007. *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) y cují (*Acacia macracantha* y *Mimosa tinuifolia*), como aporte de proteína económica en los sistemas doble propósito. http://avpa.ula.ve/eventos/i_simposio_tecnologias/pdf/articulo2.pdf (Consultado 9 de octubre del 2016).
- García, E. 1988. Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen. (Para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana) 4ta. Edición. México, D.F. 318 p.
- INEGI. 1990. Guías para la interpretación de cartografía. Edafología. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, México. pp 18-41.
- Machado, R. and Nuñez, C.A. 1994. Caracterización de variedades de *Leucaena leucocephala*. Para la producción de forraje 11 variabilidad morfológica y rendimiento. Pastos y Forrajes. Cuba. 107-115.
- Madera, S. N.M.; Bacab, P. H.M. y Ortiz, de la R. B. 2013. Ganancia diaria de peso por ovinos con la inclusión de una planta leguminosa (*Leucaena leucocephala*) en dietas basadas en pasto clon Cuba CT-115 (*Pennisetum purpureum*). Bioagrociencias 6 (1): 26-30.
- Manidool, C. 1984. Sylvopastoral systems in Thailand. International symposium on pastors in the tropics and subtropics. Tropical agriculture research series 18. pp 187-194.
- Milera, M. 2013. Contribución de los sistemas silvopastoriles en la producción y el medio ambiente. Avances en la Investigación Agropecuaria. 17(3): 7-24.
- Naranjo, J.F.; Ceballos, O.A.; Gaviria, X.; Tarazona, A.M.; Correa, G.A.; Chará, J.D.; Murgueitto, E.; Barahona, R. 2016. Study of *in vitro* fermentation kinetics of mixtures forages from intensive silvopastoral systems (SSPI) with *Leucaena leucocephala* in Colombia. Medicina Veterinaria y Zootecnia. 11 (2): 6-17.
- Palma, J.M.; Ruiz, T. E. y Jordán, H. (2000). Bancos de proteína con *Leucaena leucocephala*. Una experiencia de transferencia de tecnología en sistemas silvopastoriles en México. Editorial Agrosystems Editing. México. 58 pp. ISBN 968-7541-05-9.
- Reyes, J.J.; Padilla, C.; Martín, P.C.; Gálvez, M.; Rey, S.; Noda, A. y Redilla, C. 2015. Consumo de forrajes tropicales por vacas lecheras, mestizas Siboney, manejadas en sistemas de estabulación. Avances en Investigación Agropecuaria 19 (1): 31-40.
- Rojas-Basto, L.C.; Artunduaga, C. L.G.; Ángel-Sánchez, Y. K. y Suárez-Salazar, J.C. 2015. Especies arbóreas de uso múltiple en zonas de bosque seco tropical en el sur de Colombia. Momentos de Ciencia. 12 (1): 17-24.
- Ruiz, T. y Febles, G. 1987. *Leucaena* una opción para la alimentación bovina en el trópico y subtropical. EDICA. Instituto de Ciencia Animal, del Ministerio de Educación Superior La Habana, Cuba pp 3-42.
- Ruiz, T., Febles, G., Jordán, H. y Castillo, E. 1994. *Leucaena leucocephala* algunos aspectos de su manejo para la producción animal. Memorias VII Reunión de avances en investigaciones agropecuarias Colima, México. pp. 198-201.

Ruiz, T. E; Febles, G. y Alonso, J. 2015. A scientific contribution to legumes studies during the fifty years of the Institute of Animal Science. Cuban Journal of Agricultural Science 49 (2): 233-241.

Sánchez, A.; Romero, C.; Araque, C. 2005. Producción de materia seca de *Leucaena leucocephala* a diferentes edades de corte y épocas del año bajo un sistema de riego artesanal. Zootécnica Trop. (online). 23(1):38-48
[http:
www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci)
(Consultado 5 de junio del 2016)

Santana-Neto, J. A.; da Silva, O. V. y de Lima, V. R. 2015. Leguminosas adaptadas como alternativa para ovinos no semiárido – revisão. Revista de Ciências Agroveterinárias Lages. 14 (2): 191-200.

Santiago, F. I.; Lara, B. A.; Miranda, R. L. A.; Huerta, B. M.; Krinshnamurthy, L. Muñoz-González, J.C. 2015. Composición química y mineral de leucaena asociada con pasto estrella durante la estación de lluvias. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Pub. Esp. 16: 3173-3183.

Shelton, M. 1996. El Género *Leucaena* y su potencial para los Trópicos. Leguminosas Forrajeras Arbóreas en Agricultura Tropical. Universidad de Zulia, Maracaibo, Venezuela. pp.17-26.

t'Mannetje, L. y Haydock, K. 1963. The dry-weight method for botanical analysis of pasture. J. Brit. Grass l. Soc. 18: 268-275.

Sistemas de incompatibilidad genética de híbridos comerciales de maíz

PADILLA-GARCÍA, J.M.*†, DE LA CRUZ-LARIOS, L., AVENDAÑO-LÓPEZ, A.N. y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J.

Instituto de Ciencia y Tecnología de Semillas (INCITES), Centro Universitario de Ciencias. Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara

Recibido Enero 25, 2016; Aceptado Marzo 02, 2016

Resumen

Los sistemas de incompatibilidad genética de híbridos comerciales de maíz son de vital importancia sobre todo en especies alógamas: la autoincompatibilidad evitar la autofecundación, y llega a reducir los efectos deletéreos de la endogamia, causa restricción del flujo de genes, aislamiento reproductivo y la prevención de híbridos inadaptados, el objetivo es analizar las relaciones de incompatibilidad de *gal* y *tcb1* en híbridos comerciales de maíz de sembrados en México. Este estudio aportó conocimiento de la constitución genética y frecuencia génica de los híbridos comerciales, con respecto a ambos sistemas de incompatibilidad tanto loci *gal* y loci *tcb1*, lo que la planeación de programas de monitoreo y de conservación *in situ* es una protección contra la pérdida de la diversidad genética, especialmente de los maíces dulces, palomeros u otros usos especiales.

Factores gametofíticos, flujo genético, incompatibilidad-cruzada

Abstract

Systems genetic incompatibility of commercial corn hybrids are of vital importance especially in open-pollination species: the self-incompatibility avoid inbreeding, and comes to reduce the deleterious effects of inbreeding, causing restriction of gene flow, reproductive isolation; the goal is to analyze the relationships of incompatibility of *gal* and *tcb1* in commercial corn hybrids grown in Mexico. This study provided knowledge of the genetic makeup and gene frequency of commercial hybrids, with respect to both systems incompatibility both loci *gal* and loci *tcb1*, what planning monitoring programs and *in situ*, conservation as protection against loss genetic diversity, especially sweet corn, pop corn and others maize for special uses in Latinoamerican.

Gametophytic factors, genetic flow, cross-incompatibility

Citación: PADILLA-GARCÍA, J.M., DE LA CRUZ-LARIOS, L., AVENDAÑO-LÓPEZ, A.N. y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J. Sistemas de incompatibilidad genética de híbridos comerciales de maíz. Revista de Sistemas Experimentales. 2016. 3-6: 51-59.

*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: jpadilla@cucba.udg.mx)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

Los efectos del flujo genético, vía polen, entre híbridos comerciales de maíz, razas de maíz y parientes cercanos denominados colectivamente “teocintles”, se reflejan en mezclas de genes que pueden originar cambios drásticos en la diversidad genética (se amplía o se modifica la riqueza de genes), pérdida de genes en continua evolución y futuras fuentes de genes para los programas de mejoramiento genético en maíz.

Detectar la presencia de alelos de los sistemas de incompatibilidad reportados dentro de los complejos raciales del maíz, que abarcan desde los híbridos comerciales (algunos con genes no deseados) hasta las razas y parientes silvestres, ayudaría a evitar la contaminación genética y pérdida de la variabilidad genética de las poblaciones de maíz que pudieran estar en un estado altamente vulnerable por disminución de genes que le confieren ser maíz de “usos especiales”.

El objetivo de caracterizar la presencia de alelos, respecto a los factores de incompatibilidad en los híbridos comerciales de maíz que se siembran en México, bajo el supuesto que los sistemas de incompatibilidad se encuentran de manera aleatoria dentro de los híbridos comerciales del maíz de México.

Diversidad genética del género *Zea*

Smale y McBride (1996) definen a la diversidad genética como la variación o potencial de variación, entre todas las secuencias de genes, conocidos y desconocidos, que controlan el desarrollo biológico de un organismo, entre otros las plantas cultivadas, y como expresión en variación morfológica, que le confiere aspectos estéticos, rituales y de cultura.

Interacción polen-estigma

La polinización asegura la sobrevivencia de las especies y también es un medio para incrementar la diversidad genética, y con ello, el potencial de adaptación a nuevos ambientes (Sánchez et al., 2004).

Existen diferentes mecanismos de liberación, de transferencia y deposición del polen en los órganos sexuales de la hembra (Edlund et al., 2004).

La posición y morfología de las anteras y del pistilo tienen un proceso co-evolutivo por la forma de dispersión y recepción del polen, ayudado por el viento o animales (Sánchez et al., 2004).

El escape de alelos modificados genéticamente tendrían una ventaja selectiva para fijarse en las especies silvestres, con la posibilidad de crear malezas más persistentes (Ellstrand, 1997), ya sean genes de resistencia a herbicidas u otros genes de organismos genéticamente modificados (OGM) liberados para uso comercial (Ureta et al., 2008).

Las plantas de polinización cruzada regulan la hibridación a fin de equilibrar los efectos de la endogamia, la minimiza, además las plantas polinizadas por el viento, dependen de la interacción fisiológica entre el polen y el pistilo para regular la hibridación, muchas plantas poseen un mecanismo de cruzamiento genético para evitar la autofecundación y el cruzamiento entre parientes cercanos, reduciendo al mínimo la endogamia evitando sus efectos deletéreos (Nasrallah et al., 1994; Kermicle, 2006).

Incompatibilidad gametofítica

Los estudios evolutivos se han centrado en cómo los genes que causan las barreras de aislamiento se pueden fijar en una especie durante la especiación, a pesar del hecho de que dichos genes (de aislamiento) reducen la aptitud del resto de los genes que coexisten dentro de una población (Matsubara et al., 2003) y como mecanismos de especiación biológica (Moyle y Graham, 2005).

La incompatibilidad-cruzada (cross-incompatibility) es uno de las barreras más eficaces de aislamiento que restringe el flujo de genes entre las poblaciones divergentes y está clasificada dentro de las barreras de pre- y post-fertilización, en tanto la pre-fertilización es consecuencia de las interacciones entre el polen pistilo y la post-fertilización en una detención del desarrollo de los cigotos jóvenes (Matsubara et al., 2003).

Locus *gal*

Nelson (1996) presentó un reporte muy completo de los factores de incompatibilidad en maíz, en dicho trabajo esos factores se refirieron colectivamente como factores gametofíticos (*ga*). Sobre la incompatibilidad no-recíproca en cruza de maíz, Mangelsdorf y Jones (1926) observaron la F₂ del cruzamiento de maíz dulce (*su/su*) por maíz palomero “Rice Pop” (*Su/Su*) esperando obtener 25% de granos dulces, como resultado de segregación Mendeliana normal, y obtuvieron sólo el 16.2%, atribuyendo este dato a la presencia de un factor *Ga* (gen de incompatibilidad). Demerec (1929) confirmó la incompatibilidad no-recíproca al cruzar una variedad de maíz palomero “White Rice” por otra variedad (tipo grano dentado o harinoso), no obteniendo semilla, mientras que la forma en cruza recíproca obtuvo semilla, y al avanzar la semilla a la F₂ de la cruza de maíz dulce con el palomero “Rice Pearl” sólo obtuvo el 12.4%.

Emerson (1934) explica que este comportamiento es por la existencia de ligamientos entre “*Su*” “*su*” y “*Ga*” “*ga*”. Schwartz (1950) encuentra un tercer alelo que denomina *Ga-S* del mismo locus *ga* (Nelson, 1953), dominante sobre el recesivo *ga*.

Locus *tcb1*

Evans y Kermicle (2001) describieron las características del locus *tcb1* (Teosinte crossing barrier-1), responsable del reconocimiento entre el polen y los estigmas, con funcionamiento análogo al sistema de incompatibilidad del locus *ga1*. Este alelo fue derivado del teocintle Mesa Central en el cual encontraron factores que rigen las características de incompatibilidad vinculados al cromosoma 4, y que denominaron ‘Complejo de Incompatibilidad del Teocintle’ (TIC), y reportaron al alelo *Tcb1-S* raro o ausente de las poblaciones de maíz.

Los sistemas de incompatibilidad de los loci *gal* y *tcb1*, causantes del reconocimiento o rechazo entre el estigma y el polen, son heredados de manera Mendeliana simple, sin embargo para el alelo *Ga1-S* su acción es parcialmente dominante sobre el alelo *ga1*, y es codominante para con el alelo *Ga1-m* (Figura 1), mientras que el alelo *Tcb1-S* es completamente dominante sobre *tcb1* (Kermicle y Allen, 1990; De la Cruz, 2007; De la Cruz et al., 2008).

Desde la perspectiva para la caracterización de materiales de interés, el uso de probadores confiables y que realicen una correcta caracterización, los probadores a utilizar con el alelo *Ga1-S* deben ser homocigotos, en tanto los probadores con el alelo *Tcb1-S* pueden ser homocigotos o heterocigotos (Kermicle y Allen, 1990).

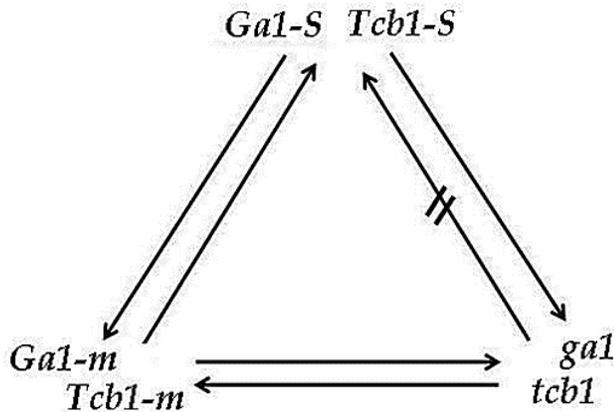


Figura 1 Relaciones de compatibilidad polen-estigma en *Zea*, para los sistemas de incompatibilidad loci *gal* y *tcb1* (Kermicle y Evans, 2005)

Metodología a desarrollar

Variable de estudio

La variable estudiada fue el llenado de grano de la mazorca, que se cuantificó con la presencia o ausencia de grano de los cruzamientos de los híbridos de maíz con cada tipo de probador, y en las plantas individuales de cada cruce se estimó el porcentaje del llenado de grano, obtenido con tres probadores aplicando la metodología propuesta por Kermicle y Allen (1990).

La estimación del llenado de grano se hizo visualmente redondeando con aproximación a 10%. Esto es, llenado abajo 5% se designó 0%, de 5 a 15% el valor fue 10% y así sucesivamente hasta alcanzar 95% al cual se asignó 100%.

Criterios para detectar los alelos de incompatibilidad:

Para detectar los alelos de los loci *gal* y *tcb1* se utilizaron los promedios de llenado de grano en mazorca con ambos tipos de probadores, macho recesivo y hembra dominante. Se ejecutaron tres etapas:

Etapa 1. Probador macho recesivo (sin alelos de incompatibilidad): cuando la accesión se polinizó con el probador macho recesivo y no hubo llenado de grano y además, los valores determinados con la prueba de Dunnett fueron estadísticamente iguales al control (0% de llenado de grano en la mazorca), se identificó la presencia de algún alelo de incompatibilidad (*Ga1-S*, *Tcb1-S*).

En el caso de formación de grano en la mazorca y cuando la prueba de Dunnett señaló valores estadísticamente iguales al control, con 100% de llenado de grano en la mazorca, se identificó la presencia de los alelos neutros (*Ga1-m*, *Tcb1-m*) o recesivos (*ga1*, *tcb1*), y se continuó con la etapa 2.

Etapa 2. Cruzamientos al probador hembra dominante *Ga1-S/Ga1-S*: una vez excluidas las accesiones con presencia de los alelos *Ga1-S* o *Tcb1-S*, el siguiente paso fue llevar polen del material seleccionado a los probadores hembra dominantes.

Cuando en el material de prueba se observó 100% de llenado de grano y fue estadísticamente igual al control se identificó la presencia del alelo *Ga1-m*. Si el llenado de grano fue 0% y fue estadísticamente igual al control, se interpretó como accesión sin alelos de incompatibilidad.

Etapa 3. Cruzamientos al probador hembra heterocigote dominante (*Tcb1-S/-*): sin considerar las accesiones con alelos *Ga1-S* o *Tcb1-S* de la Etapa 1, entonces si el llenado de grano fue 0% y fue estadísticamente igual al control, se identificó la presencia del alelo recesivo *tcb1*.

En cambio, si el llenado de grano fue 100% y fue estadísticamente igual al control, se identificó la presencia del alelo *Tcb1-m*.

Resultados

Locus *gal*

El análisis de varianza (ANVA) realizado en los híbridos comerciales de maíz para instituciones del sector público y empresas del sector privado, tanto nacionales como internacionales, con probadores recesivos (sin factores de incompatibilidad) presentaron diferencias altamente significativas para la fuente de variación Institución/Empresa (Tabla 1).

La fuente de variación Accesoión dentro de Institución/Empresa presentó diferencias altamente significativas (Tablas 1 y 2).

La fuente de variación Accesoión dentro de Institución o Empresa no presentó diferencias significativas con el probador recesivo, con un coeficiente de variación aceptable de 6.58%.

El ANVA para el probador hembra dominante (*Ga1-S/Ga1-S*), mostró diferencias altamente significativos para Institución o Empresa, y para Accesiones dentro de Institución/Empresa, con un coeficiente de 23.4% y un valor de R² de 0.958 (Tabla 2).

FV	Probador macho recesivo <i>gal/gal</i>	
	GL	CM
Institución/Empresa	40	209.168 **
Accesión	196	35.519 ns
Error	685	42.032 .
Total	921	
CV		6.58
R ²		0.348

Tabla 1 Cuadrados medios del análisis de varianza del sistema de incompatibilidad *gal* en híbridos de maíz para probador macho recesivo y probador hembra dominante

FV	Probador hembra dominante <i>Ga1-S/Ga1-S</i>	
	GL	CM
Institución/Empresa	40	7725.599 **
Accesión	196	3009.105 **
Error	252	158.509 .
Total	488	
CV		23.37
R ²		0.958

Tabla 2 Cuadrados medios del análisis de varianza del sistema de incompatibilidad *gal* en híbridos de maíz para probador hembra dominante

El alelo *Ga1-m* está presente en el 63.2% de las 39 empresas evaluadas (Tabla 25). Este alelo neutro fertiliza el óvulo con los alelos *gal* y *Ga1-S*.

El alelo recesivo *gal* presente en 21 empresas representa el 36.8%.

La tendencia observada para *Ga1-m* se debe a que por ser alelo neutro, no existen problemas de restricción y discriminación del grano de polen cuando están presentes los otros dos alelos (*gal* y *Ga1-S*); es decir sus estigmas son receptivos tanto al grano de polen de *gal* como al grano de polen de *Ga1-S*, y el polen *Ga1-m* fecunda al genotipo *gal/gal* y a el genotipo *Ga1-S/Ga1-S*, quizás debido al tipo de germoplasma usado en los programas de mejoramiento de cada empresa, que probablemente partieron de bases diferentes, caso Monsanto y Pioneer, donde el primero presentó mayor frecuencia del alelo *Ga1-m*, y la segunda empresa presentó mayor frecuencia del alelo recesivo *gal*. Monsanto con 8 híbridos *gal/gal* contra 27 de Pioneer y el 20.5 y 57.4%, respectivamente

Locus *tcb1*

El análisis de varianza (ANVA) para el locus *tcb1* no presentó diferencias significativas en ninguna de las dos fuentes de variación. Presentó un coeficiente de variación alto de 597.96% (Tabla 3), propio por el tipo de datos que se manejan, con una altísima frecuencia del dato cero (cero llenado de grano en mazorca), y con valor de R² considerado como moderado de 0.431.

FV	Probador hembra dominante <i>Tcb1-S/-</i>	
	GL	CM
Institución/Empresa	39	100.753 ns
Accesión	178	48.857 ns
Error	45	424.188 .
Total	262	
CV		597.96
R ²		0.431

Tabla 3 Cuadrados medios del análisis de varianza del sistema de incompatibilidad *gal* en híbridos de maíz para probador hembra dominante

El estudio referente al factor de incompatibilidad TIC, determinó que no está presente en los híbridos comerciales de maíz.

Anexos

No.	Instituciones	Probador macho recesivo (<i>gal/gal</i>) (100% grano)	
		Dif. entre Medias	<i>p</i>
1	AGROSIMI	-2.6429	ns
2	AGROZENAY	-4.1675	ns
3	AGRYVEN S. DE R.	-2.0833	ns
4	ASPROS (Testigo)	-1.2444	ns
5	CALORO	-24.105	*
6	CERES	-0.6466	ns
7	CIMMYT	-0.4872	ns
8	CONLEE	-3.8788	ns
9	CRISTIANI BURKARD	0.0	ns
10	DAS	0.0	ns
11	DESCONOCIDO	0.0	ns
12	DOW	-4.25	ns
13	EAGLE	0.0	ns
14	EL CAMINO	-4.2777	ns
15	GARST (Testigo)	0.0	ns
16	GENSEM	0.0	ns

17	GOLDEN HARVEST	-0.2222	ns
18	HARTZ	-0.6667	ns
19	ICAMEX	-4.2857	ns
20	INIFAP	0.0	ns
21	INIFAP??	-6.3333	ns
22	INIFAP-IGUALA	-1.0668	ns
23	INIFAP-JALISCO	-0.2105	ns
24	INIFAP-V-ALTOS	-4.78	ns
25	JAIME CAMACHO	0.0	ns
26	MAX SEED	-6.6667	ns
27	MONSANTO	-0.8966	ns
28	NOVASEM	0.0	ns
29	PIONEER	-1.5928	ns
30	SEMILLAS AMANECER	-1.5385	ns
31	SEMILLAS BERENTZ	-5.3333	ns
32	SEMILLAS MAX	0.0	ns
33	SEMILLAS RICA	0.0	ns
34	SEMILLAS-ALSA	0.0	ns
35	SYNGENTA	-1.1	ns
36	TAYLOR	0.0	ns
37	TROPICO SEEDS	0.0	ns
38	UDEG (Testigo)	100.0	-
39	UNISEM	0.0	ns
40	VÍTA 755	-50	*
41	ZARCO	0.0	ns

* = comparaciones significativas al nivel 0.05

Tabla 4 Promedios de llenado de grano en mazorca de los híbridos comerciales con probador macho recesivo (*gal*) y prueba de Dunnett al 0.05 de probabilidad

No.	Instituciones	Probador hembra dominante (<i>Gal-S/GalS</i>)			
		Dif. / Medias	<i>p</i>	(0% grano)	(100% grano)
1	AGROSIMI	93.03	*	-6.97	ns
2	AGROZENAY	50.0	*	-50.0	*
3	AGRYVEN S. DE R.	40.667	*	-59.333	*
4	ASPROS (Testigo)	100.0	*	100.0	-
5	CALORO	90.0	*	-10.0	ns
6	CERES	78.268	*	-21.732	*
7	CIMMYT	53.167	*	-46.833	*
8	CONLEE	87.292	*	-12.708	ns
9	CRISTIANI BURKARD	91.667	*	-8.333	ns
10	DAS	50.0	*	-50.0	*
11	DESCONOCIDO	0.0	ns	-100.0	*
12	DOW	95.5	*	-4.5	ns
13	EAGLE	73.5	*	-26.5	*
14	EL CAMINO	2.5	ns	-97.5	*
15	GARST (Testigo)	0.0	-	-100.0	*
16	GENSEM	53.333	*	-46.667	*

17	GOLDEN HARVEST	0.0	ns	-100.0	*
18	HARTZ	52.571	*	-47.429	*
19	ICAMEX	98.0	*	-2.0	ns
20	INIFAP	43.333	*	-56.667	*
21	INIFAP??	67.5	*	-32.5	*
22	INIFAP-IGUALA	6.0	ns	-94.0	*
23	INIFAP-JALISCO	65.529	*	-34.471	*
24	INIFAP-V-ALTOS	96.667	*	-3.333	ns
25	JAIME CAMACHO	20.0	ns	-80.0	*
26	MAXSEED	36.833	*	-63.167	*
27	MONSANTO	68.131	*	-31.869	*
28	NOVASEM	76.833	*	-23.167	*
29	PIONEER	35.961	*	-64.039	*
30	SEMILLAS AMANECER	59.584	*	-40.416	*
31	SEMILLAS BERENTZ	67.5	*	-32.5	*
32	SEMILLASMAX	20.0	ns	-80.0	*
33	SEMILLASRICA	34.636	*	-65.364	*
34	SEMILLAS-ALSA	93.75	*	-6.25	ns
35	SYNGENTA	25.0	*	-75.0	*
36	TAYLOR	5.555	ns	-94.445	*
37	TROPICOSEEDS	65.0	*	-35.0	*
38	UDEG (Testigo)	55.42.9	*	-44.571	*
39	UNISEM	17.667	ns	-82.333	*
40	VITA 755	20.0	ns	-80.0	*
41	ZARCO	87.5	*	-12.5	ns

Tabla 5 Promedios de llenado de grano en mazorca de los híbridos comerciales con probador hembra dominantes (Gal-S) y prueba de Dunnett al 0.05 de probabilidad

No.	Institución/Empresa	N ¹	Promedio	Desv. Std.
1	AGROSIMI	5	0.00	0.00
2	AGROZENAY	2	0.00	0.00
3	AGRYVEN S. DE R.	6	0.00	0.00
4	ASPROS	7	16.44	21.97
5	CALORO	1	0.00	.
6	CERES	16	4.84	10.20
7	CIMMYT	19	5.82	16.12
8	CONLEE	9	1.67	3.54
9	CRISTIANI BURKARD	3	0.00	0.00
10	DAS	2	0.00	0.00
11	DESCONOCIDO	1	0.00	.
12	DOW	2	9.00	12.73
13	EAGLE	8	8.88	24.70
14	EL CAMINO	6	0.00	0.00
15	GARST	3	0.00	0.00
16	GENSEM	4	0.00	0.00
17	GOLDEN HARVEST	7	1.10	2.25
18	HARTZ	8	7.63	12.74
19	ICAMEX	3	20.62	24.71
20	INIFAP	3	0.00	0.00

21	INIFAP-IGUALA	6	0.00	0.00
22	INIFAP-JALISCO	6	0.00	0.00
23	INIFAP-V-ALTOS	6	19.75	28.74
24	INIFAP??	1	0.00	.
25	JAIME CAMACHO	1	0.00	.
26	MAX SEED	2	0.00	0.00
27	MONSANTO	43	4.91	13.13
28	NOVASEM	2	0.00	0.00
29	PIONEER	50	0.54	2.45
30	SEMILLAS ALSA	1	0.00	.
31	SEMILLAS AMANECER	4	0.42	0.84
32	SEMILLAS BERENTZ	3	3.33	5.77
33	SEMILLAS MAX	2	0.00	0.00
34	SEMILLAS RICA	8	0.00	0.00
35	SYNGENTA	4	0.00	0.00
36	TAYLOR	1	0.00	.
37	TROPICO SEEDS	2	0.00	0.00
38	UDEG	2	0.00	0.00
39	UNISEM	3	0.00	0.00
40	ZARCO	1	0.00	.

Tabla 6 Promedios en el llenado de grano en mazorca de los híbridos comerciales con probadores hembra dominante del locus de incompatibilidad tcb1 (De acuerdo a la prueba de Dunnett)

	Gal-m (%)	gal (%)
Pioneer	42.6	57.4
Monsanto	76.9	23.1
Dow	100.0	0.0

Tabla 7 Porcentajes de los alelos Gal-m y gal de tres empresas que están solicitando liberación de híbridos transgénicos en México

Agradecimiento

Al agradecimiento a la SEP-SES (Subsecretaría de Educación Superior de la SEP) por el apoyo recibido, bajo el convenio PROMEP/103.5/12/3537.

Conclusiones

Las barreras genéticas expresadas en los diferentes probadores debidas a los alelos Gal-S y Tcb1-S, no son afectadas por efectos ambientales. Las diferencias observadas entre probadores se atribuyen a la presencia de modificadores o inhibidores de la acción de dichos genes.

Ninguno de los genes responsables de la incompatibilidad no recíproca se encontró en los híbridos comerciales de maíz evaluados, sin embargo, debido a la presencia en altas proporciones del alelo neutro Gal-m, las barreras existentes en las razas de maíz, poblaciones y criollos además del teocintle pueden ser no suficientes para evitar el flujo genético no deseado.

Las frecuencias

Referencias

- DE LA CRUZ L.L. 2007. Sistemas de incompatibilidad genética en maíz y teocintle (*Zea spp.*) en México. Tesis de doctorado. Posgrado en ciencias agrícolas y forestales. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. 81 p.
- DE LA CRUZ L.L., J.J. SÁNCHEZ G., J. RON P., F. SANTACRUZ R., E. RODRÍGUEZ G., J. A. RUÍZ C. y M.M. MORALES R. 2008. Probadores de maíz para factores de incompatibilidad gametofítica. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31: 341-349.
- DEMEREC M. 1929. Cross-sterility in maize. *Z Indukt Abstammungs-Vererbungs.* 50: 281-291.
- ELLSTRAND N. C. 1997. Evaluating the risks of transgene flow from crops to wild species. In: *Gene flow among maize landraces, improved maize varieties, and teosinte: implications for transgenic maize.* J.A. Serratos, M.C. Willco, and F. Castillo-González (eds.). Mexico, D.F. CIMMYT. pp. 81-84.
- EMERSON R.A. 1934. Relation of the differential fertilization genes, *Ga ga*, to certain other genes of the Su-Tu lineage group of maize. *Genetics* 19: 137-156
- EVANS M.M.S. and J.L. KERMICLE. 2001. Teosinte crossing barrier-1, a locus governing hybridization of teosinte with maize. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 259-265.
- KERMICLE J.L. 1997. Cross compatibility within the genus *Zea*. In: *Gene flow among maize landraces, improved maize varieties, and teosinte: implications for transgenic maize.* Serratos, Willcox and Castillo (Eds). Mexico, D.F. CIMMYT. pp. 40-43.
- KERMICLE J.L. 2001. Genetic barriers that restrict hybridization in corn and teosinte. *Annual Corn and Sorghum Seed Research Conference* 56:17-24.
- KERMICLE J.L. 2006. A selfish gene governing pollen-pistil compatibility confers reproductive isolation between maize relatives. *Genetics* 172: 499-506.
- KERMICLE J.L. and J.O. ALLEN. 1990. Cross-incompatibility between maize and teosinte. *Maydica* 35: 399- 408.
- KERMICLE J.L. and M.M.S. EVANS. 2005. Pollen-pistil barriers to crossing in maize and teosinte result from incongruity rather than active rejection. *Sexual Plant Reproduction* 18: 187-194.
- MANGELSDORF P.C. and D.F. JONES. 1926. The expression of Mendelian factors in the gametophyte of maize. *Genetics* 11: 423-455.
- MOYLE L.C. and E.B. GRAHAM. 2005. Genetics of hybrid incompatibility between *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum*. *Genetics* 169: 355-373.
- NASRALLAH J.B., J.C. STEIN, M.K. KANDASAMY and M.E. NASRALLAH. 1994. Signaling the arrest of pollen tube

development in self-incompatible plants. *Science* 266: 1505-1507.

NELSON O.E. 1953. A genic substitute for isolation in hybrid corn seed production. *Economic Botany* 7: 382-384.

NELSON O.E. 1996. The gametophyte factors of maize. In: *The maize Handbook*. M. Freeling & V. Walbot (Eds.). Springer-Verlag. p. 496-453.

SAS INSTITUTE INC. 2009. SAS/STAT ® 9.2. User's guide, second edition. Cary, N. C.: SAS Institute Inc.

SANCHEZ A. M., M. BOSCH, M. BOTS, J. NIEUWLAND, R. FERON and C. MARIANI. 2004. Pistil factors controlling pollination. *Plant Cell* 16: S98-S106.

SCHWARTZ D. 1950. The analysis of case of cross sterility in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 36: 719-724.

SMALE M. and T. McBRIDE. 1996. Understanding global trends in the use of wheat diversity and international flows of wheat genetic resources. Part 1 of CIMMYT 1995/96 world wheat facts and trends: understanding global trends in the use of wheat diversity and international flows of wheat genetic resources. Mexico, D.F.: CIMMYT. pp. 1-32.

URETA M. S., M. CANTAMUTTO, A. CARRERA, C. DELUCCHI and M. POVERENE. 2008. Natural hybrids between cultivated and wild sunflowers (*Helianthus* spp.) in Argentina. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55: 1267-1277.

Instrucciones para Autores

[Titulo en Times New Roman y Negritas No.14]

Apellidos en Mayusculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayusculas -2do Nombre de Autor
Correo institucional en Times New Roman No.10 y Cursiva

(Indicar Fecha de Envio:Mes,Dia, Año); Aceptado(Indicar Fecha de Aceptación: Uso Exclusivo de ECORFAN)

Resumen

Titulo

Objetivos, metodología

Contribución

(150-200 palabras)

Abstract

Title

Objectives, methodology

Contribution

(150-200 words)

Keyword

Indicar (3-5) palabras clave en Times New Roman y Negritas No.11

Cita: Apellidos en Mayúsculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayusculas -2do Nombre de Autor. Titulo del Paper. Título de la Revista. 2015, 1-1: 1-11 – [Todo en Times New Roman No.10]

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Instrucciones para Autores

Introducción

Texto redactado en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Explicación del tema en general y explicar porque es importante.

¿Cuál es su valor agregado respecto de las demás técnicas?

Enfocar claramente cada una de sus características

Explicar con claridad el problema a solucionar y la hipótesis central.

Explicación de las secciones del artículo

Desarrollo de Secciones y Apartados del Artículo con numeración subsecuente

[Título en Times New Roman No.12, espacio sencillo y Negrita]

Desarrollo de Artículos en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Inclusión de Gráficos, Figuras y Tablas-Editables

En el *contenido del artículo* todo gráfico, tabla y figura debe ser editable en formatos que permitan modificar tamaño, tipo y número de letra, a efectos de edición, estas deberán estar en alta calidad, no pixeladas y deben ser notables aun reduciendo la imagen a escala.

[Indicando el título en la parte inferior con Times New Roman No.10 y Negrita]

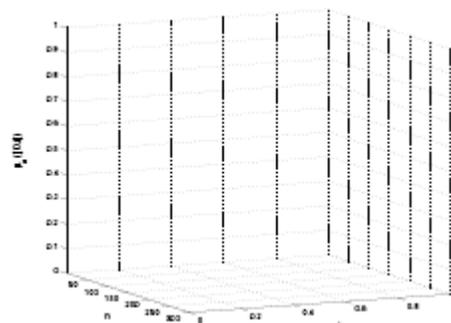


Grafico 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

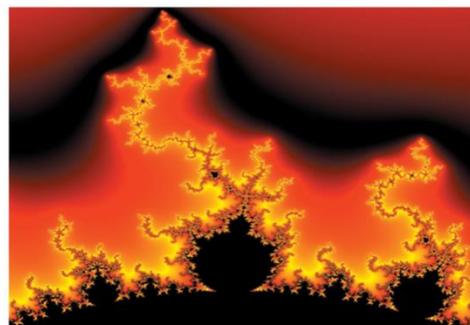


Figura 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

Tabla 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

Cada artículo deberá presentar de manera separada en **3 Carpetas**: a) Figuras, b) Gráficos y c) Tablas en formato .JPG, indicando el número en Negrita y el Titulo secuencial.

Instrucciones para Autores

Para el uso de Ecuaciones, señalar de la siguiente forma:

$$Y_{ij} = \alpha + \sum_{h=1}^r \beta_h X_{hij} + u_j + e_{ij} \quad (1)$$

Deberán ser editables y con numeración alineada en el extremo derecho.

Metodología a desarrollar

Dar el significado de las variables en redacción lineal y es importante la comparación de los criterios usados

Resultados

Los resultados deberán ser por sección del artículo.

Anexos

Tablas y fuentes adecuadas.

Agradecimiento

Indicar si fueron financiados por alguna Institución, Universidad o Empresa.

Conclusiones

Explicar con claridad los resultados obtenidos y las posibilidades de mejora.

Referencias

Utilizar sistema APA. **No** deben estar numerados, tampoco con viñetas, sin embargo en caso necesario de numerar será porque se hace referencia o mención en alguna parte del artículo.

Ficha Técnica

Cada artículo deberá presentar un documento Word (.docx):

Nombre de la Revista

Título del Artículo

Abstract

Keywords

Secciones del Artículo, por ejemplo:

1. *Introducción*
2. *Descripción del método*
3. *Análisis a partir de la regresión por curva de demanda*
4. *Resultados*
5. *Agradecimiento*
6. *Conclusiones*
7. *Referencias*

Nombre de Autor (es)

Correo Electrónico de Correspondencia al Autor

Referencia

Formato de Originalidad



Sucre, Chuquisaca ____ de ____ del 20 ____

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables por lo que deberán firmar los autores antes de iniciar el proceso de revisión por pares con la reivindicación de ORIGINALIDAD de la siguiente Obra.

Artículo (Article):

Firma (Signature):

Nombre (Name)

Formato de Autorización



Sucre, Chuquisaca ____ de ____ del 20 ____

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables. En caso de ser aceptado para su publicación, autorizo a ECORFAN-Bolivia a difundir mi trabajo en las redes electrónicas, reimpresiones, colecciones de artículos, antologías y cualquier otro medio utilizado por él para alcanzar un mayor auditorio.

I understand and accept that the results of evaluation are inappealable. If my article is accepted for publication, I authorize ECORFAN-Bolivia to reproduce it in electronic data bases, reprints, anthologies or any other media in order to reach a wider audience.

Artículo (Article):

Firma (Signature)

Nombre (Name)

Revista de Sistemas Experimentales

“Análisis bioinformático de cpDNA en seis especies del género *Adiantum*”

MINJAREZ, Benito & MACÍAS-RODRÍGUEZ, Miguel Ángel
Universidad de Guadalajara

“Análisis documental comparativo de materiales cerámicos de recubrimiento para uso dental”

SALGADO-ALDÉS, Alberto, FLORES-CORTEZ, Mauro Arturo, CUEVAS-GONZÁLEZ, Blanca Gabriela y DELGADILLO G., Patricia

“Carga parasitaria de ovinos (*Ovis aries*) manejados en sistemas de producción estabulado y pastoreo en áreas irrigadas con aguas residuales”

SÁNCHEZ-HERRERA, Susana, HERNÁNDEZ-BAUTISTA, Julio, NOGUEZ-ESTRADA, Juan y RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, Nellybeth

“La mezcla anestésica Ketamina-Xilacina afecta la función ovárica e incide en el ciclo estral de la rata”

MORÁN, José Luis, HANDAL, Anabella, DÍAZ, Alfonso y PAVÓN, Selyna

Instituto de Ciencias
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Universidad Realística de México

“Obtención de biogás a base de biomasa de nopal a nivel laboratorio (*Opuntia ficus -índica*) variedad *Atlixco*”

ARREGUIN, Javier, RAMOS, Maribel, CARAPIA, Isaias y LEZAMA Paulina

“Producción de materia seca de *Leucaena leucocephala* y vegetación herbácea en un banco de proteína pastoreada por ovinos”

ROMÁN-MIRANDA, María Leonor, PALMA-GARCÍA, José Manuel, ZORRILLA-RIOS José Manuel y MORA-SANTACRUZ, Antonio

“Sistemas de incompatibilidad genética de híbridos comerciales de maíz”

PADILLA-GARCÍA, J.M., DE LA CRUZ-LARIOS, L., AVENDAÑO-LÓPEZ, A.N. y SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J.

Universidad de Guadalajara

