

Ciencias Biológicas y de la Salud

Proceedings T-I

Trejo-Macotela, Francisco Rafael

Coordinador

Ciencias Biológicas y de la Salud

Volumen I

ECORFAN Ciencias Biológicas y de la Salud

El Proceedings ofrecerá los volúmenes de contribuciones seleccionadas de investigadores que contribuyan a la actividad de difusión científica de la Universidad Politécnica de Pachuca para su área de investigación en la función de la Universidad ante los retos de la Sociedad del Conocimiento. Además de tener una evaluación total, en las manos de los directores de la Universidad Politécnica de Pachuca se colabora con calidad y puntualidad en sus capítulos, cada contribución individual fue arbitrada a estándares internacionales (RENIECYT – LATINDEX – DIALNET – ResearchGate – DULCINEA – CLASE – Sudoc – HISPANA – SHERPA – UNIVERSIA – REBID -eREVISTAS-ScholarGoogle-DOI-Mendeley), el Proceedings propone así a la comunidad académica, los informes recientes sobre los nuevos progresos en las áreas más interesantes y prometedoras de investigación en la función de la Universidad ante los retos de la Sociedad del Conocimiento.

Trejo-Macotela, Francisco Rafael

Editor

Ciencias Biológicas y de la Salud
Proceedings T-I

Universidad Politécnica de Pachuca - México. Diciembre, 2017.

ECORFAN®

Trejo-Macotela, Francisco Rafael

Director

® Universidad Politécnica de Pachuca

ISBN: 978-607-8534-49-4

Sello Editorial ECORFAN: 607-8534

Número de Control PCBS: 2017-12

Clasificación PCBS (2017): 111217-0101

©ECORFAN-México, S.C.

Ninguna parte de este escrito amparado por la Ley Federal de Derechos de Autor ,podrá ser reproducida, transmitida o utilizada en cualquier forma o medio, ya sea gráfico, electrónico o mecánico, incluyendo, pero sin limitarse a lo siguiente: Citas en artículos y comentarios bibliográficos ,de compilación de datos periodísticos radiofónicos o electrónicos. Para los efectos de los artículos 13, 162,163 fracción I, 164 fracción I, 168, 169,209 fracción III y demás relativos de la Ley Federal de Derechos de Autor. Violaciones: Ser obligado al procesamiento bajo ley de copyright mexicana. El uso de nombres descriptivos generales, de nombres registrados, de marcas registradas, en esta publicación no implican, uniformemente en ausencia de una declaración específica, que tales nombres son exentos del protector relevante en leyes y regulaciones de México y por lo tanto libre para el uso general de la comunidad científica internacional. PCBS es parte de los medios de ECORFAN-México, S.C, E:94-443.F:008-(www.ecorfan.org)

Prefacio

La Universidad Politécnica de Pachuca como Institución de Educación Superior de tipo pública, se encuentra obligada a generar procesos de conservación, transferencia y divulgación del conocimiento, esto como parte de las actividades sustantivas de las y los académicos universitarios.

El SIMCI, en su emisión 2017, tiene como objetivo difundir nuevas ideas y visiones en materia de Ciencia, Tecnología e Innovación provenientes de trabajos teóricos y experimentales, así como de prototipos, diseños y herramientas, esto a través de conferencias magistrales, presentaciones orales, carteles y talleres dictados por expertos nacionales e internacionales, con la finalidad de contribuir al progreso de la región, estado y país.

Las obras reúnen un conjunto de trabajos de análisis, ensayos, resultados de investigación en torno a la función de la docencia en la Universidad y los retos que ésta enfrenta ante la Sociedad del Conocimiento, se agradece la participación de todas y todos en la construcción de esta primera edición, por lo que cada colaborador se hace responsable de su obra independiente.

*Trejo-Macotela, Francisco Rafael
Coordinador*

Este volumen contiene 7 capítulos arbitrados que se ocupan de estos asuntos en Ciencias Biológicas y de la Salud.

Como primer capítulo, *Pineda, Medina, Tellez, Ramirez, Villanueva, Lucho, Trejo y Jimenez*, opresentan Ultrasonificación de baja frecuencia aplicada a la producción biológica de hidrógeno; *Ortega, Coronel, Lizárraga, Beltrán, Lucho y Vázquez*, presentan Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables fotocatalíticos; *Rivera, Gracia, Coronel, Beltrán, Lucho, Villanueva, Jaramillo y Vázquez*, presentan Aislamiento y caracterización de una bacteria oxidadora de Mn proveniente de agua subterránea de Santa Cruz, Hgo., México, afectada por contaminación geogénica; *Castañeda, Mercado, Téllez, Mendoza, Anducho*, presentan, Efectos benéficos de *Trichoderma* y su regulación de la expresión génica de celulasas y hemicelulasas; *Mendoza, Hernández, Gómez y Gómez*, presentan, Alimentos funcionales de la región del Altiplano y su capacidad antioxidante; *Vázquez, Chío, Sánchez, Cortes, Subervier, Ahumada y González*, presentan, Prácticas basadas en valores e implementación de Tecnologías de la Información y Comunicación en la Asignatura Cardiorrespiratoria en el programa educativo de la Licenciatura en Terapia Física de la Universidad Politécnica de Pachuca; Como último capítulo *Velázquez, Mercado, Téllez, M. Ayala, Hernández, Álvarez*, presentan Nutrición Ovina: Quisiéramos agradecer a los revisores anónimos por sus informes y muchos otros que contribuyeron enormemente para la publicación en éstos procedimientos repasando los manuscritos que fueron sometidos. Finalmente, deseamos expresar nuestra gratitud a la Universidad Politécnica de Pachuca en el proceso de preparar esta edición del volumen.

Contenido	Pág
Ultrasonicación de baja frecuencia aplicada a la producción biológica de hidrógeno	1-12
Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables fotocatalíticos	13-20
Aislamiento y caracterización de una bacteria oxidadora de Mn proveniente de agua subterránea de Santa Cruz, Hgo., México, afectada por contaminación geogénica	21-35
Efectos benéficos de Trichoderma y su regulación de la expresión génica de celulasas y hemicelulasas	36-55
Alimentos funcionales de la región del Altiplano y su capacidad antioxidante	56-62
Prácticas basadas en valores e implementación de Tecnologías de la Información y Comunicación en la Asignatura Cardiorrespiratoria en el programa educativo de la Licenciatura en Terapia Física de la Universidad Politécnica de Pachuca	63-76
Nutrición Ovina	77-95
Apéndice A. Consejo Editor Universidad Politécnica de Pachuca	96-98
Apéndice B. Consejo Editor ECORFAN	99-100

Ultrasonificación de baja frecuencia aplicada a la producción biológica de hidrógeno

Cuauhtémoc Francisco Pineda Muñoz, Sergio Alejandro Medina Moreno, Alejandro Téllez Jurado, María del Rocío Ramírez Vargas, Maricela Villanueva Ibáñez, Carlos Alexander Lucho Constantino, Gloria Maribel Trejo Aguilar y A. Jiménez González

C.Pineda, S.Medina, A.Tellez, M.Ramirez, M.Villanueva, C.Lucho, G.Trejo y A.Jimenez
Universidad Politécnica de Pachuca
ajimenez@upp.edu.mx

F. Trejo, (eds.). Ciencias Biologicas y de la Salud, Proceedings-©ECORFAN-México, Pachuca, 2017.

Abstract

Biological hydrogen production processes have the potential to generate an ideal biofuel with the highest energy content and without CO₂ emissions. However, to achieve industrial application, it requires improvement of H₂ production rate, H₂ yield and the generation of stable and active inoculum at large-scale. Low frequency ultrasound may be fundamental in the development of the process due to various beneficial effects such as improvements in; mass transfer, beneficial bacterial activity, detrimental bacterial inhibition and many others. The present chapter summarized the state of the art of the use of ultrasonication to increase the biological production of hydrogen. Especially in the dark fermentation process and in the pretreatment of the inoculum. Different reports show that ultrasound can increase biological hydrogen production. However, their results differ considerably in the optimal operating conditions reported. Furthermore the specific mechanisms of action remain unclear. The clarification of these phenomena will contribute to the improvement in the overall process.

Ultrasonicación, ultrasonido de baja frecuencia, pretratamiento de inóculo, producción biológica de hidrógeno

Introducción

Actualmente, el rápido incremento en la demanda de energía a nivel mundial es abastecido principalmente por combustibles fósiles (Argun & Dao, 2017). En el 2013, los hidrocarburos aportaron más del 81% de la demanda de energía primaria a nivel mundial (Bundhoo & Mohee, 2016). Sin embargo, son una fuente no renovable de energía que causa impactos negativos de gran importancia en el suelo, agua, aire y en el clima (Azwar, Hussain & Abdul-Wahab, 2014). Además, el agotamiento de los combustibles fósiles y el incremento en las emisiones de gases de efecto invernadero han provocado un incremento en la demanda de energías limpias (Chong, Sen, Kayaalp & Ang, 2012). Debido a lo anterior, la exploración de energías alternativas y amigables con el ambiente como el hidrógeno (H₂) se consideran de gran importancia (Argun & Dao, 2017).

El gas de hidrógeno (H₂) es un combustible idóneo debido a que es sustentable, renovable y posee alto contenido energético, además, en su combustión no genera emisiones de CO₂, sólo produce calor y vapor de agua (Gokfiliz & Karapinar, 2017; Lutpi, Jahim, Mumtaz, Harun & Abdul, 2016). En la actualidad, el 96% del H₂ producido se obtiene a partir del reformado de vapor de gas natural (Meoruani & Hamdaoui, 2016), el cual depende de los hidrocarburos. Una alternativa son los procesos biológicos como la biofotólisis de agua, la fotofermentación y la fermentación oscura de materia orgánica. De los anteriores, la fermentación oscura es la tecnología con aplicación más práctica y con la tasa de producción más alta.

Sin embargo esta tecnología aún no se encuentra disponible en el mercado, esto se debe a la necesidad de mejorar la eficiencia, la tasa de producción y los rendimientos del proceso. También requiere de grandes cantidades de inóculo con actividad biológica y estable (Chang, Li & Liu, 2011; Elbeshbishy, Hafez & Nakhla, 2011; Hsu & Lin 2016). Debido a lo anterior, se investiga actualmente de manera intensa, el desarrollo de métodos que permitan mejorar la producción biológica de hidrógeno en términos económicos, ambientales, de consumo de energía, de calidad del producto y para disminuir el tiempo de procesamiento (Gogate & Kabadi, 2009). Una tecnología que puede contribuir a la producción de biológica de H₂ (PBH) es el ultrasonido de baja frecuencia (UBF), en donde se han desarrollado 3 estrategias principales:

1. El pretratamiento de inóculo: Generalmente en la PBH se utilizan consorcios microbianos en lugar de cultivos puros, debido a que suelen ser más eficientes y prácticos. Sin embargo la mayor desventaja de los consorcios es la coexistencia de bacterias productoras de H₂ (BPH) y bacterias consumidoras de H₂ (BCH). En este sentido, la ultrasonicación puede utilizarse para inhibir a las BCH mientras mantiene o incluso incrementar la actividad de las BPH (Bundhoo & Mohee, 2016).
2. El pretratamiento de sustrato: En la PBH se pueden utilizar desechos orgánicos como materia prima, los cuales son ampliamente disponibles y relativamente baratos. Entre ellos se encuentran los residuos lignocelulolíticos, los cuales se componen principalmente de polímeros de carbohidratos (celulosa, hemicelulosa) y polímeros aromáticos (lignina). Sin embargo, debido a su estructura, presentan una tasa de biodegradación muy lenta. Esta estructura puede debilitarse mediante el uso de UBF, facilitando su consumo por las BPH (Eker & Sarp 2017; Argun & Dao 2017).
3. Mediante el uso de sonobiorreactores: Durante el proceso de fermentación es posible acoplar diferentes tipos de reactores con un instrumento sónico (sonobiorreactor), el cual puede, además de otorgar las 2 estrategias antes mencionadas, incrementar la transferencia de masa debido a un incremento en la agitación del medio (Chisti, 2003).

Otras ventajas del UBF son que no requiere reactivos químicos, presenta una elevada eficiencia energética y reduce el tiempo de procesamiento en comparación con otras técnicas convencionales, además su desempeño es económicamente factible. Debido a lo anterior se considera como una energía amigable con el ambiente (Rokhina, Lens & Virkutyte, 2009). En este capítulo, se presentan los fundamentos de la ultrasonicación, aplicaciones y antecedentes del ultrasonido de baja frecuencia en la producción biológica de hidrógeno.

Generación de la potencia ultrasónica y fundamentos de la ultrasonicación

El ultrasonido es un sonido que se encuentra por encima de la capacidad del oído humano. El cual puede clasificarse en dos tipos (Tabla 1.1), dependiendo de la frecuencia utilizada y del área de aplicación (Chisti 2003; Kwiatkowska, Bennet, Akunna, Walker, & Bremner, 2011). La frecuencia de ultrasonido se refiere al número de repeticiones o ciclos de las ondas sónicas por segundo. La energía que se ingresa en el fluido depende la intensidad, la cual relaciona diversas variables; la velocidad de la onda, la densidad del fluido y la diferencia de presión alcanzada en las etapas de la cavitación (Chisti, 2003).

Tabla 1.1 Clasificación de la ultrasonicación

Parámetro	Baja frecuencia	Alta frecuencia
Rango de Frecuencia	20-100 kHz	2-10 MHz
Energía	Alta	Baja
Nombre	Ultrasonido convencional	Rango extendido o diagnóstico ultrasónico
Aplicaciones	Limpieza, soldadura y sonoquímica	Imágenes médicas y análisis químicos

Fuente: Datos a partir de Chisti (2003); Kwiatkowska et al., (2011)

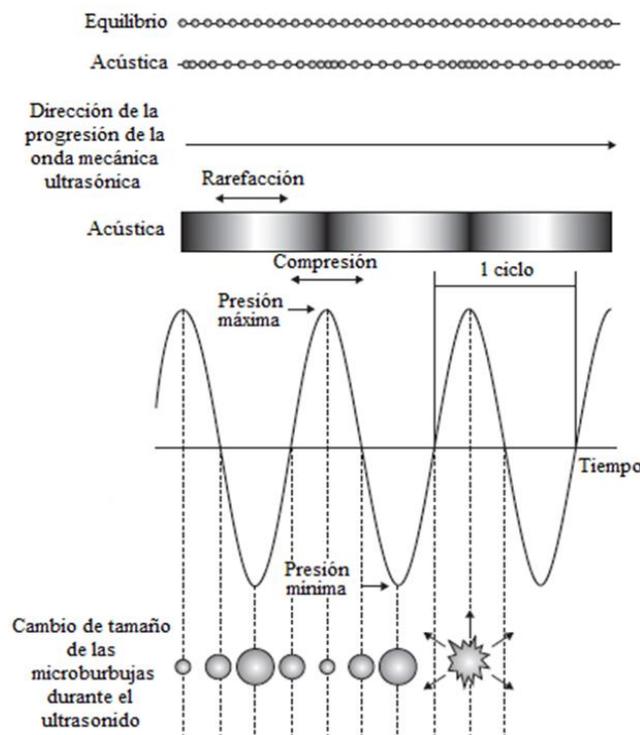
La energía sónica se obtiene a partir de la transformación de la energía eléctrica mediante un transductor sónico. Existen dos tipos de transductores de uso común, los piezoeléctricos y los magnetostrictivos, en donde los primeros son los más utilizados (Tiwari & Mason, 2012). La razón por la cual se considera al ultrasonido como una fuente de energía notable se debe al fenómeno de cavitación acústica.

En donde, el ultrasonido se transmite mediante ondas acústicas que de forma alternada, extienden y comprimen la estructura molecular del medio a través del cual pasan. Estas etapas se conocen como *rarefacción* y *compresión* (Elbeshbishy & Nakhla, 2011).

1. **Rarefacción:** En esta fase, se genera una presión negativa lo suficientemente fuerte para superar las fuerzas de atracción intermoleculares, en donde, un volumen muy pequeño del medio líquido pasa a un estado gaseoso en forma de cavidades diminutas también llamadas microburbujas.
2. **Compresión:** En esta fase, las microburbujas de gas son comprimidas pero no desaparecen.

La Figura 1.1, muestra como durante ciclos sucesivos de rarefacción y compresión, las microburbujas pueden incrementar su tamaño hasta alcanzar un nivel inestable en donde colapsan violentamente, liberando una gran cantidad de energía. Durante este colapso se puede alcanzar temperaturas de hasta 5,000°C y presiones de hasta 2,000 atmósferas. Otros efectos importantes son la generación de enormes fuerzas cortantes debidas a la onda de choque producida por la implosión de las microburbujas y la generación de diferentes especies de radicales libres, producto de la fragmentación del solvente. Finalmente, si las microburbujas colapsan cerca de una superficie sólida, sufren de una implosión asimétrica. En donde, el espacio de la microburbuja no puede ocuparse por el lado en contacto con la superficie sólida y es principalmente ocupado por el lado en contacto con el medio líquido. Lo anterior genera un microjet líquido, el cual puede causar daño a la superficie sólida, incrementar la penetración del solvente dentro de una superficie porosa e incrementar la transferencia de calor y de masa desde y hacia la superficie. Si la superficie sólida se encuentra en forma de polvo, entonces la sonicación puede causar la ruptura de la partícula, disminuyendo su tamaño y la dispersión de partículas finas a través del medio (Chisti, 2003; Braguglia, Gianico & Mininni, 2010; Elbeshbishy & Nakhla, 2011; Tiwari & Mason, 2012; Mason, Chemat & Ashokkumar, 2015).

Figura 1.1 Cavitación ultrasónica



Método de cuantificación de la energía ultrasónica

Uno de los requisitos más importantes en la utilización del ultrasonido en la PBH es la necesidad de encontrar la cantidad apropiada de energía acústica aplicada al medio así como utilizar un parámetro de sonicación adecuado que represente esta energía. Casi todos los instrumentos ultrasónicos tienen la capacidad para variar la potencia generada.

Por ejemplo, la amplitud de la vibración del transductor. Sin embargo, este parámetro no es una medida de la energía neta que ingresa al medio (Tiwari & Mason, 2012). En algunos casos, sólo se reporta el valor de la energía eléctrica (W) del instrumento ultrasónico, sin embargo este valor es mayor a la energía que ingresa al sistema. En otros casos la falta la información acerca del volumen sonicado hace imposible el cálculo de la energía específica. Cuando la intensidad se reporta en forma de $W\ m^{-2}$, el área de la punta del transductor debe de conocerse para calcular la energía entregada a un volumen de sistema determinado (Chisti, 2003). La potencia ultrasónica o la intensidad son factores importantes que se han utilizado como una medida del poder ultrasónico en la sonoquímica. Sin embargo dependen de la eficiencia en la conversión energética del transductor del equipo, es decir, equipos con diferente eficiencia de conversión aplicarán diferente energía aun cuando la intensidad, frecuencia y tiempo de exposición sea el mismo (Koda, Kimura, Kondo & Mitome, 2003).

Una de las formas de medir la energía que ingresa a un sistema, es mediante el método de calorimetría. Este método permite el cálculo de la energía específica E_S , el cual es útil para realizar la comparación de los resultados obtenidos con la sonicación a través de diferentes condiciones de operación y considerando a la energía transferida al sistema, el volumen de la muestra sonicada y el tiempo de sonicación. A partir del valor de la potencia (P , medido en W) y el volumen de la muestra a tratar (V , medido en L) calcula a la intensidad (I), como la relación $I=P/V$ en unidades de $W\ L^{-1}$. La energía específica se calcula al multiplicar a I por el tiempo de duración del tratamiento, $E_S = I \times t$. Esta se expresa en unidades de $W\ s\ L^{-1}$, $J\ L^{-1}$ o $kJ\ L^{-1}$ (Foladori, Laura, Gianni & Giuliano, 2007).

Antecedentes del ultrasonido en sistemas biológicos

El primer antecedente acerca de los efectos del ultrasonido en seres biológicos fue reportado por (Wood & Lomis, 1928). Observaron que la ultrasonicación a una frecuencia entre 100-700 kHz, era capaz de matar formas de vida inferiores (ranas y peces pequeños) mientras que bacterias sobrevivían. Un año después Harvey y Loomis reportaron que bajo condiciones apropiadas, el ultrasonido a una frecuencia aproximada de 400 kHz era capaz de matar bacterias luminosas en agua a 19°C. Sin embargo consideraron que el método era demasiado caro para utilizarse de forma práctica o comercial (Harvey & Loomis, 1929).

Posteriormente, en la década de los 60s, la industria comenzó a utilizar al ultrasonido como método de limpieza, lo cual ocasionó un rápido desarrollo y por ende una reducción en el costo del equipo. Surgieron los primeros baños ultrasónicos y fue entonces cuando diferentes laboratorios de biología y bioquímica comenzaron a utilizar a la sonoquímica, básicamente para la ruptura celular, gracias a la mayor disponibilidad de equipos ultrasónicos (Leonelli & Mason, 2010; Ojha, Mason, O'Donnell, Kerry & Tiwari, 2017). Fue también es esa época cuando los mecanismos específicos de desactivación de los microorganismos debido a la ultrasonicación comenzaron a reportarse. Se observó que la inactivación de microorganismos depende de diferentes parámetros como; la temperatura, la frecuencia de ultrasonido y la potencia acústica. Además se obtenían diferentes resultados dependiendo del tipo de microorganismo bajo estudio (Kurorawa et al., 2016). En 2003, se reportó el efecto de diferentes parámetros ultrasónicos como la frecuencia (desde 20 hasta 850 kHz), la potencia acústica y el tiempo de exposición en la muerte de bacterias.

Donde observaron un aumento en el porcentaje de muerte de *Bacillus* al incrementar el tiempo de exposición y la intensidad del ultrasonido en una frecuencia baja (entre 20 y 38 kHz) mientras que a mayor frecuencia (desde 512 hasta 850 kHz) se observó la desagrupación de bacterias (Mason, 2007). A partir entonces el uso de la ultrasonificación puede dividirse en dos grandes áreas, su uso para la ruptura celular y su uso para incrementar la actividad biológica.

Aplicación del ultrasonido en la ruptura celular

Desde la década de los 60's hasta nuestros días, la ultrasonificación ha sido principalmente utilizada en la ruptura de células y en la industria de los alimentos (Mason, Chemat & Ashokkumar, 2015). La disrupción celular mediante ultrasonido (a 20 kHz o 40 kHz) ha servido para liberar enzimas intracelulares y organelos con aplicación en la industria y en la medicina (Ojha, et al., 2017). Los efectos moleculares del ultrasonido que permiten la desintegración de la célula se ilustran en la Fig. 2.1 (Rokhina, Lens & Virkutyte, 2009). En donde podemos apreciar tres cambios en la célula inducidos por el ultrasonido; Físicos, químicos y por estrés. Se considera que estos cambios ocasionan la muerte o desactivación biológica de la célula, debido a la lisis de la membrana o pared celular, la ruptura de organelos y enzimas. Además pueden causar la pérdida de material intracelular, la modificación de la carga superficial de la célula y la ruptura de las sustancias poliméricas extracelulares.

Es importante resaltar que diferente tipo de célula, puede responder de forma significativamente diferente en cuanto a su sensibilidad al ultrasonido. Se ha reportado que la tasa de rendimiento de biomasa y la tasa de crecimiento de *Anabaena flos-aquae* (una cianobacteria) se incrementaba, mientras que el mismo tratamiento en *Selenastrum capricornutum* (una microalga) redujo su tasa de crecimiento (Chisti, 2003).

Figura 2.1 Efectos moleculares del ultrasonido de baja frecuencia en células microbianas

Cambios físicos

Térmicos: Pirólisis y combustión

- El daño celular depende de la energía absorbida, la máxima temperatura y el tiempo de exposición. Los daños incluyen lisis parcial o total (i)

Cavitación y fuerzas de corte

- Cambios en las estructuras internas de la célula (ii)
- Modifica la estabilidad de las enzimas (iii)
- Ruptura del núcleo y liberación de ADN (iv)
- Ruptura de sustancias poliméricas extracelulares (v)

Cambios químicos

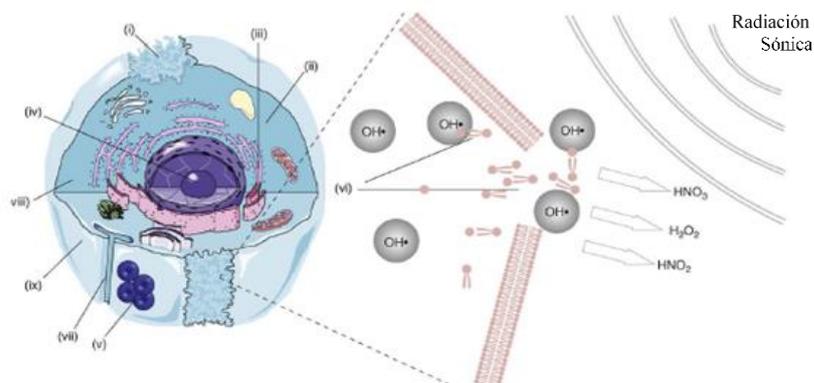
Generación de radicales libres

- Liberación de ácido nítrico, ácido nitroso y peróxido de hidrógeno debido a la interacción entre radicales libres y la célula (vi)
- Disminución de la estabilidad celular (vii)

Cambios inducidos por estrés

Corrientes acústicas

- Incremento en la permeabilidad de la membrana y por ende, en la transferencia de sustrato hacia el interior de la célula (viii)
- Modificación de la carga superficial de la célula (ix)
- Ruptura de la membrana celular (vi)



Fuente: Adaptado de Rokhina, Lens y Virkutyte, 2009

Aplicación del ultrasonido para incrementar la actividad celular

En 1983, Willians reportó que el ultrasonido fue capaz de incrementar la permeabilidad de la membrana celular en microorganismos (Chisti, 2003). A partir de entonces una nueva área de investigación surgió “la utilización del ultrasonido en células vivas a nivel sub letal. En 1992, Sinisterra publicó una revisión acerca de las aplicaciones del ultrasonido en la biotecnología, enfocando su estudio en procesos biotecnológicos que utilizaban células o enzimas libres tratadas con ultrasonido. Encontró experimentos que reportaban el incremento en la actividad biológica de células y enzimas utilizando ultrasonido a un nivel sub letal (Sinisterra, 1992).

Posteriormente, Chisti (2003) publicó una revisión sobre el uso de sonobiorreactores (biorreactores acoplados con un instrumento sónico) para intensificar el desempeño de microorganismos (Kwiatkowska et al., 2011). En el 2004, diferentes autores reportaron que el incremento en la permeabilidad de las membranas podía incrementar el transporte de sustrato hacia el interior de las células, lo cual promovía la actividad del microorganismo (Wang et al., 2012). En 2007, se demostró que el incremento en la actividad biológica no era exclusivo de células y que se podía observar también en la actividad de lodos anaerobios al utilizar ultrasonido de baja intensidad. Consideraban que los efectos producidos se debían al daño que sufrían las células, los cuales incrementaban la permeabilidad de la célula, la selectividad de la membrana y pared celular e incrementaba la actividad de las enzimas y el metabolismo de las células (Xie, Liu & Yan, 2007).

En 2009, se observó que el ultrasonido también podía incrementar la solubilidad de sustancias y que este podía modificar el metabolismo de un consorcio y la biodegradabilidad de un lodo (Liu et al., 2009). En el 2010, se publicó un estudio en donde utilizaron ultrasonido para incrementar la producción de biogás y la reducción del tiempo de digestión anaerobia de flóculos y gránulos anaerobios (Xu, Chen, Shi, Wang & Zhu, 2010).

Ultrasonido de baja frecuencia en la producción biológica de hidrógeno

Guo, Kim, Sung y Lee, (2010) evaluaron el efecto del pretratamiento ultrasónico en la producción de H₂, utilizando lodo anaerobio de digestión pretratado con choque térmico a una temperatura de 90°C durante 15 min y sacarosa como sustrato, encontró condiciones óptimas con un tiempo de sonicación de 10 s y una intensidad de 130 W/L, incrementó la tasa de producción de H₂ en 1.3 veces al aplicar ultrasonido de forma directa en el lodo y 1.48 veces cuando el ultrasonido se aplicó en la solución. reportaron que el tiempo de exposición presentó mayor efecto que la amplitud y que la interacción entre parámetros no era significativa. More y Ghangrekar, (2010) evaluaron el efecto del ultrasonido en un consorcio microbiano anaerobio para la producción de H₂ en celdas de combustible microbianas. Evaluaron tiempos de exposición desde 2.5 hasta 15 min.

Las condiciones óptimas fueron 5 min de exposición a la ultrasonicación, con una frecuencia de 40 kHz y un potencial de ultrasonido de 120 W. Sus observaciones fueron que la combinación de ultrasonido con choque térmico no mejoró la producción de H₂. Elbeshbishy, Hafez y Nakhla, (2010) utilizaron lodo anaerobio como inóculo y glucosa como sustrato, los parámetros principales de estudio fueron el tiempo de exposición y el control de temperatura. Las condiciones óptimas de operación fueron 20 min y temperatura controlada. Aplicaron una energía específica de 79 kJ g⁻¹ TS. Obtuvieron un incremento en la tasa volumétrica del 120% con respecto a un lodo sin tratar y sin fuente de carbono y un incremento del 40% sobre un lodo pretratado con choque térmico. Wang, Fang, Fang y Bu, (2010) compararon los efectos del ultrasonido y de la luz ultravioleta. Utilizaron orujo de manzana como sustrato. Irradiaron de forma directa 30 g de lodo con ultrasonido durante diferentes tiempos (desde 15 hasta 60 min). Utilizando un baño sónico.

La condición óptima fue de 30 min. Ambos tratamientos alcanzaron una producción acumulada máxima de H₂ similar (100 mL g⁻¹ TS). Sin embargo, el tratamiento ultrasónico obtuvo una tasa de producción máxima 22.7% mayor que el tratamiento con luz ultravioleta. Elbeshbishy et al., (2011) reportaron el incremento en la producción de H₂ en reactores de tanque agitado (RTA) en tres sistemas distintos. El primer sistema fue un RTA con desperdicios de comida en la alimentación (control), el segundo sistema fue un RTA con desperdicios de comida sonicados en la alimentación y el tercer sistema fue un sonobiorreactor, el cual consta de un RTA conectado con una probeta ultrasónica en el fondo.

Observaron que la mayor producción de H₂ se obtuvo en el sonobiorreactor. Wang et al., (2012) evaluaron el ultrasonido en un fotobiorreactor. Utilizaron como inóculo a *Rhodospseudomonas palustris* SQK 01. La aplicación del ultrasonido fue intermitente. Las condiciones óptimas se obtuvieron al aplicar 40 W de potencia sónica, intervalos de agitación de 3/ s, una concentración de sustrato de 75 mmol/L a un flujo de 40 ml/h. Observaron que el ultrasonido disminuyó la concentración de H₂ en el medio (desde 300 μmol L⁻¹ a 50 μmol L⁻¹), lo cual implicó que el ultrasonido liberó H₂ gaseoso desde el líquido y disminuyó su presión parcial. Lo cual permitió un incremento en la tasa de producción y del rendimiento de H₂ en 2 veces lo obtenido con un fotobiorreactor convencional. Elbeshbishy, Hafez y Nakhla, (2012) observaron mediante estudios por lote el efecto de la ultrasonicación, como método de pretratamiento de residuos de pulpa. Evaluaron tiempos desde 0.5 min hasta 30 min, en muestras de 100 mL. La condición óptima fue de 30 min de sonicación, en donde se incrementó la máxima cantidad de H₂ producido en 88% (80 mL g⁻¹ SSV), mientras que la tasa máxima de producción de H₂ se incrementó en un 145% en comparación con el control. Yang, Guo, Cao, Zheng y Ren, (2012) evaluaron la reducción concomitante de lodo biológico con la producción de H₂ mediante la comparación de tres tratamientos; Ultrasonido, ozonación y la combinación de ambos. Observaron que la combinación de métodos presentó mayor producción en comparación con los métodos individuales.

Las condiciones óptimas fueron una dosis de 0.1558 g O₃ g⁻¹ SD y una densidad ultrasónica de 1.423 W mL⁻¹. El rendimiento máximo fue de 9.28 mL H₂ g⁻¹SD, la tasa de producción máxima fue de 1.84 mL h⁻¹. Wan y Yin (2017), publicaron una revisión acerca de los diferentes métodos de pretratamiento para enriquecer bacterias productoras de hidrógeno en cultivos mixtos. De un análisis sobre cerca de 150 artículos publicados en los últimos 8 años, sólo el 3.57% ha sido acerca de la ultrasonicación. Lo cual indica que es un área nueva de investigación con amplio potencial.

En la Tabla 2.1, se muestra un análisis comparativo de diferentes reportes sobre la mejora en la producción de H₂ mediante fermentación oscura utilizando ultrasonido como método de pretratamiento de inóculo. Debido a lo anterior se excluyeron los estudios con distinto método de producción biológica, así como los que no estudiaron el efecto en el pretratamiento del inóculo y que se presentaron anteriormente. Las características seleccionadas enfatizan las condiciones óptimas del pretratamiento, la energía específica como parámetro sónico de comparación y los resultados obtenidos en la producción de H₂.

Tabla 2.1 Producción de H₂ mediante fermentación oscura utilizando inóculo mixto pretratado con ultrasonido

Pre tratamiento	Sustrato	Parámetro evaluado	Rango	Valor Óptimo	ES (kJ L-1)	R-H2	Rmax	Pmax	Ref.
US	Sacarosa	Intensidad (W L-1)	100-240	130	1.3c	ND	30% > control, IS	Sin efecto	Guo et al., 2010
		Tiempo de sonicación (s)	3-17	10			48% > control, MS		
US, CT, AC y BA	Glucosa	Tiempo de sonicación (min)	5-40	20	869c	1.55 mol H2/mol glucosa, 121% > control	16.6 mL h-1, 64% > control	382 mL, 117% > control	Elbeshbishy et al., 2010

US y UV	Agua residual de orujo de manzana	Tiempo de sonicación (min)	0-60	30	ND	ND	18.8 mL g ⁻¹ SST h ⁻¹ , 61% > control	104 mL g ⁻¹ SST, 36% > control	Wang et al., 2010
US	Residuos de pulpa	Sitio de sonicación	Inf Reactor	Reactor	ND	332 mL H ₂ /g SSV, 84% > control	4.8 L L ⁻¹ d ⁻¹ , 84% > control	ND	Elbesbshy et al., 2011
CT-US, CT-OZ y CT-US-OZ	Digestión de inóculo	Dosis de ozono (g O ₃ g ⁻¹ SD)	0.05-0.2	0.1558	ND	9.28 mL H ₂ g ⁻¹ SD	1.84 mL h ⁻¹	ND	Yang et al., 2012
		Intensidad (W mL ⁻¹)	0.3-1.5	1.423	5122c				

Energía específica (ES), rendimiento de H₂ (R-H₂), máxima producción de H₂ (R_{max}), producción neta máxima de H₂ (P_{max}), ultrasonido (US), choque térmico (CT), ácido (AC), básico (BA), ultravioleta (UV); ozonación (OZ), combinación choque térmico y ultrasonido (CT-US), combinación choque térmico y ozonación (CT-OZ), combinación choque térmico, ultrasonido y ozonación (CT-US-OZ), sólidos disueltos (SD), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), Influyente (Inf), valores calculados a partir de datos (c), valores no disponibles o no calculables (ND), inóculo sin pretratamiento (control), inóculo sonicado (IS), inóculo-sustrato sonicado (MS).

La mayoría de las investigaciones evaluaron un solo tratamiento y muy pocos han evaluado la combinación del ultrasonido con otro tratamiento. La combinación con ozono parece mejorar la producción de H₂ mientras que la combinación con choque térmico parece no ser efectiva. Los sustratos evaluados han sido diversos, desde sustratos definidos hasta sustratos complejos incluyendo la autodigestión del lodo biológico. Los principales parámetros sónicos evaluados son el tiempo de sonicación y la intensidad, en donde hay gran variación en el rango de estudio, desde 3 s hasta 60 min para el tiempo de exposición y desde 100 W L⁻¹ hasta 1,500 W L⁻¹ para la intensidad. También se observaron condiciones de óptimas de pretratamiento considerablemente distintas, sin embargo se observan dos condiciones que pueden ser positivas para el proceso; el uso de temperatura controlada (30°C) y el uso de la sonicación en el reactor.

Cabe mencionar que debido al uso de parámetros de sonicación diferentes y a la falta de mayor información en los reportes, no fue posible estimar la energía específica (E_S) en algunos estudios. No obstante, en los estudios donde se estimó la E_S se observó que existía también, gran variación en la condición óptima alcanzada, desde 1.3 kJ L⁻¹ hasta 5,122.8 kJ L⁻¹. Por otro lado, todos los estudios coincidieron en que la sonicación bajo condiciones adecuadas incrementó la producción de H₂ así como su rendimiento.

Agradecimientos

El autor C. F. Pineda-Muñoz agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada 557375.

Conclusiones

El uso del ultrasonido de baja frecuencia para incrementar el desempeño en la producción biológica de hidrógeno, ha sido reportado por pocos investigadores. En donde, han utilizado principalmente lodo anaerobio como inóculo, mientras que han empleado diferentes tipos de reactores y sustratos. Los resultados obtenidos han demostrado que la ultrasonicación puede incrementar la producción de H₂, en donde se ha utilizado principalmente el tiempo de sonicación y la intensidad como parámetros sónicos. Sin embargo, existe gran diferencia en las condiciones de pretratamiento utilizadas, así como en las condiciones óptimas, a pesar de utilizar equipos ultrasónicos similares. Más aún, la falta de información sobre las condiciones de pretratamiento en algunos reportes dificulta la reproducción del pretratamiento y de los resultados. Por otro lado, se observó que el uso de sonobiorreactores y el control de temperatura pueden mejorar aún más la eficiencia y producción de H₂. Debido a lo anterior, es necesaria mayor investigación sobre los efectos moleculares y celulares del ultrasonido en el proceso biológico, esto permitirá esclarecer las condiciones a las cuales el método de ultrasonicación mejora la producción de H₂.

Referencias

- Argun, H. & Dao, S. (2017). Bio-hydrogen production from waste peach pulp by dark fermentation: effect of inoculum addition. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(4), 2569-2574.
- Azwar, M. Y., Hussain, M. A. & Abdul-Wahab, A. K. (2014). Development of biohydrogen production by photobiological, fermentation and electrochemical processes: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31, 158-173.
- Braguglia, C. M., Gianico, A. & Mininni, G. (2012). Comparison between ozone and ultrasound disintegration on sludge anaerobic digestion. *Journal of Environmental Management*, 95, S139-S143.
- Bundhoo, M. A. Z. & Mohee, R. (2016). Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41, 6713-6733.
- Chang, S., Li, J. Z. & Liu, F. (2011). Evaluation of different pretreatment methods for preparing hydrogen-producing seed inocula from waste activated sludge. *Renewable Energy*, 36, 1517-1522.
- Chisti, Y. (2003). Sonobioreactors: using ultrasound for enhanced microbial productivity. *Trends in Biotechnology*, 21(2), 89-93.
- Chong, S., Sen, T. K., Kayaalp, A. & Ang, H. M. (2012). The performance enhancement of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – A State-of-the-art review. *Water Research*, 46, 3434-3470.
- Eker, S. & Sarp, M. (2017). Hydrogen gas production from waste paper by dark fermentation: Effects of initial substrate and biomass concentrations. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(4), 2562-2568.
- Elbeshbishy, E., Hafez, H. & Nakhla, G. (2010). Enhancement of biohydrogen production using ultrasonication. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 6184-6193.
- Elbeshbishy, E., Hafez, H. & Nakhla, G. (2011). Ultrasonication for biohydrogen production from food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 2896-2903.
- Elbeshbishy, E., Hafez, H. & Nakhla, G. (2012). Viability of ultrasonication of food waste for hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37, 2960-2964.
- Elbeshbishy, E. & Nakhla, G. (2011). Comparative study of the effect of ultrasonication on the anaerobic biodegradability of food waste in single and two-stage systems. *Bioresource Technology*, 102, 6449-6457.
- Foladori, P., Laura, B., Gianni, A. & Giuliano, Z. (2007). Effects of sonication on bacteria viability in wastewater treatment plants evaluated by flow cytometry—Fecal indicators, wastewater and activated sludge. *Water Research*, 41, 235-243.
- Gogate, P. R. & Kabadi, A. M. (2009). A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. *Biochemical Engineering Journal*, 44, 60-72.
- Gokfiliz, P. & Karapinar, I. (2017). The effect of support particle type on thermophilic hydrogen production by immobilized batch dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(4), 2553-2561.

- Guo, Y. P., Kim, S. H., Sung, S. H. & Lee, P. H. (2010). Effect of ultrasonic treatment of digestion sludge on bio-hydrogen production from sucrose by anaerobic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 3450-3455.
- Harvey, E. N. & Loomis, A. L. (1929). The destruction of luminous bacteria by high frequency sound waves. *Journal of Bacteriology*, 17(5), 373-376.
- Hsu, C. W. y Lin, C. Y. (2016). Commercialization model of hydrogen production technology in Taiwan: Dark Fermentation technology applications. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41, 4489-4497.
- Koda, S., Kimura, T., Kondo, T. & Mitome, H. (2003). A standard method to calibrate sonochemical efficiency of an individual reaction system. *Ultrasonic Sonochemistry*, 10, 149-156.
- Kurorawa, M., King, P. M., Wu, X., Joyce, E. M., Mason, T. J. & Yamamoto, K. (2016). Effect of sonication frequency on the disruption of algae. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 157-162.
- Kwiatkowska, B., Bennett, J., Akunna, J., Walker, G. M. & Bremner, D. H. (2011). Stimulation of bioprocesses by ultrasound. *Biotechnology Advances*, 29, 768-780.
- Leonelli, C. & Mason, T. J. (2010). Microwave and ultrasonic processing: Now a realistic option for industry. *Chemical Engineering and Processing*, 49, 885-900.
- Liu, C., Xiao, B., Dauta, A., Peng, G., Liu, S. y Hu, Z. (2009). Effect of low power ultrasonic radiation on anaerobic biodegradability of sewage sludge. *Bioresource Technology*, 100, 6217-6222.
- Lutpi, N. A., Jahim, J. M., Mumtaz, T., Harun, S. & Abdul, P. M. (2016). Batch and continuous thermophilic hydrogen fermentation of sucrose using anaerobic sludge from palm oil mill effluent via immobilisation technique. *Process Biochemistry*, 51, 297-307.
- Mason, T. J., Chemat, F. & Ashokkumar, M. (2015). Power ultrasonics for food processing. *Power Ultrasonics*, 27, 815-843.
- Mason, T. J. (2007). Development in ultrasound–Non-medical. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93, 166-175.
- Merouani, S. & Hamdaoui, O. (2016). The size of active bubbles for the production of hydrogen in sonochemical reaction field. *Ultrasonic Sonochemistry*, 32, 320-327.
- More, T. T. & Ghangrekar, M. M. (2010). Improving performance of microbial fuel cell with ultrasonication pre-treatment of mixed anaerobic inoculum sludge. *Bioresource Technology*, 101, 562-567.
- Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P. & Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 410-417.
- Rokhina, E., Lens, P. & Virkutyte, J. (2009). Low-frequency ultrasound in biotechnology: state of the art. *Trends in Biotechnology*, 27(5), 298-305.
- Sinisterra, J. V. (1992). Application of ultrasound to biotechnology: an overview. *Ultrasonics*, 30(3), 180-185.

- Tiwari, B. K. & Mason, T. J. (2012). Chapter 6 – Ultrasound processing of fluids foods. P. J. Cullen, B. K. Tiwari & V.P. Valdramidis. (Ed.), *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluids Foods* (135-165). San Diego, USA: Academic Press.
- Wang, H., Fang, M., Fang, Z. & Bu, H. (2010). Effects of sludge pretreatments and organic acids on hydrogen production by anaerobic fermentation. *Bioresource Technology*, *101*, 8731-8735.
- Wang, J. & Yin, Y. (2017). Principle and application of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.01.135>.
- Wang, Y. Z., Xie, X. W., Zhu, X., Liao, Q., Chen, R., Zhao, X. & Lee, D. J. (2012). Hydrogen production by *Rhodopseudomonas palustri* CQK 01 in a continuous photobioreactor with ultrasonic treatment. *International Journal of Hydrogen Energy*, *32*, 15450-15457.
- Wood, R. W. & Loomis, A. L. (1928). The physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity. *Journal of the Franklin Institute*, *205*(1), 151-153.
- Xie, B., Liu, H. & Yan, Y. (2007). Improvement of the activity of anaerobic sludge by low-intensity ultrasound. *Journal of Environmental Management*, *90*, 260-264.
- Xu, G., Chen, S., Shi, J., Wang, S. & Zhu, G. (2010). Combination treatment of ultrasound and ozone for improving anaerobic biodegradability of waste activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*, *180*, 340-346.
- Yang, S. S., Guo, W. Q., Cao, G. L., Zheng, H. S. & Ren, N. Q. (2012). Simultaneous waste activated sludge disintegration and biological hydrogen production using an ozone/ultrasound pretreatment. *Bioresource Technology*, *124*, 347-354.

Remoción de contaminantes microbiológicos presentes en agua de escorrentía urbana mediante pavimentos permeables fotocatalíticos

Rosangel Ortega Villar, Claudia Coronel Olivares, Liliana Lizárraga Mendiola, Rosa Icela Beltrán Hernández, Carlos Alexander Lucho Constantino y Gabriela A. Vázquez- Rodríguez

R. Ortega, C. Coronel, L. Lizárraga, R. Beltrán, C. Lucho, Vázquez
gvazquez@uaeh.edu.mx
Universidad Politécnica de Pachuca

F. Trejo, (eds.). Ciencias Biológicas y de la Salud, Proceedings-©ECORFAN-México, Pachuca, 2017.

Abstract

Pervious pavements are low-impact developments that allow the mitigation of the negative impacts of urban runoff, because they enable its infiltration and treatment. In this study we evaluated the microbial removal capacity of pervious pavements covered by a photocatalytic layer of Fe₂O₃ nanoparticles. Pervious concrete specimens were made, which presented a water permeability (677.9 L/m²·min) and a compressive strength (78.28 kg/cm²) complying with the Mexican standards. These pavements were covered by a photocatalytic layer of Fe₂O₃ nanoparticles at two concentrations (3% and 5%). After activation, the specimens received synthetic urban runoff with one microbial indicator (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* or *Enterococcus faecalis*) at known concentration. The specimens removed the indicator in the following order: *E. coli* > *P. aeruginosa* > *E. faecalis*. Although the role of the nanoparticles has to be elucidated yet, the pervious pavements demonstrated their potential in the reduction of the microbial pollution of urban runoff.

Disinfection, infiltration, low-impact development, nanoparticles

Introducción

El agua de escorrentía urbana (AEU) es el componente del ciclo hidrológico que representa la acumulación de agua pluvial en áreas urbanizadas. Se le asocia con varios efectos ambientales negativos; en primer lugar, es la causa más frecuente de inundaciones en el medio urbano (Vázquez-Rodríguez e Iturbide, 2015). En segundo lugar, el AEU vehicula numerosos contaminantes, razón por la cual se le considera una fuente de contaminación difusa importante, quizás la más significativa en países industrializados. Para mitigar estos problemas, existen las tecnologías de bajo impacto (LID por sus siglas en inglés), que también permiten la prevención de la contaminación que representa el AEU y la mejora de ecosistemas urbanos (Baek *et al.*, 2015). Así, el objetivo de las técnicas LID es reducir *in situ* el volumen del agua de escorrentía reestableciendo la capacidad de infiltración de las superficies urbanas (Martin-Mikle *et al.*, 2015).

Entre las tecnologías LID más comunes se encuentran las celdas de biorretención, las azoteas verdes y los pavimentos permeables (Ahiablame *et al.*, 2012). Un pavimento permeable típico consiste en una mezcla de concreto elaborado con poco o ningún agregado fino, lo que forma poros más grandes en su estructura que en un concreto convencional (Haselbach *et al.*, 2006). Estos poros son los que facilitan la infiltración del agua y por tanto la recarga de los acuíferos subyacentes (Bentz, 2008). Asimismo, son comparables a un filtro, y permiten mejorar la calidad del agua que reciben. Sin embargo, existen muy pocos reportes que señalen su eficacia en la remoción de los contaminantes típicos de las escorrentías urbanas. Para potenciar su efectividad, recientemente se han desarrollado pavimentos permeables con una capa fotocatalítica en la superficie, por lo general a base de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂). No obstante, el uso del TiO₂ se cuestiona cada vez más, ya que diversos estudios han sugerido daños potenciales a la salud humana y de los ecosistemas (Zhu *et al.*, 2012). En este trabajo se exploró la posibilidad de remover los contaminantes microbiológicos presentes en un AEU sintética en pavimentos permeables provistos de una capa fotocatalítica de nanopartículas de Fe₂O₃.

Metodología

Se elaboraron los pavimentos permeables con los materiales especificados en Tabla 2.1, los cuales se introdujeron en una revolvedora mecánica de marca Gilson y se mezclaron por minuto y medio. La mezcla se vació en moldes de PVC de 15 cm de diámetro y 10 cm de altura. Transcurridas 24 h, los especímenes se introdujeron a una máquina de curado por 5.25 h ± 30 min (INVE-412-07).

Tabla 2.1 Proporción y granulometría de los materiales

Para 1m ³		Granulometría de la Grava	
Material	Porcentaje	No. De Tamíz	Porcentaje
Agua	140 Lt.	1/2"	40%
Arena	127.5 kg/m ³	3/8"	30%
Cemento	350 kg/m ³	1/4"	20%
Grava	1275 kg/m ³	No. 4	10%

Los especímenes se dejaron secar totalmente antes de que se les aplicara la capa fotocatalítica, para lo cual se emplearon nanopartículas (NP) de Fe₂O₃ en polvo (< 50 nm, Sigma Aldrich). Se probaron dos proporciones de NP en el recubrimiento (3% y 5% de NP de acuerdo al peso del cemento), que se mezclaron con 20 g de cemento y 10 mL de agua (Hassan *et al.*, 2012). Para el espécimen testigo, se sustituyeron las NP por suelo (la cantidad utilizada fue 3%, ya que si se adiciona más suelo pueden obstruirse los poros superficiales del pavimento permeable). La mezcla húmeda se aplicó con una brocha.

Los especímenes se analizaron por espectrometría de fotoelectrones con fuente de rayos X (XPS). Para las pruebas de resistencia a la compresión se elaboraron cilindros de 30 cm de alto y 15 cm de diámetro (siguiendo la granulometría indicada en la Tabla 1). Los cilindros se colocaron en la máquina de compresión (Controls modelo 50-C43C04) y se les aplicó presión hasta llegar a la falla; en ese momento la máquina señaló el valor de la carga resistida (IMCYC, 2011). Para las pruebas de permeabilidad se elaboró una loza de 7 cm de espesor y con un área de 15 cm x 15 cm (siguiendo la granulometría de la Tabla 1). Se vertieron 15 L de agua a la losa permeable y se tomó el tiempo de infiltración del agua a través de la losa.

En la preparación del agua sintética microbiológica se utilizaron *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*. Primero, estos se sembraron en agar de soya tripticaseína y se incubaron a 37°C por 24 h. Luego se tomó una asada y se sembró en caldo de soya tripticaseína, tras lo cual se midió la absorbancia a 550 nm. Con este valor se hizo una interpolación utilizando la escala de McFarland, para conocer la concentración bacteriana en el caldo nutritivo. El agua sintética microbiológica se preparó por separado para cada microorganismo.

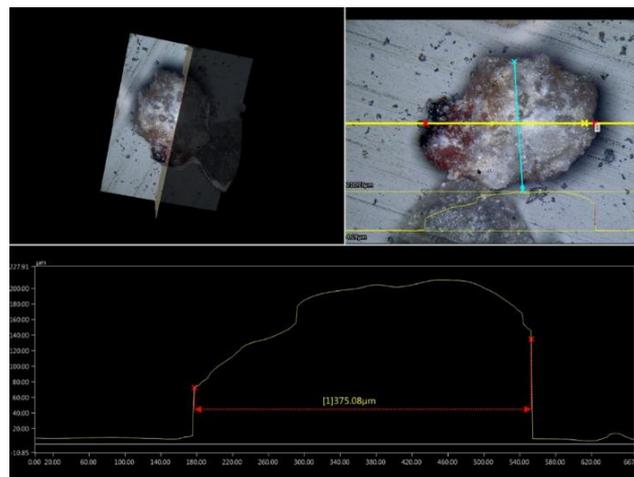
Los pavimentos permeables fotocatalíticos se activaron utilizando una lámpara UV de la marca Entela® con una longitud de onda de 365 nm (Yu, 2013). La distancia entre el pavimento y la lámpara UV fue de 10 cm. Los especímenes se expusieron a la luz durante 60 min; para garantizar una activación homogénea, se giraron 180° a los 30 min. La activación se llevó a cabo en una caja que impidió el paso de la luz externa (Du *et al.*, 2016). Finalizada la activación se inició la alimentación del agua microbiológica sintética a través de los pavimentos permeables. Los especímenes se alimentaron por la parte superior con un flujo de 500 mL/h de agua sintética microbiológica con una bomba peristáltica (Masterflex®, E.U.A.) y un motor de 12 V con hélices.

Estas condiciones equivalen a la precipitación de 212 mm, que es comparable al máximo mensual reportado para el periodo 1981-2000 en la ciudad de Pachuca (SMN, 2017). El agua de salida de los especímenes se captó con un embudo de plástico y en matraces estériles. Posteriormente se hicieron tres diluciones de esta agua, de las que se sembraron 100 µL en cajas de con agar de soya tripticaseína. Se incubaron por 24 horas y luego se hizo el conteo de colonias. Se siguió el mismo procedimiento para el agua sintética microbiológica de entrada y salida.

Resultados y discusión

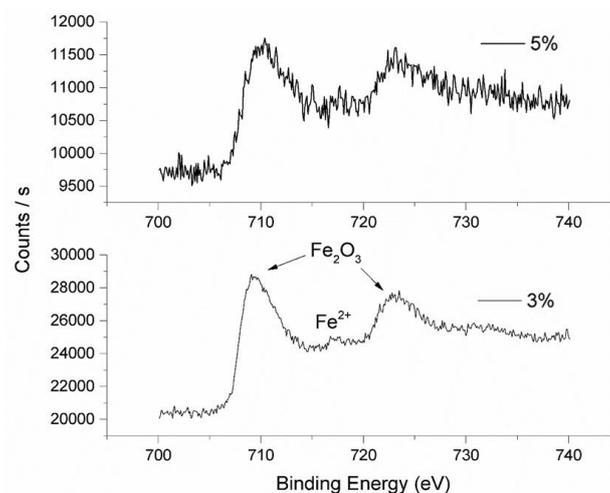
Los pavimentos permeables se obtuvieron de acuerdo a lo descrito anteriormente y se sometieron a análisis mineralógicos. En la Fig. 2.1 se observa que las NP de óxido de hierro sí se fijaron a la superficie de concreto, ya que en las micrográficas se presentan pequeños cúmulos marrones que las ponen en evidencia. En el grafico. 2.1 se muestran los espectros XPS obtenidos para los pavimentos permeables fotocatalíticos. En ellos se observa que la interacción del Fe_2O_3 con el concreto modifica la superficie estudiada. Paradójicamente, se detectó una mayor intensidad de la señal en el concreto con 3% de NP que en el de 5%.

Figura 2.1 Perfil de profundidad a la altura máxima de la muestra de pavimento permeable con capa fotocatalítica (3% de NP)



Una mayor cantidad de Fe_2O_3 en la superficie del pavimento modifica considerablemente la composición y las propiedades de la superficie (Watts y Wolstenholme, 2003).

Grafico 2.1 Espectros de XPS de los pavimentos permeables con capa fotocatalítica

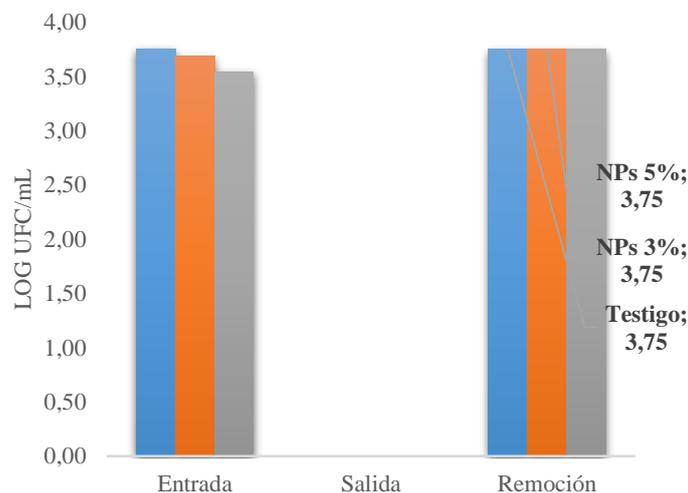


Se evaluó la resistencia a la compresión de dos especímenes, que fue 78.28 kg/cm^2 en promedio. Este valor permite denominar al pavimento construido como permeable, ya que según el Instituto Mexicano del Cemento y del Concreto (IMCYC, 2011) se consideran como aceptables valores comprendidos entre 35 y 280 kg/cm^2 .

En cuanto a la permeabilidad, se midió un valor promedio de $677.9 \text{ L/m}^2 \cdot \text{min}$. De acuerdo al IMCYC, la velocidad de drenaje a través del pavimento permeable depende del tamaño de los agregados y de la densidad de la mezcla, y generalmente varía entre 81 a $730 \text{ L/min}^2 \cdot \text{min}$. Por lo tanto, puede concluirse que la permeabilidad del pavimento permeable elaborado es muy buena, ya que se acerca al límite superior establecido por el IMCYC (2011).

Se midió el potencial de remoción de contaminantes microbiológicos en los pavimentos permeables recubiertos con NP (3% y 5%) y en un espécimen testigo, desprovisto de recubrimiento de NP. La remoción de *E. coli* a través de los pavimentos permeables fotocatalíticos fue completa, ya que no se detectó a este organismo en los efluentes. Esto equivale a la remoción de 3.5 - 3.7 Log UFC/mL (Grafico 2.2). Estos valores obtenidos son ligeramente parecidos a los reportados en estudios previos (Tota-Maharaj y Scholz, 2010), en los que se obtuvo una remoción entre 3.5 y 4.5 Log UFC/mL de las concentraciones de *E. coli*, coliformes fecales y estreptococos fecales en AEU luego de su paso por pavimentos permeables acoplados a bombas de calor subterráneas. Las remociones que medimos y las reportadas en el citado estudio (Tota-Maharaj y Scholz, 2010) son mayores a las reportadas para otras tecnologías LID (Li *et al.*, 2012).

Grafico 2.2 Remoción de *Escherichia coli* en los pavimentos permeables



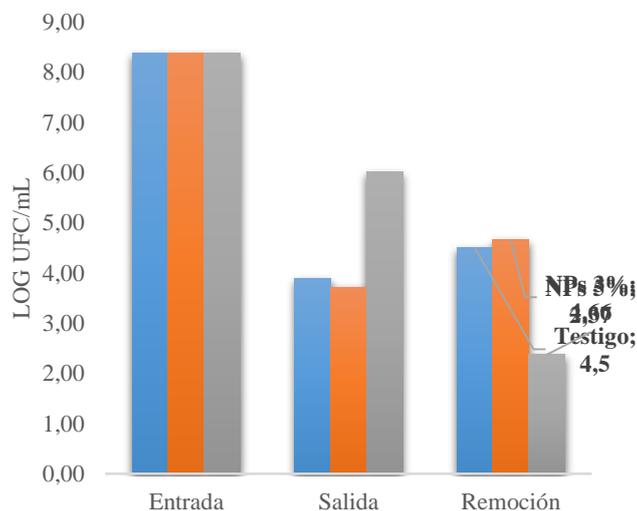
En estudios que han evaluado el transporte de microorganismos a través de medios porosos, se han mencionado varios factores que lo afectan, tales como la carga superficial, la hidrofobicidad, el tamaño, la movilidad y la forma de las células, así como su estado fisiológico y quizás su tipo de pared (*i.e.*, si se trata de organismos Gram positivos o negativos) (Smets *et al.*, 1999; Mitik-Dineva *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2010). Dado que estos factores varían de especie, la eficiencia de remoción microbiana en un pavimento permeable dependerá del tipo de indicador que se utilice.

Las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa, con capas de peptidoglicano y ácido teitoico, las cuales proveen protección hasta cierto punto ya que obstruyen la penetración de radicales libres (Binas *et al.*, 2017). Las bacterias Gram negativas como *E. coli* y *P. aeruginosa* no cuentan con esta protección; así, su pared más delgada sería más susceptible al ataque de los radicales libres producidos por las NP. La actividad fotocatalítica puede ocasionar alteraciones en la estructura celular, inactivación microbiana y posible destrucción (Binas *et al.*, 2017). Sin embargo, en los experimentos que aquí se reportan no fue posible distinguir el papel de las NP en la remoción de *E. coli* alcanzada por los pavimentos permeables, puesto que en los dos especímenes recubiertos con ellas fue similar a la que mostró el testigo.

La eliminación de *P. aeruginosa* se muestra en la Fig. 4, en la cual se observan diferencias entre las contaminaciones conseguidas por los distintos pavimentos permeables. El espécimen con un recubrimiento de 3% de NP permitió remover 4.496 Log UFC/mL, mientras que el testigo y el pavimento con 5% de NP eliminaron 4.66 y 2.368 Log UFC/mL, respectivamente (Grafico 2.3). Estos resultados podrían indicar que la mayor adherencia de las NP en el recubrimiento al 3%, puesta en evidencia por los resultados del análisis de XPS descritos anteriormente, se tradujo en una mayor eficacia de eliminación de *P. aeruginosa*.

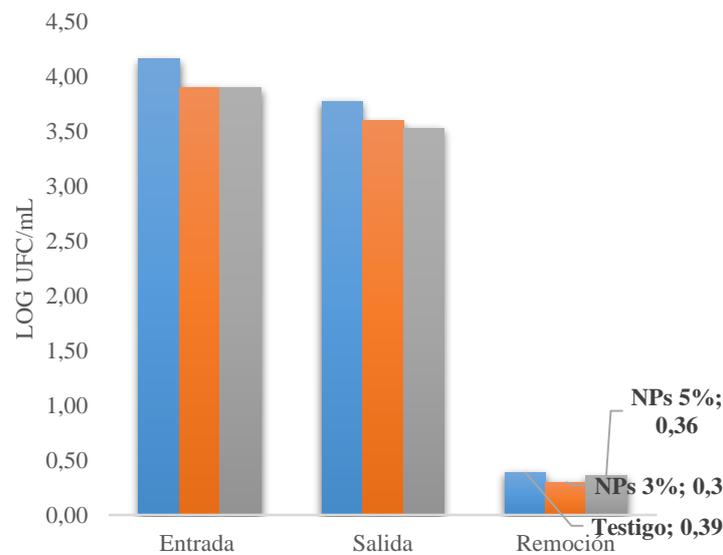
Esta bacteria posee algunas de las características ya mencionadas que favorecen la adhesión bacteriana a medios sólidos, tales como ser móvil, Gram negativa, y con forma bacilar (Smets *et al.*, 1999). A pesar de compartir estas características con *E. coli*, se removió en un menor grado. Esta menor adherencia de *P. aeruginosa* a los pavimentos permeables con respecto a la de *E. coli* puede atribuirse a que es menos electronegativa (Mitik-Dineva *et al.*, 2009); si las superficies del pavimento permeable estuvieran cargadas positivamente (lo cual se desconoce), esto podría explicar la menor retención de *P. aeruginosa* en los pavimentos permeables.

Grafico 2.3 Remoción de *Pseudomonas aeruginosa* en los pavimentos permeables



La eliminación de *Enterococcus faecalis* en los pavimentos permeables fue la menor entre las que se midieron para los organismos estudiados; su eficacia se muestra en el grafico 2.5. *Enterococcus faecalis* posee rasgos que favorecen su transporte en medios porosos: no es móvil, es Gram positiva y tiene una forma esférica (Park *et al.*, 2010). Así, es de esperar que los pavimentos permeables sean poco eficaces para remover este indicador.

Las remociones conseguidas de *Enterococcus faecalis* en los pavimentos permeables estuvieron comprendidas entre 0.3-0.39 Log UFC/mL; estos valores son comparables a la eliminación de enterococos alcanzada en un biofiltro de arena (Peng *et al.*, 2016). La escasa afinidad de *Enterococcus faecalis* por los medios porosos ha sido reportada por otros autores (Cheng *et al.*, 2012). El tipo de pared celular de *Enterococcus faecalis* podría, como ya se mencionó, brindarle una protección adicional frente a un fotocatalizador. Sin embargo, el efecto de la capa de NP en la remoción de este indicador tampoco pudo ponerse en evidencia, ya que el testigo prácticamente mostró la misma eficacia que el espécimen recubierto con 5% de Fe₂O₃.

Figura 2.4 Remoción de *Enterococcus faecalis* en los pavimentos permeables fotocatalíticos.

Conclusiones

Se construyeron especímenes de pavimentos permeables con una resistencia a la compresión y una permeabilidad hídrica adecuados según los estándares del IMCYC. Estos especímenes se recubrieron con 3 y 5% de NP de Fe_2O_3 que se integraron correctamente a la mezcla de concreto, según lo reflejaron los análisis mineralógicos. Al evaluar la remoción de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *E. faecalis* en aguas de escorrentía sintéticas, se encontró que los especímenes construidos resultaron ser efectivos en cuanto a la eliminación de estos indicadores, pero en grado diferente para cada uno de ellos. Así, la eficacia de la remoción de los pavimentos permeables siguió este orden: *E. coli* > *P. aeruginosa* > *E. faecalis*. No se encontraron reportes de efectividad de pavimentos permeables fotocatalíticos con respecto a remoción de contaminantes microbiológicos.

Referencias

- Ahiablame, L. M., Engel, B. A., Chaubey, I. (2012). Effectiveness of low impact development practices: literature review and suggestions for future research. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223(7), 4253-4273.
- Baek, S. S., Choi, H. D., Jung, W. J., Lee, J. H., Lee, H., Yoon, S. K., Cho, H. K. (2015). Optimizing low impact development (LID) for stormwater runoff treatment in urban area, Korea: Experimental and modeling approach. *Water Research*, 86, 122-131.
- Bentz, P. D. (2008). Virtual pervious concrete: Microstructure, percolation, and permeability. *ACI Material Journal*, 105, 1-3.
- Binas V., Venieri, D., Kotzias, D., Kiriakidis, G. (2017). Modified TiO_2 based photocatalysts for improved air and health quality. *Journal of Materiomics*, 3, 3-16.
- Chen, G., Walker, S. L. (2012). Fecal indicator bacteria transport and deposition in saturated and unsaturated porous media. *Environmental Science and Technology*, 46(16), 8782-8790.
- Du, F., Zuo, X., Yang, Q., Yang, B., Li, G., Ding, Z., Zhu, K. (2016). Facile assembly of TiO_2 nanospheres/ SnO_2 quantum dots composites with excellent photocatalyst activity for the degradation of methyl orange. *Ceramics International*, 42(11), 12778-12782.

- Hasselbach, M. L., Valavala, S., Montes, F. (2006). Permeability predictions for sand-clogged Portland cement pervious concrete pavement systems. *Journal of Environmental Management*, 81, 42-49.
- Hassan, M. M., Dylla, H., Mohammad, L. N., Rupnow, T. (2012). Methods for the application of titanium dioxide coatings to concrete pavement. *International Journal of Pavement Research and Technology*, 5(1), 12-20.
- IMCYC (2011). Hacia una construcción sustentable. *Construcción y Tecnología en concreto*. Recuperado de <http://www.imcyc.com/revistacyt/jun11/arttecnologia.htm>
- INVE 412-07. Ensayo de fabricación, curado acelerado y resistencia a la compresión de especímenes de concreto.
- Li, Y. L., Deletic, A., Alcazar, L., Bratieres, K., Fletcher, T. D., McCarthy, D. T. (2012). Removal of *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* and F-RNA coliphages by stormwater biofilters. *Ecological Engineering*, 49, 137-145.
- Martin-Mikle, J. C., de Berus, K., Julian, P. J., Mayer, M. P. (2015). Identifying priority sites for low impact development (LID) in a mixed-use watershed. *Landscape and Urban Planning*, 140, 29-41.
- Mitik-Dineva, N., Wang, J., Truong, V. K., Stoddart, P., Malherbe, F., Crawford, R. J., Ivanova, E. P. (2009). *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* attachment patterns on glass surfaces with nanoscale roughness. *Current Microbiology*, 58(3), 268-273.
- Park, S. J., Kim, S. B., Kim, K. W. (2010). Analysis of bacterial cell properties and transport in porous media. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 45(6), 682-691.
- Peng, J., Cao, Y., Rippy, M. A., Afrooz, A. R. M., Grant, S. B. (2016). Indicator and Pathogen Removal by Low Impact Development Best Management Practices. *Water*, 8(12), 600.
- Smets, B. F., Grasso, D., Engwall, M. A., Machinist, B. J. (1999). Surface physicochemical properties of *Pseudomonas fluorescens* and impact on adhesion and transport through porous media. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 14(1), 121-139.
- SMN (2017). Normales Climatológicas 1981-2000, Estación Pachuca, Hgo. Servicio Meteorológico Nacional, Comisión Nacional del Agua, México.
- Tota-Maharaj, K., Scholz, M. (2010). Efficiency of permeable pavement systems for the removal of urban runoff pollutants under varying environmental conditions. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 29, 358-369.
- Vázquez-Rodríguez, G. A., Iturbe, U. (2015). Ciudades Permeables. *¿Cómo ves?*, 183, 16-19.
- Watts, F. J., Wolstenholme, J. (2003). *An introduction to surface analysis by XPS and AES*. Wiley, Londres.
- Yu, J. C. (2003). *Deactivation and regeneration of environmentally exposed titanium dioxide (TiO₂) based products*. (Testing Report). Hong Kong, Environmental Protection Department, HKSAR.
- Zhu, Y., Eaton, J. W., Li, C. (2012). Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles preferentially induce cell death in transformed cells in a Bak/Bax-independent fashion. *PloS One*, 7(11), e50607.

Aislamiento y caracterización de una bacteria oxidadora de Mn proveniente de agua subterránea de Santa Cruz, Hgo., México, afectada por contaminación geogénica

Dulce Arely Rivera Rodríguez, Alfredo Gracia Zaragoza, Claudia Coronel Olivares, Rosa Icela Beltrán Hernández, Carlos Alexander Lucho Constantino, Maricela Villanueva Ibáñez, Blanca Estela Jaramillo Loranca y Gabriela A. Vázquez Rodríguez

D. Rivera¹, A. Gracia¹, C. Coronel¹, R. Beltrán¹, C. Lucho¹, M. Villanueva², B. Jaramillo² y G. Vázquez¹

¹Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

²Universidad Politécnica de Pachuca

gvazquez@uaeh.edu.mx

F. Trejo, (eds.).Ciencias Biológicas y de la Salud, Proceedings-©ECORFAN-México, Pachuca, 2017.

Abstract

In Santa Cruz, Hidalgo (Mexico), the public supply came from groundwater geogenically polluted with manganese. The aim of this work was to isolate, identify and cultivate microorganisms able to oxidize Mn and that can be further used in a biological treatment process. An isolate was obtained from groundwater samples of the site, which gave a positive result in the leucoberbelin blue test allowing the detection of oxidized Mn. The isolate was identified as *Bacillus pumilus* by an automated system. This result was supported by the morphological and biochemical characterization of the strain. The isolate was inoculated in shake flasks to evaluate the removal of Mn from the study site groundwater. The strain could oxidize partially the elevated initial Mn content of the samples (of about 4 mg/L), and this after more than 450 hours. However, the level of Mn removal was not clearly different from that reached by the abiotic controls. The feasibility of using *B. pumilus* to remediate geogenic Mn in groundwater has still to be confirmed.

Manganeso, Contaminación geogénica, Potabilización, Oxidación, Biofiltración

1. Introducción

En las aguas subterráneas existen numerosos iones metálicos, los cuales pueden provenir de actividades antropogénicas tales como la agricultura, la minería y las transformaciones industriales, entre otras (Beiger y Jernelöv, 1999; Yepis *et al.* 1999). Asimismo, pueden derivarse de interacciones con el material rocoso circundante. Por ejemplo, en algunos lugares de México, como la Bahía Concepción, en Baja California Sur, y Molango, Hidalgo, se han encontrado altas concentraciones de Fe y Mn en depósitos sedimentarios, los cuales se caracterizan por su carácter exógeno (Juárez-Santillán *et al.*, 2010). Estos depósitos, a su vez, están relacionados con procesos de erosión y diagénesis de rocas; cuando estas interactúan con el agua subterránea provocan contaminación geogénica (Rodríguez *et al.*, 2005). Debido a su elevada toxicidad, el As y el Cr son quizás los contaminantes geogénicos más estudiados.

A pesar de que es necesario para el desarrollo de seres vivos, quienes lo requieren a nivel traza en el medio, el Mn también es un contaminante geogénico común en aguas subterráneas (Ehrlich, 1997). En la naturaleza, el Mn se encuentra en tres estados de oxidación: Mn(II), Mn(III) y Mn(IV). La forma reducida, Mn(II), es soluble y la más frecuente en ausencia de oxígeno y, por ende, en aguas subterráneas (Geszvain *et al.*, 2012). El contacto con aire atmosférico la transforma en Mn(IV), que es insoluble. Por consiguiente, las altas concentraciones de Mn en aguas subterráneas se traducen en depósitos, imparten mal sabor al agua y pueden tener impactos en la salud humana. En efecto, se ha encontrado que una ingesta alta de Mn afecta particularmente a la población infantil, debido a que modifica su capacidad cognitiva y puede reducir su coeficiente intelectual (Amos-Kroohs, 2015).

La normatividad mexicana vigente establece que, en agua de abastecimiento, los límites máximos permisibles son 0.3 y 0.15 mg/L para Fe y Mn, respectivamente (SSA, 2000). La Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere mantener la concentración de Mn por debajo de 0.4 mg/L. En el caso del Fe, la OMS propone como concentración de 0.3 mg/L; sin embargo, no es un valor estricto debido a que este elemento no es considerado tóxico sino esencial en la nutrición humana (WHO, 2011). Los habitantes de la localidad de Santa Cruz, Hidalgo, reportan desde hace varios años que se les suministra agua subterránea con características físicas inusuales (coloración rojiza y sabor metálico, principalmente) atribuibles a la presencia de Fe y Mn (Flores, 2016). Por tal motivo, la mayor parte de la población del lugar no utiliza el agua para la realización de tareas cotidianas. En la localidad son visibles numerosos indicios de que el agua es inadecuada para su consumo, ya que donde hubo escorrentía existen incrustaciones de óxidos, o superficies teñidas de rojo debidas al contacto con el agua.

Para dar solución a este problema, existen diferentes procesos de tratamiento del agua. Los tratamientos fisicoquímicos son los más comunes (Mouchet, 1992). Entre ellos destacan la oxidación (con oxidantes fuertes como KMnO_4 o Cl_2) seguida de filtración, la filtración acoplada a un intercambiador iónico, los tratamientos *in situ* y con ozono (O_3). En la Tabla 3.1 se incluyen algunos de los métodos fisicoquímicos más comunes para la remoción de Fe y Mn. Sin embargo, estos procesos suelen implicar costos elevados respecto a maquinaria, tecnología y suministro de reactivos. En el caso de la oxidación química con compuestos clorados, el riesgo de formación de intermediarios tóxicos, tales como los trihalometanos, es otro inconveniente de esta tecnología.

Tabla 3.1 Métodos fisicoquímicos utilizados para la remoción de Fe y Mn

Método	Característica	Referencia
Aireación seguida por filtración dual o filtración media	Está complementada por un tanque de contacto, solución o flotación y la adición de químicos	Mouchet (1992)
Oxidación química	Sin pre-aireación y seguida por filtración. Se emplean sales de hipoclorito de calcio $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, KMnO_4 o Cl_2	Salem y Amin (2012); Mouchet (1992)
Filtración con un intercambiador iónico	Se usan como medios filtrantes arena, zeolitas de origen volcánico (tectosilicatos) o arenas natural o artificialmente recubiertas con MnO_2	Salem y Amin (2012); Mouchet (1992)
Silicato de sodio, fosfatos o poli fosfatos	Actúan como agentes secuestrantes	Mouchet (1992)
Tratamientos <i>in situ</i>	Se oxigena el agua del acuífero por medio de pozos de alimentación, y se crea así un área de tratamiento alrededor del pozo principal	Beretta y Sansalone, (2012); Salem y Amin (2012); Mouchet (1992)
Ozono (O_3)	Oxidación de Fe y Mn	Blanchard <i>et al.</i> (2014)

Una alternativa sustentable a estos tratamientos es la biofiltración, que se define como la combinación de una acción mecánica de retención de la biomasa mediante filtración y de una transformación microbiana de los contaminantes contenidos en las aguas que se han de tratar (Arango, 2004). Aunque esta tecnología se ha usado profusamente para el tratamiento de aguas residuales, su aplicación en procesos de potabilización es más escasa y reciente, puesto que sus inicios se ubican en la década de 1990 (Mouchet, 1992). La biofiltración para la producción de agua potable normalmente pretende la remoción de materia orgánica y nitrógeno (Basu *et al.*, 2016). Sin embargo, existen reportes de que también permite una remoción adecuada de Fe y Mn (Tekerekopoulou *et al.*, 2013).

Lo anterior es posible porque en numerosos medios acuáticos (*i.e.*, embalses, océanos, aguas residuales, entre otros) existen microorganismos que oxidan al manganeso. Estos organismos son filogenéticamente muy diversos, y se ha reportado como tales a miembros de los phyla Firmicutes, Actinobacteria y Proteobacteria (grupos alfa, beta y gama). Algunos ejemplos de ellos se presentan en la Tabla 3.2. El papel que juega la oxidación de Mn en estas especies no ha sido esclarecido; por una parte, algunas bacterias podrían derivar energía de esta reacción termodinámicamente favorable, lo cual no ha sido demostrado para ningún organismo (Geszvain *et al.*, 2012). Por otra parte, la formación de óxidos de Mn podría contribuir a proteger a las células de especies químicas reactivas o de factores ambientales y ecológicos desfavorables como la radiación UV, la depredación o la infección por fagos (Geszvain *et al.*, 2012). La oxidación microbiana del Mn empieza a utilizarse extensivamente para potabilizar agua subterránea rica en este metal; no obstante, es un método poco empleado aún en México. Por lo anteriormente expuesto, los objetivos de este trabajo fueron aislar, identificar y reproducir microorganismos oxidadores de Mn provenientes del agua subterránea de Santa Cruz, Hidalgo. Una vez aislados, es factible emplearlos en un proceso que permita la remoción de este metal del agua, tal como la biofiltración.

2. Metodología

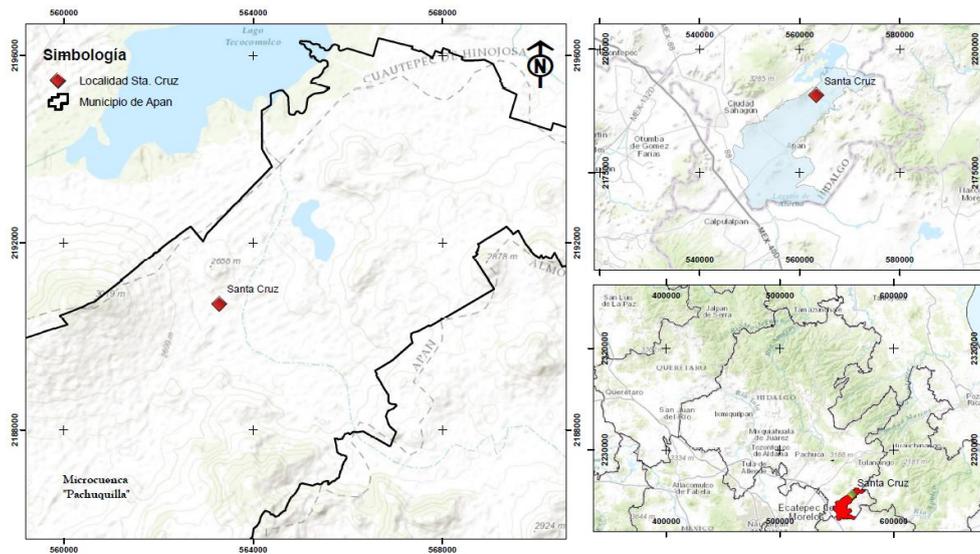
2.1 Sitio de estudio y muestreo del agua subterránea

El acuífero de Santa Cruz, Apan, Hidalgo, se encuentra en la parte suroeste del estado de Hidalgo, entre las latitudes norte 19°35' y 19°50', y las longitudes oeste 98°11' y 98°40', con una superficie de drenaje total de 733.2 km². La temperatura media anual varía entre 10°C y 16°C, y la precipitación media anual es de unos 610 mm (CNA, 2015). La Figura 3.1 muestra el sitio de estudio. Las muestras se recolectaron de la única llave de salida del pozo. La boquilla de la llave se limpió con un algodón embebido en alcohol, y posteriormente se drenó la tubería por un tiempo aproximado de cinco minutos. Se tomaron cinco litros de muestra en frascos previamente esterilizados. Estos se transportaron en una hielera y se mantuvieron a 4°C hasta su análisis en el laboratorio.

Tabla 3.2 Microorganismos oxidadores de Mn

Microorganismo	Referencia
<i>Acinetobacter</i> sp.	Chunyan <i>et al.</i> (2016); Li <i>et al.</i> (2016)
<i>Alteromonas</i>	Templeton <i>et al.</i> (2005)
<i>Bacillus</i> spp.	Tang <i>et al.</i> (2016); Zaragoza (2011); Cerrato <i>et al.</i> (2010); Gregory <i>et al.</i> (2006); Gregory y Staley (1982)
<i>Bacillus cereus</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
Bacterias prostecadas	Arcos <i>et al.</i> (2013)
<i>Bacillus megaterium</i>	Chunyan <i>et al.</i> (2016); Li <i>et al.</i> (2016)
<i>Bacillus pumilus</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010); Tang <i>et al.</i> (2016)
<i>Bacillus simplex</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
<i>Bacillus sphaericus</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
<i>Beggiatoa</i> sp.	Arcos <i>et al.</i> (2013)
<i>Brevibacillus brevis</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
<i>Brevundimonas nasdae</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
<i>Caulobacter</i> sp.	Gregory y Staley (1982)
<i>Chromobacterium</i> sp.	Gregory y Staley (1982)
<i>Cytophaga</i> sp.	Gregory y Staley (1982)
<i>Erythrobacter</i>	Tang <i>et al.</i> (2016)
<i>Flavobacterium</i>	Carmichael <i>et al.</i> (2013)
<i>Gallionella</i> spp.	Arcos <i>et al.</i> (2013)
<i>Halomonas</i> spp.	Templeton <i>et al.</i> (2005)
<i>Hyphomicrobium</i> sp.	Gregory y Staley (1982)
Hyphomicrobiacea	Tang <i>et al.</i> (2016)
<i>Janthinobacterium</i>	Carmichael <i>et al.</i> (2013)
<i>Leptothrix</i> spp.	Carmichael <i>et al.</i> (2013); Kielemoes <i>et al.</i> (2001)
<i>Leptothrix discophora</i> SP-6	Emerson y Ghiorse (1992)
<i>Lysinibacillus</i> sp.	Tang <i>et al.</i> (2016)
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
<i>Marinobacter</i>	Templeton <i>et al.</i> (2005)
<i>Methylarcula</i>	Templeton <i>et al.</i> (2005)
<i>Microbulbifer</i>	Templeton <i>et al.</i> (2005)
Mk-1	Tang <i>et al.</i> (2016)
<i>Pseudomonas</i> spp.	Carmichael <i>et al.</i> (2013); Cerrato <i>et al.</i> (2010); Templeton <i>et al.</i> (2005)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
<i>Pseudomonas putida</i>	De Palma (1993)
<i>Pseudomonas saccharophila</i>	Cerrato <i>et al.</i> (2010)
<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.	Ashassi-Sorkhabi <i>et al.</i> (2011)
<i>Sphaerotilus</i> sp.	Arcos <i>et al.</i> (2013)
<i>Sphingobacterium</i> sp.	Chunyan <i>et al.</i> (2016); Li <i>et al.</i> (2016)
<i>Sulfitobacter</i>	Templeton <i>et al.</i> (2005)

Figura 3.1 Localización del área de estudio (pozo de Santa Cruz, Hidalgo)



2.2 Aislamiento y cultivo de microorganismos

Para el aislamiento de bacterias oxidadoras de manganeso, se utilizaron medios de cultivo líquido y sólido. Para el medio líquido se disolvieron 0.01 g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 1000 mL de agua de Santa Cruz filtrada a través de una membrana de nitrocelulosa de 0.45 μm de tamaño de poro en condiciones de esterilidad. El medio sólido se preparó de igual manera, a excepción de que se añadieron 15 g de agar a agua del pozo de Santa Cruz filtrada. El medio se esterilizó a 120°C y 15 psi por 15 minutos, antes de solidificarlo en cajas de Petri.

Los aislamientos en medio líquido se hicieron añadiendo 1 mL del agua del pozo de Santa Cruz a 9 mL de medio de cultivo. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente y sin agitación por siete días, tras los cuales se mezcló con 90 mL de medio líquido fresco. Pasados siete días, se repitió el procedimiento mezclando con 900 mL de medio. Luego de siete días más, el medio se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos, para posteriormente eliminar el sobrenadante. La biomasa recuperada se almacenó en tubos Eppendorf a los que se añadió el 20% de glicerol para su preservación y se mantuvieron en refrigeración a 4°C (Garrity *et al.*, 2004).

Para el aislamiento en medio sólido se utilizó la técnica de filtración por membrana (APHA, 2012); para ello, se filtraron 100 mL del agua del pozo a través de un filtro de nitrocelulosa de 0.45 μm de tamaño de poro, que luego se colocó sobre el medio solidificado. Las cajas se incubaron a temperatura ambiente por siete días. Para cultivar las colonias que se obtuvieron, se tomó una asada de las cajas de Petri, que se suspendió en 10 mL de medio líquido. Esta mezcla se llevó progresivamente a 100 y 1000 mL, como se describió anteriormente para el aislamiento en medio líquido. Los 1000 mL se centrifugaron a 4000 rpm durante 15 minutos, se eliminó el sobrenadante y los botones se resuspendieron en medio líquido con glicerol al 20% y se guardaron en refrigeración.

De los tubos con medio líquido se sembró una asada en medio sólido para obtener cultivos axénicos. Se seleccionó una unidad formadora de colonias (UFC) y a esta cepa se les asignó la clave CASC (“Cepa Aislada de Santa Cruz”) como identificación preliminar.

2.3 Prueba cualitativa de oxidación de Mn

Se tomó una asada de la cepa CASC, y se colocó en un papel filtro en condiciones de asepsia. Luego se le adicionaron cuatro gotas de azul de leucoberbelina al 4%. La prueba da positiva si la muestra se tiñe de color azul, lo que indica la presencia de óxidos de manganeso (De Palma, 1993).

2.4 Identificación de las cepas aisladas

Para la identificación de la CASC, se partió de un cultivo cuya resiembra no fuera mayor a las 24 horas. La UFC se analizó en el equipo Vitek MS Plus (bioMérieux™), que utiliza el método de espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por matriz (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) acoplada a un detector de iones (tiempo de vuelo o *Time-of-Flight*) MALDI-TOF para analizar el perfil de proteínas específico a cada especie. El análisis se realizó en el Laboratorio de Bacteriología Médica del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.

2.5 Caracterización morfológica y bioquímica

A la cepa CASC se le hizo tinción de Gram, tinción de esporas y tinción de flagelos, así como pruebas de caracterización morfológica para determinar forma, borde, elevación, textura, color, crecimiento en tubo inclinado por estría recta, crecimiento superficial en medio líquido, y crecimiento en medio semi-sólido por punción. También se evaluó su crecimiento en glucosa, fructosa, ramnosa, rafinosa y lactosa, y se llevaron a cabo las siguientes pruebas bioquímicas: fenilalanina desaminasa, reducción de NO_3^- , Voges-Proskauer, tolerancia a NaCl, sulfuro indol-movilidad, catalasa, hidrólisis de caseína, hidrólisis de esculina, hidrólisis de gelatina e hidrólisis de almidón (Benson, 2002; De Vos *et al.*, 2009). Estas mismas pruebas se llevaron a cabo simultáneamente con dos organismos de referencia (*Bacillus subtilis* CDBB-B 1009 y *Escherichia coli* ATCC 35218).

2.6 Evaluación de la remoción de Mn

Para este estudio, se tomó una asada de la CASC, que se suspendió en 10 mL de medio de cultivo líquido. Esta mezcla se llevó progresivamente a 100 y 1000 mL, como se describió en el apartado 2.3 para el aislamiento en medio líquido. El volumen final de 1000 mL se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos. El centrifugado se dividió en seis partes, cada una de las cuales se utilizó para inocular los matraces como se describe a continuación.

A cada uno de siete matraces Erlenmeyer de 250 mL con tapón de rosca se le adicionó 220 mL del agua subterránea de Santa Cruz filtrada a través de una membrana de nitrocelulosa de 0.45 μm de tamaño de poro. Cuatro de los matraces (R1, R2, R3 y R4) se inocularon con un sexto del cultivo obtenido como se describió arriba. Dos de ellos (T1 y T2) también se inocularon, pero fueron posteriormente autoclavados a 120°C y 15 psi por 15 minutos, con la finalidad de desactivar la biomasa y detectar así oxidación abiótica del Mn. También se preparó un matraz control que no fue inoculado. En la Tabla 3.3 se resume cómo se prepararon los matraces. Todos los matraces se colocaron en un Orbital Shaker, Osheng a 120 rpm, que se introdujo a una incubadora General Purpose Incubator, Shell Lab®, a una temperatura de 30-32°C por 456 h.

Tabla 3.3 Identificación y descripción de los matraces empleados para evaluar la remoción de Mn por parte de la cepa aislada

Matraz	Contenido y descripción
Control	Agua del pozo de Santa Cruz, no inoculada
T1 y T2 (Testigos abióticos)	Agua del pozo de Santa Cruz, inoculada y posteriormente esterilizada a 120°C, 15 psi, durante 20 minutos
R1, R2, R3 y R4 (Réplicas)	Agua del pozo de Santa Cruz, inoculada

Se tomaron muestras que se recolectaron en recipientes de polietileno de 20 mL. A los 10 mL de muestra que se tomaron, se les adicionó 1.0 mL de HNO₃ concentrado. Las muestras se refrigeraron a 4°C hasta su análisis por espectroscopía de absorción atómica de llama, para lo cual se utilizó un espectrofotómetro SpectrAA (Varian 880, E.U.A.). Los resultados de los ensayos inoculados (R1, R2, R3 y R4) y de los testigos autoclavados (T1 y T2) se representaron por su promedio y desviación estándar.

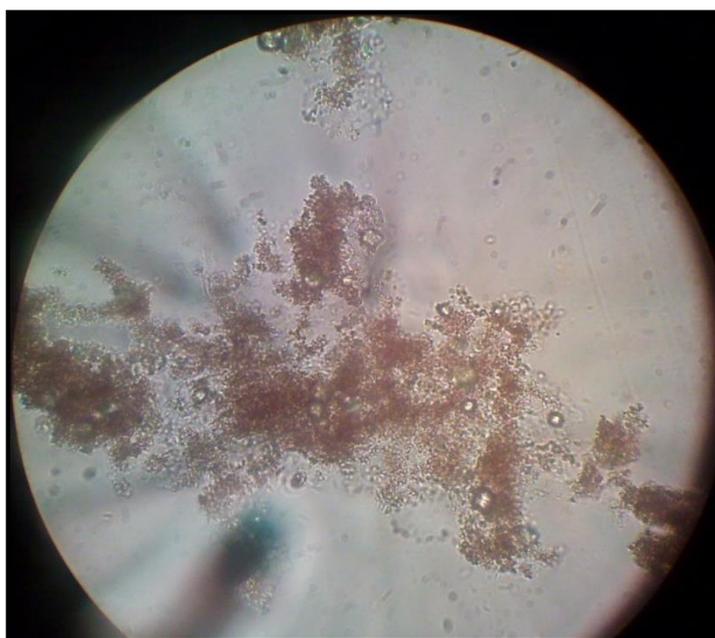
3 Resultados y discusión

3.1 Aislamiento y cultivo de microorganismos

El aislamiento en medio sólido no permitió el crecimiento de bacterias, pero el medio líquido sí. Esta cepa, CASC, pudo luego ser conservada tanto en medio líquido como en sólido. Al observar cultivos axénicos de esta cepa en un microscopio binocular de contraste de fases (Figura 3.2), se observa que tiene una forma bacilar.

Las colonias de la cepa CASC presentan las siguientes características (Tabla 3.4): se componen de células móviles, presentan esporas, son translúcidas, pequeñas (de 0.4 x 2.1 µm), y se desprenden fácilmente del asa de siembra. La prueba cualitativa de la leucoberbelina permitió corroborar la presencia de coloración azul, que es indicativa de la presencia de Mn oxidado (De Palma, 1993).

Figura 3.2 Observación de la cepa CASC a 100X



3.2 Identificación de las cepas aisladas

En el equipo Vitek MS Plus (BioMerieux™) se detectaron las proteínas ribosomales del microorganismo en cuestión, cuyo perfil es específico y pudo compararse con la base de datos del equipo. Las pruebas del control de calidad interno (*Escherichia coli* ATCC 8739), así como la calibración del equipo, fueron aceptables. Con base en los resultados obtenidos, las cepas fueron identificadas como *Bacillus pumilus* con un valor de confianza de 99.9%.

Algunas de sus características de la cepa se describen a continuación: *Bacillus pumilus* pertenece al phylum Firmicutes, a la clase Bacilli, al orden Bacillales, a la familia Bacillaceae y al género *Bacillus*. Este microorganismo es aerobio, Gram-positivo y móvil. Son bacilos pequeños (0.6-0.7 x 2.0-3.0 μm); forman esporas cilíndricas o elipsoidales que se encuentran centralmente, paracentralmente y subterminalmente en esporangios no estirados. La morfología colonial es variable: las colonias pueden ser arrugadas e irregulares, y no son pigmentadas. La mayoría son lisas y opacas. Su temperatura de crecimiento es 5 - 50 °C. El crecimiento se produce a pH 6.0 y 9.5, aunque algunas cepas crecen a pH de 4.5 (De Vos *et al.*, 2009).

Existen diferentes estudios que indican que *Bacillus pumilus* contiene enzimas, tales como lacasas y peroxidasas, que contribuyen a la oxidación del Mn. Además, forma esporas, por lo que resiste altas concentraciones de cloro. Esta bacteria puede habitar en aguas subterráneas y potables (Cerrato *et al.*, 2010; Gounot, 1994).

3.3 Caracterización morfológica y bioquímica

Los resultados del análisis de la morfología de las colonias de la cepa CASC se muestran en la Tabla 3.4; son similares a lo reportado por De Vos *et al.* (2009), quienes mencionan que las colonias de *Bacillus* pueden ser arrugadas e irregulares, no pigmentadas y en gran mayoría lisas y opacas. En la Figura 3.3 se observa la morfología de las colonias de la cepa CASC, mientras que en la Figura 3.4 se muestra la tinción de esporas de esta cepa, que son ovaladas y subterminales. En la Tabla 3.5 se muestran los resultados de la caracterización bioquímica de la cepa CASC y de dos bacterias de referencia. Cabe resaltar que los resultados de la cepa CASC son idénticos a diez de los reportados para *Bacillus* según De Vos *et al.* (2009).

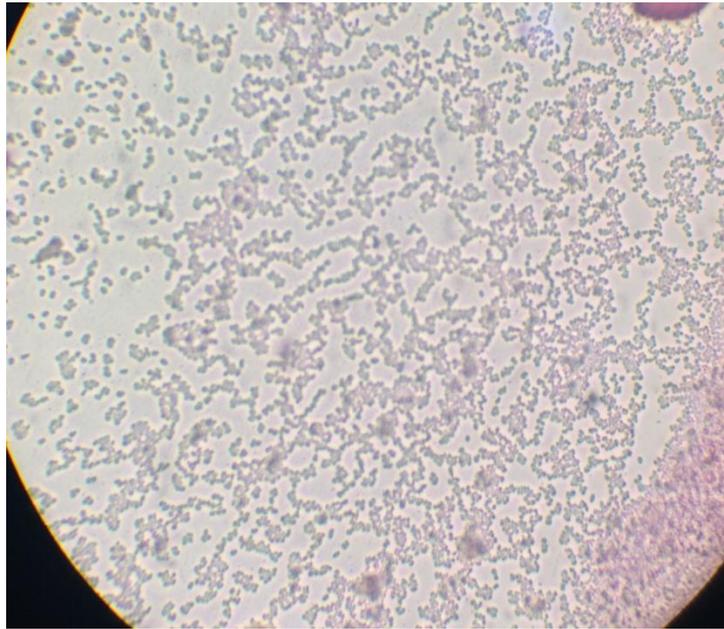
Tabla 3.4 Morfología colonial y crecimiento de CASC en medio de cultivo sólido, crecida a 25°C por 48 horas

Forma	Borde	Elevación	Textura	Color	Crecimiento en tubo inclinado por estría recta	Crecimiento superficial en medio líquido	Crecimiento en medio semi-sólido por punción
Circular	Entero	Convexa	Viscosa	No pigmentado	Difuso	Pelculado	Papilar

Figura 3.3 Colonias de la cepa CASC, con elevación convexa, forma circular y sin pigmentación**Tabla 3.2** Resultados de la caracterización bioquímica de CASC

Pruebas Bioquímicas	CASC	Ec	Bs
Tinción de Gram	+	-	-
Tinción de Esporas	+	-	+
Tinción de Flagelos	+	+	+
Fenilalanina desaminasa	-	+	-
Reducción de NO ₃ ⁻	-	+	+
Voges-Proskauer	+	+	-
Tolerancia a NaCl	-	+	+
Sulfuro	+	+	-
Indol	+	+	-
Movilidad	+	+	-
Catalasa	+	+	-
Hidrólisis de Caseína		+	+
Hidrólisis de Esculina	+	+	+
Hidrólisis de Gelatina	-	+	-
Hidrólisis de Almidón	-	-	+
Crecimiento en glucosa	+	+	++
Crecimiento en fructosa	++	ND	++
Crecimiento en ramnosa	++	+	+
Crecimiento en rafinosa	++	-	++
Crecimiento en lactosa	+++	+	+
CASC: Cepa Aislada de Santa Cruz; Ec: <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218; Bs: <i>Bacillus subtilis</i> CDBB-B 1009 Crecimiento: + Escaso; ++ Moderado; +++ Abundante ND: No determinado			

Figura 3.4 Cepa CASC, con esporas ovaladas subterminales

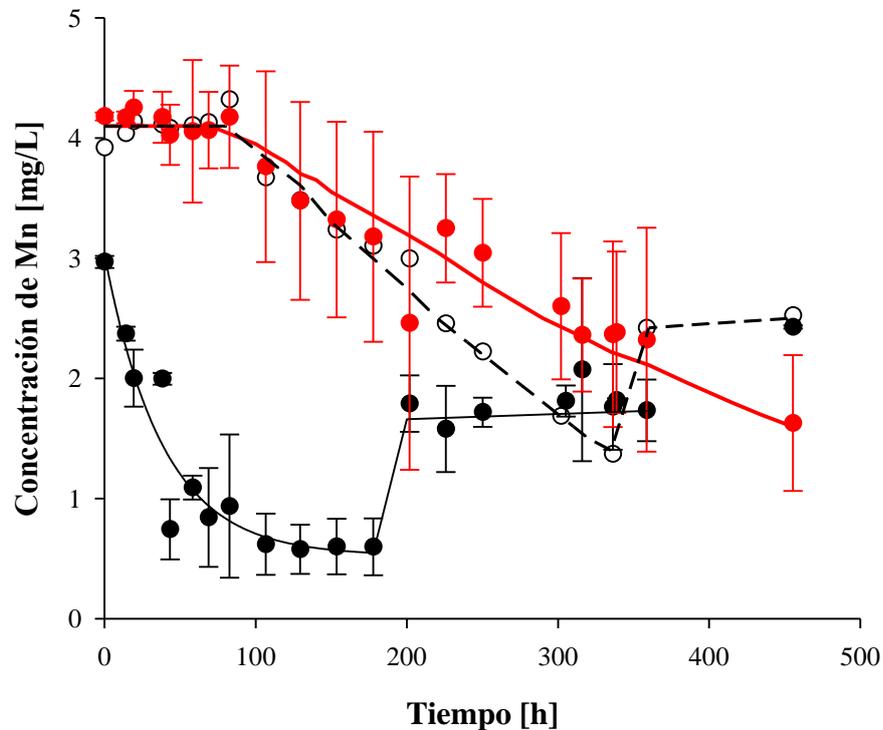


3.4 Evaluación de la remoción de Mn

El Gráfico 3.1 muestra los resultados del seguimiento de la concentración del Mn contenido en el agua subterránea de la localidad de Santa Cruz luego de que se le pusiera en contacto con la cepa CASC. En paralelo se corrieron dos testigos abióticos distintos; en el primero (denominado control) no se agregó la cepa CASC, mientras que el segundo sí se inoculó con dicha cepa, mas posteriormente se sometió a esterilización para inactivarla.

Como indica la Gráfico 3.1, en los ensayos inoculados y activos se observó un período de latencia de alrededor 80 horas, durante las cuales la concentración de Mn no se modificó apreciablemente. Cabe destacar que esta concentración inicial del agua subterránea de Santa Cruz (más de 4 mg/L) es muy superior al límite máximo permisible establecido por la legislación mexicana para el agua de abastecimiento, a saber, 0.15 mg/L (SSA, 2000). Tras 80 horas de exposición, el contenido del metal empezó a disminuir a velocidad constante; esta tendencia se mantuvo hasta el final de la evaluación. Al cabo de 450 horas de cultivo, la remoción de Mn alcanzó 61%. Debe señalarse la gran variabilidad de los datos arrojados por los ensayos inoculados con la cepa CASC viable, que se reflejó en su desviación estándar (representada por las barras de error de la curva).

Gráfico 3.1 Seguimiento de la concentración de Mn en el agua subterránea de Santa Cruz. Los símbolos representan los promedios de los datos experimentales excepto para el matraz control (○), para el que no se realizaron réplicas. Las barras de error representan la desviación estándar de los datos. Las líneas representan tendencias aproximadas



- : Matraces inoculados con la cepa CASC viable
- : Matraces inoculados con la cepa CASC y posteriormente autoclavados)

El control (testigo no inoculado) siguió una tendencia semejante: la concentración de Mn empezó a disminuir después de una latencia de cerca de 80 horas, pero a una velocidad mayor que la mostrada por los ensayos inoculados. Sin embargo, luego de aproximadamente 340 horas, la remoción de Mn cesó y la concentración de este metal empezó a aumentar. Lo anterior podría explicarse por la formación abiótica de óxidos de Mn, que a su vez adsorbieron Mn disuelto a su superficie. Así, el aumento de la concentración del metal podría deberse a una desorción del Mn disuelto. Tras 450 horas de evaluación, la remoción del metal fue del 42%.

Los testigos inoculados y posteriormente esterilizados exhibieron una disminución en la concentración de Mn disuelto completamente distinta; esta remoción, también abiótica, siguió una cinética de primer orden durante las primeras 180 horas de evaluación. Después de este tiempo, también se constató un incremento en la concentración del Mn disuelto. En estos matraces, la biomasa inactivada podría haber servido como catalizador de la formación abiótica de óxidos de Mn que, como en el caso del ensayo control, habrían adsorbido Mn disuelto durante la primera fase de la evaluación. Luego de 180 horas, se habría producido también una desorción del metal.

4 Conclusiones

Se logró aislar una cepa del agua subterránea de la localidad de Santa Cruz (CASC), que fue identificada como *Bacillus pumilus*. Las caracterizaciones morfológica y bioquímica de la CASC ratifican este resultado. Los ensayos realizados para monitorear la remoción del Mn disuelto en el agua de Santa Cruz por parte de *B. pumilus* mostraron, por una parte, cierta eficacia, aunque en un periodo extendido; por otra parte, esta eliminación fue parecida a la alcanzada de modo abiótico. Nuestros resultados muestran lo problemático que resulta distinguir la oxidación biótica del Mn de la que no lo es, y este inconveniente deberá ser subsanado para demostrar concluyentemente la factibilidad del empleo de *B. pumilus* en el tratamiento del agua de la comunidad de Santa Cruz.

5 Agradecimientos

Los autores reconocen el apoyo financiero del PRODEP-SEP al proyecto "Remoción biológica de Fe y Mn de agua subterránea mediante la obtención de Óxidos Biológicos con Potencial Valor Agregado" (Red Temática de Colaboración en Ingeniería de Procesos Avanzados de Sistemas Ambientales). Los autores agradecen al Ing. Pablo Irving Frago López por su ayuda en la elaboración del mapa del sitio de muestreo. También agradecen a la Dra. Ma. Guadalupe Aguilera Arriola y al Dr. Victor Manuel Bautista de Lucio por proporcionar las facilidades para el uso del equipo Vitek MS Plus, del Laboratorio de Bacteriología Médica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. D. A. Rivera-Rodríguez agradece la beca otorgada por el Consejo Mexicano de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

6 Referencias

- Amos-Kroohs, R. M., Bloor, C. P., Qureshi, M. A., Vorhees, C. V., Williams, M. T. (2015). Effects of developmental exposure to manganese and/or low iron diet: Changes to metal transporters, sucrose preference, elevated zero-maze, open-field, and locomotion in response to fenfluramine, amphetamine and MK-801. *Toxicology Reports*, 2, 1046-1056.
- APHA (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22nd edition. American Public Health Association American, American Water Works Association y Water Environment Federation, Washington D. C., pp. 3-14, 4-115, 4-120, 4-156 y 9-56.
- Arango, Á. (2004). La biofiltración, una alternativa para la potabilización del agua. *Lasallista de Investigación*, 1(2), 61-66.
- Arcos, Y., Bentacur, J., Peñuela, G., Aguirre, N. (2013). Relación entre las formas solubles de hierro y manganeso y la presencia de bacterias oxidadoras de ambos elementos en el embalse Riogrande II-Don Matías (Antioquia, Colombia). *Revista Facultad de Ingeniería*, 55, 45-54.
- Ashassi-Sorkhabi, H., Moradi-Haghighi, M., Zarrini, G. (2011). The effect of *Pseudoxanthomonas* sp. as manganese oxidizing bacterium on the corrosion behavior of carbon steel. *Materials Science and Engineering C*, 32, 303-309.
- Basu, O. D., Dhawan, S., Black, K. (2016). Applications of biofiltration in drinking water treatment – a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 91(3), 585-595.
- Beiger, K., Jernelöv, A. (1999). General aspect of specific data on ecological effects of metals. In *Handbook on the toxicology of metals*, 2nd edition. Elsevier, London, pp. 253-268.

- Benson, H. (2002). Microbiological Applications. In *Laboratory Manual in General Microbiology*, 8th edition. Mc Graw Hill, New York, E.U.A.
- Berretta, C., Sansalone, J. (2012). Fate of phosphorus fractions in an adsorptive-filter subject to intra- and inter-event runoff phenomena. *Environment Management*, 103, 83-94.
- Blanchard, C. L., Hidy, G. M., Tanenbaum, S. (2014). Ozone in the southeastern United States: An observation-based model using measurements from the SEARCH network. *Atmospheric Environment*, 88, 192- 200.
- Carmichael, M., Carmichael, S., Santelli, C., Strom, A., Bauer, S. (2013). Mn(II)-oxidizing bacteria are abundant and environmentally relevant members of ferromanganese deposits in caves of the Upper Tennessee River basin. *Geomicrobiology Journal*, 30(9), 779-800.
- Cerrato, J., Falkinham, J., Dietrich, A., Knocke, W., McKinney, C., Pruden, A. (2010). Manganese-oxidizing and -reducing microorganisms isolated from biofilms in chlorinated drinking water systems. *Water Research*, 44, 3935-3945.
- Chunyan, L., Shuting, W., Xiaopeng, D., Xiaosong, C., Meng, F., Ning, H., Dapeng, L. (2016). Immobilization of iron- and manganese-oxidizing bacteria with a biofilm-forming bacterium for the effective removal of iron and manganese from groundwater. *Bioresource Technology*, 220, 76–84.
- CNA (2015). Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero Apan (1320), Estado de Hidalgo. Comisión Nacional del Agua, México D. F. Recuperada el 6 de julio de 2017, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/103069/DR_1320.pdf.
- De Palma, S. (1993). Oxidación de Manganeso por *Pseudomonas putida*. Tesis de la Universidad de Harvard, Cambridge, Massachusetts, 63-69.
- De Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N., Ludwig, W., Rainey, F., Schleifer, K., Whitman W. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume Three: The *Firmicutes*, 2nd Edition. Springer-Verlag, New York, pp. 19-21.
- Ehrlich, H. L. (1997). Microbes and Metals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48, 687-692.
- Emerson, D., Ghiorse, W. (1992). Isolation, Cultural Maintenance, and Taxonomy of a Sheath-Forming Strain of *Leptothrix discophora* and Characterization of Manganese-Oxidizing Activity Associated with the Sheath. *Environmental Microbiology*, 58, 4001-4010.
- Flores, A. R. (6 de noviembre de 2016). Grave contaminación con manganeso en pozo de Santa Cruz. Plaza Juárez. Recuperado el 14 de agosto de 2017, de <http://www.plazajuarez.mx/index.php/region/item/48968-grave-contaminacion-con-manganeso-en-pozo-de-santa-cruz>
- Garrity, G. M., Bell, J.A., Lilburn, T. G. (2004). Taxonomic Outline of the Prokaryotes. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition. Release 5.0. Springer-Verlag, New York, pp. 1-399.
- Geszvain, K., Butterfield, C., Davis, R. E., Madison, A. S., Lee, S. W., Parker, D. L., Soldatova, A., Spiro, T. G., Luther, G. W., Tebo, B. M. (2012). The molecular biogeochemistry of manganese (II) oxidation. *Biochemical Society Transactions*, 40(6), 1244-1248.

- Gounot, A. M. (1994). Microbial oxidation and reduction of manganese: consequences in groundwater and applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 14(4), 339-349.
- Gregory, J., Yifan, E., Bradley, M. (2006). Manganese (II)-oxidizing *Bacillus* spores in Guaymas basin hydrothermal sediments and plumes. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5), 3184-3190.
- Gregory, E., Staley, J. (1982). Widespread Distribution of Ability to Oxidize Manganese Among Freshwater Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 44, 509-511.
- Juárez-Santillán, L. F., Lucho-Constantino, C. A., Vázquez-Rodríguez, G. A., Cerón-Ubilla, N. M., Beltrán-Hernández, R. I. (2010). Manganese accumulation in plants of the mining zone of Hidalgo, Mexico. *Bioresource Technology*, 101, 5836-5841.
- Kielemoes, J., Bultinck, I., Storms, H., Boon, N., Verstraete, W. (2001). Occurrence of manganese-oxidizing microorganisms and manganese deposition during biofilm formation on stainless steel in a brackish surface water. *Microbial Ecology*, 39, 41-55.
- Li, C., Wang, S., Du, X., Cheng, X., Fu, M., Hou, N., Li, D. (2016). Immobilization of iron- and manganese-oxidizing bacteria with a biofilm-forming bacterium for the effective removal of iron and manganese from groundwater. *Bioresource Technology*, 220, 76-84.
- Mouchet, P. (1992). From Conventional to Biological Removal of Iron and Manganese in France. *Journal-American Water Works Association*, 84(4), 158-167.
- Rodríguez, A. A., Villaseñor, M. G., Canet, C., Prol-Ledesma, R., Camprubí A. (2005). Clasificación de los yacimientos de manganeso y ejemplos de depósitos mexicanos e internacionales. *Boletín de Mineralogía*, 16, 33-43.
- Salem, M. G., Amin, E. (2012). Enhanced removal of dissolved iron and manganese from nonconventional water resources in Delta District, Egypt. *Energy Procedia*, 18, 983-993.
- SSA (2000) NOM-127-SSA1-1994, Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, Secretaría de Salud, México. Recuperada el 18 de diciembre de 2015, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m127ssa14.html>
- Tang, W., Gong, J., Wu, L., Li, Y., Zhang, M, Zeng, X. (2016). DGGE diversity of manganese mine samples and isolation of a *Lysinibacillus* sp. efficient in removal of high Mn (II) concentrations. *Chemosphere*, 165, 277-283.
- Tekerlekopoulou, A. G., Pavlou, S., Vayenas, D. V. (2013). Removal of ammonium, iron and manganese from potable water in biofiltration units: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 88(5), 751-773.
- Templeton, A., Staudigel, H., Tebo, B. (2005). Diverse Mn(II)-Oxidizing Bacteria Isolated from Submarine Basalts at Loihi Seamount. *Geomicrobiology Journal*, 22, 127-139.
- WHO (2011). *Manganese in Drinking-water*. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water, World Health Organization, Ginebra. Recuperado el 20 septiembre de 2015, de http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/manganese.pdf

Yepis, O., Fundora, O., Pereira, C., Crespo, T. (1999). La contaminación ambiental por el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados en el cultivo del tomate. *Scientia Gerundensis*, 24, 5-12.

Zaragoza, J. (2011). Aislamiento de cepas de *Bacillus* productoras de proteasas con potencial uso industrial. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Efectos benéficos de *Trichoderma* y su regulación de la expresión génica de celulasas y hemicelulasas

Cocet Castañeda Casasola, Yuridia Mercado Flores, Alejandro Téllez Jurado, Artemio Mendoza Mendoza, Miguel Anducho Reyes

C. Castañeda¹, Y. Mercado¹, A. Téllez¹, A. Mendoza², M. Anducho¹

¹Laboratorio de Agrobiotecnología. Universidad Politécnica de Pachuca, Hidalgo, México.

²Bio-Protection Research Centre. Lincoln University, Lincoln, Nueva Zelanda.

cocet987@hotmail.com

F. Trejo, (eds.). Ciencias Biológicas y de la Salud. Proceedings-©ECORFAN-México, Pachuca, 2017.

Abstract

Trichoderma spp. are free-living fungi that are highly interactive in root, soil and foliar environments as well as biological control agents (Harman et al., 2004). The competence for space and nutrients, the production of toxic metabolites that prevent the colonization of phytopathogenic microorganisms and mycoparasitism based on direct antagonism of plant pathogens, are a mechanism in biocontrol (Viterbo et al., 2010). During the interaction with the roots of the plants, *Trichoderma* conferring beneficial attributions as the promotion of growth and the increase of systemic resistance, exerting effects on the development and productivity of plants (Harman, 2006).

In the early stages of colonization *Trichoderma* spp. degrades the cell wall of plants, it is constituted mainly by cellulose and hemicellulose and whose degradation is mediated by the participation of hydrolytic enzymes. The production of the enzymes necessary for the hydrolysis of the cell wall of plants is regulated at the transcriptional level by Transcription Factors, binding proteins to regulatory DNA sequences that bind to the promoters of genes that activate or repress transcription of genes involved in the synthesis of cellulase and hemicellulase enzymes.

Genetic regulation research, focused on the expression of lytic enzymes in *Trichoderma* spp. can be useful for the increase in xylanase y cellulase activity (Van Peij et al., 1998; Stricker et al., 2008) responsible for the degradation of cellulose and hemicellulose of plant biomass for the bioproduction of high-added value compounds.

Colonización, Factor de transcripción, Enzimas hidrolíticas

1 Introducción

Las especies del género *Trichoderma* spp. son microorganismos de vida libre, simbioses de plantas y ampliamente utilizados como agentes de control biológico (Harman *et al.*, 2004). La competencia por espacio y nutrientes, la producción de metabolitos tóxicos que impiden la colonización de microorganismos fitopatógenos y el micoparasitismo basado en el antagonismo directo de los patógenos de las plantas, son mecanismos en el biocontrol (Viterbo et al., 2010). Durante la interacción con las raíces de las plantas, *Trichoderma* spp. confiere atribuciones benéficas entre las que destaca la promoción del crecimiento y el aumento de la resistencia sistémica, ejerciendo efectos sobre el desarrollo y productividad de las plantas (Harman, 2006).

Durante las primeras etapas de colonización *Trichoderma* spp. degrada la pared celular de las plantas, constituida principalmente por celulosa y hemicelulosa y cuya degradación esta mediada por la participación de enzimas hidrolíticas. La producción de las enzimas necesarias para la hidrólisis de la pared celular de las plantas, se ve regulada a nivel transcripcional por Factores de Transcripción, proteínas de unión a secuencias de DNA reguladoras que se unen a los promotores de genes logrando activar o reprimir la transcripción de genes involucrados en la síntesis de enzimas celulasas y hemicelulasas.

Investigaciones en regulación genética, enfocadas en la expresión de enzimas hidrolíticas de *Trichoderma* spp., logran ser de utilidad para el incremento en la actividad xilanasa y celulasa (Van Peij et al., 1998; Stricker et al., 2008) encargadas de degradar celulosa y hemicelulosa de la biomasa vegetal para la para la bioproducción de compuestos de alto valor agregado.

2 El Género *Trichoderma*

Las especies del género *Trichoderma* (Hypocreales, Ascomycetes), son hongos filamentosos cosmopolitas, es decir, son hongos que pueden ser aislados de ecosistemas terrestres y ecosistemas acuáticos (Zhang *et al.*, 2005). En suelos, algunas especies se caracterizan por ser organismos de vida libre, oportunistas, simbioses de plantas, y micoparásitos. Además, debido a su alta capacidad reproductiva, pueden colonizar distintos ambientes, (Bissett, 1991, Harman *et al.*, 2004; Argumedo-Delira *et al.*, 2009). Su descripción morfológica y fisiológica indica que las especies del género *Trichoderma* presentan en su estado vegetativo, un micelio con septos simples, haploides y con una pared compuesta por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente mediante conidióforos hialinos ramificados organizados en fiálides simples o en grupos con conidios de 3 a 5 μm de diámetro, generalmente ovalados, unicelulares y coloreados usualmente de verde (Martínez *et al.*, 2013).

Asimismo, presentan la capacidad de producir clamidosporas, las cuales son estructuras vitales para la su sobrevivencia en condiciones adversas (Martínez *et al.*, 2013). Son hongos aeróbicos con la capacidad de tolerar un amplio intervalo de temperaturas (McBeath & Adelman, 1991). Los valores óptimos de pH para su crecimiento se encuentran entre 5.5 a 6.5, y en algunos casos se ha reportado que para su desarrollo en suelos se requiere un 60% de humedad. La alternancia de la luz y su espectro influyen en la esporulación, pigmentación y producción de metabolitos secundarios (Wells *et al.*, 1972; Purschwitz *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2013).

3 Control Biológico

Las enfermedades de las plantas son un obstáculo importante para incrementar los rendimientos de diversos cultivos dando lugar a grandes pérdidas económicas. Una alternativa ambiental segura para controlar las enfermedades es el control biológico, el cual se basa en las interacciones antagónicas naturales entre los microorganismos (Viterbo *et al.*, 2010).

El uso de *Trichoderma* spp. como agente de control biológico, se debe básicamente a su habilidad de reducir enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, mediante mecanismos que implican la competencia por espacio y nutrientes, antibiosis y micoparasitismo (Benhamou & Chet, 1997), logrando establecerse en la rizosfera vegetal actuando como microorganismos simbioses y oportunistas avirulentos (Harman *et al.*, 2004; Shores *et al.*, 2010).

3.1 Competencia por espacio y nutrientes

La competencia por espacio y nutrientes ha sido considerada uno de los mecanismos en el biocontrol dentro del género *Trichoderma*, la cual es definida como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato y/o nutrientes), siempre y cuando la utilización por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás (Infante *et al.*, 2009). La ubicuidad en suelos y rápida tasa de desarrollo del género *Trichoderma*, les permite a estos hongos, competir por espacio durante la colonización de la rizósfera de plantas. Asimismo, la producción de enzimas hidrolíticas, le permiten degradar eficiente y versátilmente la materia orgánica y utilizarlos como fuente de carbono y nitrógeno, lo que permite colonizar y evitar la proliferación de otros microorganismos en el mismo hábitat. También se ha reportado que algunas cepas de *Trichoderma* son capaces de producir sideróforos, los cuales quelan los iones hierro, generando un déficit de nutrientes para otros hongos p. ej. *Botrytis cinerea* (Błaszczuk *et al.*, 2014).

Otra característica recientemente reportada en cepas de *Trichoderma harzianum*, fue la producción y actividad mejorada de hidrofobinas durante la colonización de la raíz de la planta, lo que permite la unión de filamentos miceliales a superficies de raíces hidrófobas. Además, las cepas de *Trichoderma* son resistentes a fitoalexinas, flavonoides, terpenoides y fenoles que son compuestos tóxicos producidos por las plantas en respuesta a infecciones (Blaszczuk et al., 2014).

3.2 Antibiosis

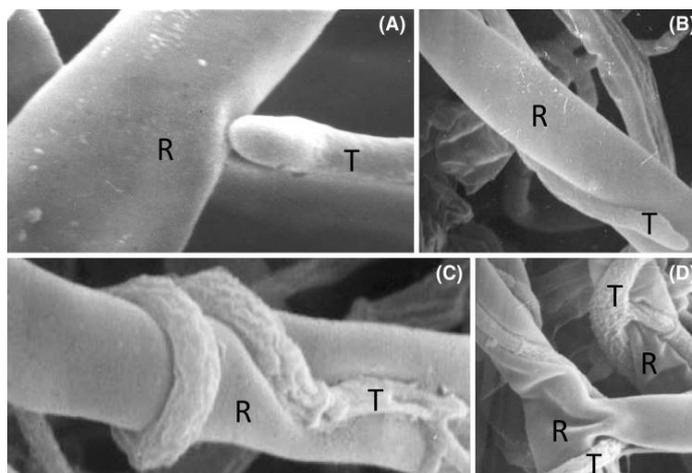
La antibiosis es el proceso basado en la inhibición del crecimiento de un organismo por el producto metabólico (enzimas hidrolíticas, metabolitos secundarios y pequeñas moléculas tóxicas) de otro sin contacto físico. Las cepas de *Trichoderma* producen metabolitos tóxicos volátiles y no volátiles que impiden colonización por microorganismos antagónicos, actualmente se han caracterizado químicamente más de 180 metabolitos secundarios que provocan un efecto inhibitorio o letal en microorganismos fitopatógenos (Gams & Bisset 1998; Reino et al., 2008) entre estos metabolitos, se ha descrito que *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii* son productores del antibiótico volátil 6PAP (6-pentil- α -pirona) que inhibe el crecimiento de los hongos fitopatógenos *B. cinerea*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*.

En el caso de los peptaiboles, estos pueden presentar actividad inhibitoria o letal hacia hongos, bacterias Gram-positivas y algunos virus y se caracterizan por ser moléculas polipeptídicas de 500-2200 Da, con extremos N-acetilados y amino-alcoholes C-terminales y abundantes en aminoácidos no proteínogénicos, particularmente ácido α -aminoisobutírico (Degenkolb et al., 2003). Los compuestos que pertenecen a esta clase incluyen tricotoxinas A y B, tricodeceninas, tricorovinas, tricocelinas, trichorzianinas A y B, tricorzinas HA y MA, tricolonginas BI y BII, longibraquinas, atroviridinas A-C y neoatroviridinas A-D (Blaszczuk et al., 2014). Otros compuestos con propiedades antibacterianas y fungicidas incluyen a las koningininas, viridinas, dermadinas, lignorenininas y koningicinas, las cuales han sido utilizadas para el control biológico de *R. solani*, *F. oxysporum*, *Botrytis alli*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacterioides fragilis* (Howell et al., 1998; Reino et al., 2008; Blaszczuk et al., 2014).

3.3 Micoparasitismo

El micoparasitismo producido por *Trichoderma* esta basado en el antagonismo directo de los patógenos de las plantas en el suelo o en las raíces de las plantas (Viterbo & Horwitz, 2010). El micoparasitismo ejercido por algunas de las especies de *Trichoderma*, es un proceso complejo que implica el crecimiento quimioorganotrófico sobre su huésped, mediante mecanismos de atracción, sujeción, enrollamiento y penetración de la hifa. La actividad de las enzimas líticas frecuentemente se combina con la producción de antibióticos, incrementando el nivel de antagonismo (Monte, 2001). Howell (2003), reportó que la degradación parcial de las paredes celulares en los hongos fitopatógenos *B. cinerea* y *F. oxysporum* por enzimas líticas facilitó la penetración más fácil de los antibióticos a las células patógenas (Blaszczuk et al., 2014).

Figura 4.1 Micoparasitismo de *Trichoderma virens* (T) en *Rhizoctonia solani* (R). A) atracción, B) sujeción, C) enrollamiento, D) penetración de la hifa del huésped



Fuente: (Mukherjee, 2011)

4 Interacciones de *Trichoderma* con otros microorganismos y plantas

Además del control biológico producido por especies de género *Trichoderma*, se sabe ahora que algunas cepas también interactúan íntimamente con las raíces de las plantas, colonizando las capas externas de la epidermis (Harman et al., 2004), obteniendo e incrementando la inmunidad de la planta contra patógenos invasores (Shoresh & Harman, 2008a, Vargas et al., 2011). La presencia de *Trichoderma* en la rizosfera establece una relación benéfica, mejorando la adecuación de las plantas en respuesta a estrés biótico y abiótico, la capacidad para colonizar las raíces mediante la interacción microorganismo-planta se asocia a numerosos efectos benéficos sobre las plantas, entre los que destaca la promoción del crecimiento y el aumento de la resistencia sistémica (Harman et al., 2004; Shoresh et al., 2010; Keswani et al., 2014).

4.1 Promoción del crecimiento vegetal

Trichoderma spp. estimula el crecimiento y desarrollo de raíces en plantas durante su colonización, se han sugerido mecanismos basados en la adherencia, la penetración y la colonización interna de las raíces de las plantas (Hermosa et al., 2012) mediante la intervención de metabolitos tóxicos y factores de crecimiento (Hermosa et al., 2012), además posee la capacidad de solubilizar metales (zinc, magnesio, hierro o cobre) convirtiéndolos a nutrientes asimilables para la planta. El hongo produce auxinas, hormona vegetal que controla muchos aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas lo que, a su vez, facilita la colonización e incrementa la absorción de nutrientes (Contreras-Cornejo et al., 2009; Grossmann, 2010). Al igual que las auxinas los Compuestos Orgánicos Volátiles (VOCs), compuestos lipófilos de bajo peso molecular han sido reconocidos como moléculas claves en la promoción del crecimiento de las plantas (Paul & Park, 2013; Garnica-Vergara et al., 2015; Lee et al., 2016).

4.2 Inducción de resistencia sistémica (IRS)

Las plantas están expuestas a microorganismos patógenos y simbioses. Las estrategias eficaces para detectar el peligro y crear respuestas de defensa son cruciales para la supervivencia de las plantas (Lorenzo et al., 2011). La activación de defensas de las plantas, así como el refuerzo de la pared celular y la acumulación de compuestos antimicrobianos (Chacón et al., 2007, Contreras-Cornejo et al., 2011, Salas-Marina et al., 2011) se ven reflejados, desencadenando respuestas vegetales que pueden resultar una mayor capacidad defensiva de la planta (Bailey et al., 2006, Alfano et al., 2007, Morán-Diez et al., 2012). Las plantas son resistentes a la mayoría de los microorganismos patógenos a través de la inmunidad innata, y el mecanismo de defensa sistémica (Coninck et al., 2011; Hermosa et al., 2013). Con base a las lesiones, las plantas pueden activar su resistencia de dos maneras distintas: resistencia sistémica adquirida (SAR) y resistencia sistémica inducida (ISR) (Zipfel, 2014). En la ISR no sólo es iniciada por los patógenos, también es inducida por la colonización de las raíces y la interacción con el sistema mutualista o microorganismos promotores del crecimiento de las plantas (PGPR) (Djonovic et al., 2007).

Las primeras respuesta implican flujos de iones a través de la membrana plasmática, la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la eliminación de calosa (polisacárido compuesto por residuos de glucosa unidos entre sí por enlaces β -1,3, denominado beta-glucano) (Shoresh et al., 2010). En muchos casos, el ácido salicílico o el ácido jasmónico, junto con el etileno (ET) o el óxido nitroso, inducen una cascada de eventos que conducen a la producción de una variedad de metabolitos y proteínas con funciones diversas (Hammerschmidt et al., 2001, Shoresh et al., 2010), pero también se ha demostrado que los compuestos secretados incluyendo antibióticos, biosurfactantes y compuestos orgánicos volátiles provocan resistencia sistémica.

Aunque no existe una comprensión clara del proceso de reconocimiento de plantas por *Trichoderma*, se han descrito varios inductores que pueden activar la inmunidad basal de la planta (Hermosa et al., 2013). Se conocen tres clases de compuestos producidos por cepas de *Trichoderma* que inducen resistencia en plantas. Estas moléculas son homólogos de proteínas codificadas por los genes de avirulencia (Avr4, Avr9 y LysM) (De Wit et al., 2002; Harman et al., 2004; Stergiopoulos & De Wit, 2009; De Jonge et al., 2010; Kubicek et al., 2011), oligosacáridos y/o compuestos de bajo peso molecular (peptaiboles) (Engelberth et al., 2001; Hanson & Howell, 2004; Luo et al., 2010; Hermosa et al., 2012) y proteínas con funciones enzimáticas (xilanasas, celulasas y swolleninas) (Martínez et al., 2001; Brotman et al., 2008; Pieterse et al., 2009), que se liberan de las paredes celulares de hongos o plantas por actividad enzimática (Harman et al., 2004; Hermosa et al., 2013).

5 Regulación transcripcional de las enzimas que degradan la pared celular de las plantas

Durante la interacción de *Trichoderma* con las raíces de las plantas la producción de enzimas tiene un papel importante en la degradación de la pared celular, permitiendo el acceso del microorganismo a los tejidos vegetales (Salmond, 1994). Dicha producción es controlada por la regulación de la transcripción en *Trichoderma* spp. Esta característica regula la expresión genética, logrando la secreción de enzimas en respuesta a carbohidratos disponibles y mediados por factores de transcripción.

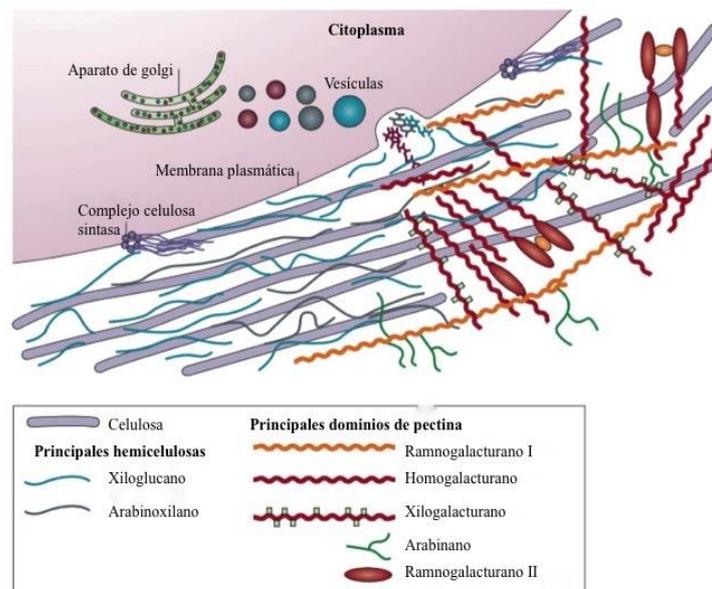
5.1 Componentes de la pared celular

La composición y estructura de la pared celular varía ligeramente entre las especies de plantas. La figura 4.2 muestra la composición básica presente en la mayoría de las especies vegetales, contiene microfibras de celulosa, hemicelulosa y pectina que junto con las proteínas forman una estructura rígida y compleja (Cosgrove, 2005).

La celulosa esta formada por enlaces β -1,4-D-glucosa de forma lineal, donde las moléculas de glucosa forman enlaces por puente de hidrogeno formando una microfibrilla cristalina mecánicamente fuerte y altamente resistente al ataque enzimático (Cosgrove. 2005). Por otra parte, la hemicelulosa es usualmente clasificada de acuerdo a los principales residuos de azúcar en la cadena principal del polímero, se presenta en forma de Xiloglucano que consiste en una columna vertebral de xilosa con residuos de glucosa, galactosa y fructosa. Arabinoxilano que consiste en un esqueleto de 1,4- β -D-xilano con cadenas laterales de arabinosa y otras moléculas, como el ácido glucurónico y ésteres de ácido ferúlico. El xilano es el sustrato hemicelulolítico más abundante presente en la pared celular de maderas duras y cereales.

Este complejo heteropolisacárido contiene una columna vertebral de β -1,4-D-xilosa que puede ser ramificado por L-arabinosa, D-galactosa, además de residuos de acetilo, feruloil y ácido p-cumárico y glucurónico dependiendo la fuente de xilano. Mientras que los mananos se encuentran en cantidades menores. Los principales polisacáridos de pectina incluyen el ramnogalacturonano I y el homogalacturonano, con cantidades menores de xilogalacturonano, arabinano, arabinogalactano I y ramnogalacturonano II. Debido a su composición química y a la naturaleza de este sustrato, la degradación completa de la celulosa y xilano requiere de la acción de varios mecanismos para su completa descomposición.

Figura 4.2 Estructura de la pared celular primaria



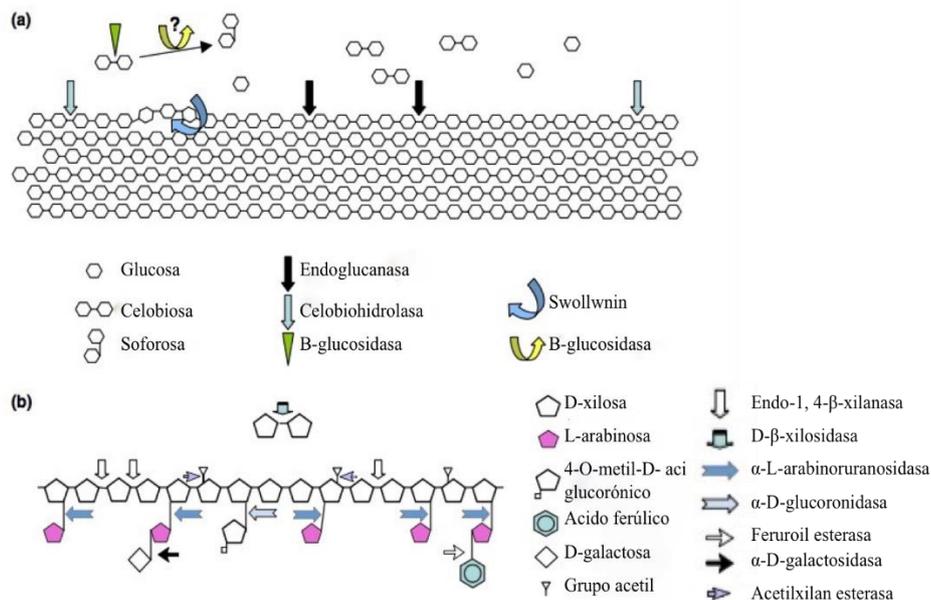
Fuente: Cosgrove, 2005

5.2 Enzimas implicadas en la degradación de la celulosa y hemicelulosa

La pared celular vegetal consiste principalmente en los grandes biopolímeros celulosa, y hemicelulosa. Estos biopolímeros son degradados con la ayuda de enzimas extracelulares que actúan sobre los enlaces glicosídicos terminales y/o internos. Estas son conocidas como enzimas de degradación de la pared celular (CWDE's). En la figura 4.3 (a) se muestra la acción de las enzimas celulasas donde actúan tres diferentes tipos; celobiohidrolasas (1,4- β -D-glucan celobiohidrolasas, EC 3. 2. 1. 91) que rompen unidades de celobiosa de los extremos del polisacárido, endoglucanasas (1,4- β -D-glucan-4-glucanohidrolasas, EC 3. 2. 1. 4) encargadas de cortar las cadenas de celulosa internamente de las regiones amorfas proporcionando más extremos para que actúen las celobiohidrolasas y β -glucosidasa (EC 3. 2. 2. 21) que hidrolizan la celobiosa a glucosa.

Por otra parte, la figura 4.3 (b) muestra la hidrólisis del xilano por la acción sinérgica de enzimas, endo-xilanasas (endo- β -1,4-xilanasas, EC 3.2.1.8) encargadas de romper internamente la cadena principal, exo-xilanasas (β -D-xilosidasas EC 3.2.1.37) liberan azúcares monoméricos y enzimas auxiliares que rompen cadenas laterales de polímeros u oligosacáridos que conducen a la liberación de monosacáridos o disacáridos. Además de enzimas encargadas de romper las ramificaciones de la cadena principal del xilano, entre los que participan enzimas en la degradación de arabinofuranosa (α -L-arabinofuranosidasas, EC 3.2.1.55), ácido glucurónico (β -glucuronidasas, EC 3.2.1.139), ácido ferúlico (ácido ferúlico esterasa, EC 3.1.1.73) y grupos acetil (acetilxilan esterasa, EC 3.1.1.72).

Figura 4.3 Degradación de celulosa y hemicelulosa. (a) sitios para las principales actividades de las enzimas celulolíticas y (b) sitios para las principales actividades de las enzimas hemicelulolíticas



Fuente: Aro et al., 2005

5.3 Regulación de los genes que codifican para enzimas celulosas y hemicelulasas

Los principales genes de celulosa y hemicelulosa son regulados de forma coordinada por la fuente de carbono disponible (Foreman et al., 2003; Aro et al., 2005), induciendo o reprimiendo la expresión de genes de celulosa y hemicelulosa. De tal manera que la producción de estas enzimas depende de un equilibrio entre los efectos de inducción y represión catabólica de los distintos compuestos presentes en el sustrato o medio de cultivo.

La regulación de los genes de la celulosa se ha analizado a nivel molecular principalmente en *T. reesei*, y se ha descrito la mayor variedad de compuestos que provocan la expresión de la celulosa para este hongo (Suto & Tomita, 2001; Aro et al., 2005; Amore et al., 2013; Gutiérrez-Rojas et al., 2015). La soforosa es el inductor soluble más potente y ha sido durante muchos años considerado como el inductor natural de las celulosas, pero es específica sólo para ciertos hongos incluyendo *Trichoderma reesei*, *Aspergillus terreus* y *Penicillium purpurgengen*, ya que se ha demostrado que la soforosa no induce expresión de celulosa en *Penicillium janthinellum*, *Penicillium chrysosporium*, *Aspergillus nidulans* y *Aspergillus niger* (Gielkens et al., 1999; Nazir et al., 2010; Sun et al., 2012).

Igualmente, se ha demostrado que el crecimiento en presencia de celobiosa, xilobiosa, xilosa y sorbosa induce la expresión de la celulasa en *T. reesei* (Ilmén et al., 1997; Suto & Tomita, 2001). Por otra parte el disacárido lactosa es actualmente la única fuente de carbono soluble y económicamente factible que permite la expresión del gen de la celulasa y ha sido utilizada como fuente de carbono en la producción de enzimas homólogas y proteínas heterólogas bajo el promotor *cbh1* en *T. reesei* (Penttilä, 1998). Sin embargo aun no se entiende la expresión que provoca el efecto de la lactosa, ya que, no es un componente de los polímeros de la pared celular de la planta y en presencia de D-glucosa la transcripción se encuentra reprimida, mientras que en ausencia de ésta y en la presencia de celulosa la transcripción es fuertemente inducida (Suto & Tomita, 2001).

La producción de hemicelulasas por *T. reesei* se induce en presencia de celulosa, xilano, arabinano, soforosa, xilobiosa y L-arabitol. Se ha demostrado que la xilobiosa induce genes de *T. reesei* implicados en la hidrólisis de xilano, los genes de xilanasas (*xyn1* y *xyn2*) y β -xilosidasa (*bx11*), así como los genes de enzima α -galactosidasa (*agl1* y *agl2*) y α -glucuronidasa (*glr1*) (Margolles-Clark et al., 1997). Además, la expresión del otro gen xilanasas (*xyn2*) ha demostrado ser parcialmente constitutiva e inducible por xilobiosa y soforosa (Zeilinger et al., 1996). Sin embargo la xilosa a concentraciones muy bajas puede actuar como un inductor (Margolles-Clark et al., 1997) y a concentraciones más altas como represora, como se ha demostrado en *A. niger* (De Vries et al., 1999). Mientras que la arabinosa y L-arabitol inducen la expresión de un conjunto de genes que codifican enzimas implicadas en la degradación del arabinoxilano, por ejemplo, los genes que codifican arabinofuranidasas (*afbA* y *afbB*) y arabinoxilano arabinofuranohidrolasa (*axhA*) en *A. niger* (de Vries et al., 1994; Gielkens et al., 1997). Por otra parte, L-arabitol induce la expresión de *xyn1*, *xyn2*, *bx11*, *agl1*, *agl2*, y el gen *abf1* que codifica la α -L-arabinofuranosidasa (Margolles-Clark et al., 1997).

5.4 Factores de transcripción que regulan la expresión génica de celulasa y hemicelulasa

La producción de enzimas celulasas y hemicelulasas es regulada principalmente a nivel transcripcional (Raulo et al., 2016) por factores de transcripción (FT), proteínas de unión a secuencias de DNA reguladoras que se unen a los promotores de genes que codifican las enzimas implicadas en la degradación de los biopolímeros (Aro et al., 2005; Kowalczyk et al., 2015).

Durante los últimos años, los genes que codifican las enzimas degradantes de la pared celular de la planta han demostrado estar sujetos a regulación por diversos factores y algunos han sido caracterizados. Varios estudios genómicos y transcriptómicos se han realizado en *T. reesei* para revelar la proteómica funcional de las enzimas celulolíticas y hemicelulolíticas. Productos génicos que codifican las enzimas lignocelulolíticas de *T. reesei* están coordinadamente regulados por un conjunto de FT, tales como *XYR1*, *ACE1*, *ACE2*, *CRE1* y *HAP 2/3/5* (Bischof et al., 2015), que son necesarios para la regulación positiva y negativa de la producción enzimática (Aro et al., 2005; Stricker et al., 2007; Dashtban et al., 2011).

El principal regulador positivo de la expresión genética de celulasas y hemicelulasas para la degradación de xilano es *XyrI* (Stricker et al., 2006; Stricker et al., 2008; Van Peij y et al., 1998, Stricker y et al., 2006, Mach-Aigner y et al., 2012), es una proteína de unión al DNA con un cluster binuclear de zinc. Esta proteína se une al motivo 5'GGCTA3' ubicado como una repetición invertida separada por 10 pb en la región promotora (Rauscher et al., 2006; Stricker et al., 2006). Se demostró que la regulación transcripcional de los principales genes hidrolíticos que codifican para los genes *xyn1* y *xyn2* (xilanasas I y II), *cbh1* y *cbh2* (celobiohidrolasas I y II) y *egl1* (endoglucanasa I) es estrictamente dependiente de *Xyr1* (Stricker et al., 2008). La regulación de los genes a través de *Xyr1* no es afectada por D-xilosa, xilobiosa, soforosa y lactosa (Stricker et al., 2007, Stricker et al., 2006). La expresión de *Xyr1* está regulada exclusivamente por represión catabólica por carbono bajo el regulador negativo *Cre1*-dependiente (Mach-Aigner et al., 2008; Stricker et al., 2007).

El regulador transcripcional XlnR (gen ortólogo del FT Xyr1 de *T. reesei*) de *Aspergillus niger*, ha demostrado estar regulado por los genes XlnB, XlnC y XlnD que codifican endoxilanasas B, endoxilanasas C y β -xiliosidasa, respectivamente. También está implicado en la activación de los genes de transcripción de celulasa, tales como las que codifican para las dos endoglucanasas eglA y eglB (Van Peij et al., 1998; Gielkens et al., 1999). Además, el XlnR ha demostrado que afecta positivamente la transcripción de varios genes implicados en la degradación de hemicelulosa, incluyendo glucuronidasa A, acetilxilanesterasa A, arabinofuranohidrolasa A y feruloilesterasa A (Amore et al., 2013).

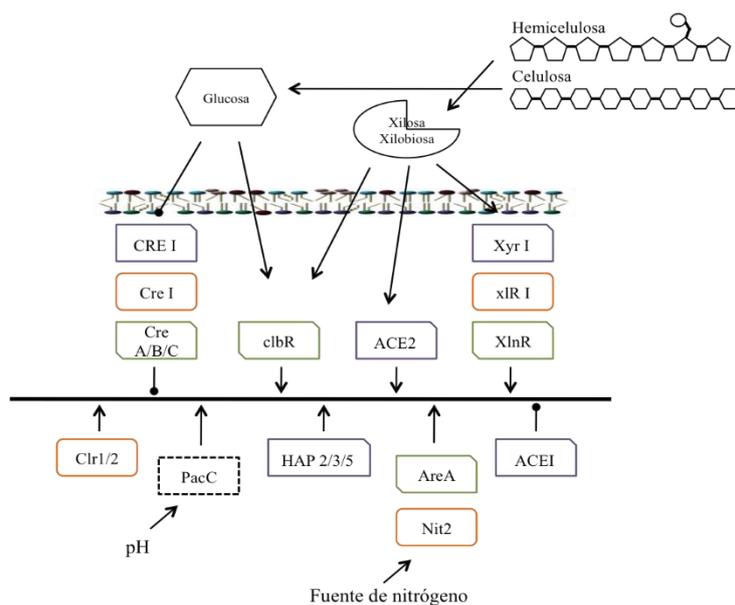
Los FT como ACE1, ACE2 y ACE3 son responsables de la regulación de la celulasa y la hemicelulasa que codifican los genes en *T. reesei* (Aro et al., 2003; Häkkinen et al., 2014), al igual que Xyr1, los FT ACE2 y ACE3 son una proteína con un cluster binuclear de zinc. El gen ACEII (*ace2*) es un regulador de transcripción positivo de genes que codifican para xilanasas y varias enzimas celulolíticas. Se ha demostrado que se unen in vitro a 5'GGCTAATAA del promotor del gen *cbh1* y *xyn2* de *T. reesei* y regula los genes *cbh1*, *cbh2*, *egl1*, *egl2* y *xyn2* (Aro et al., 2001), y la reducción de la actividad total de la celulasa por 30-70%. El gen *Ace1* de *T. reesei* codifica para un FT de tipo Cys2-His2 y se demostró que se unen in vitro a ocho sitios que contienen la secuencia 5' AGGCA dispersos a lo largo del promotor *cbh1*. La delección de *Ace1* dio lugar a un aumento en la expresión de los genes de celulasa y dos genes de xilanasas en cultivos inducidos por soforosa y celulosa, indicando que ACEI actúa como represor de la expresión de celulasa y xilanasas (Aro et al., 2003). También se ha demostrado que ACEI compite con XyrI por el sitio de unión (Rauscher et al., 2006) y reprime la expresión génica de Xyr1 (Mach-Aigner et al., 2008). Se obtuvo más evidencia sobre la función antagónica de ACEI hacia XYRI combinando la expresión constitutiva de Xyr1 bajo un promotor fuerte y la regulación negativa de *Ace1*, lo que condujo a una producción mejorada de actividad de celulasa y xilanasas por *T. reesei* Rut-C30 cultivado en celulosa (Wang et al., 2013).

La clave en la represión de la glucosa en *Trichoderma spp.*, se debe al FT Cre1 de tipo Cys2His2 (Ilmén et al., 1996; Dowzer & Kelly, 1991), la dinámica de represión catabólica de Cre1 ha sido mejor comprendida gracias al estudio del mutante RUT-C30, el cual Cre1 aparece truncado y solo codifica para una de las 2 regiones de "dedos de zinc" de la proteína Cre1. De esta manera, *T. reesei* RUT-C30 produce celulasas y hemicelulasas en un medio que contiene glucosa, y cuando se complementa la mutación con el gen Cre1 de la cepa silvestre se restaura el fenotipo de represión por glucosa (Ilmén et al., 1996). Además, se ha determinado que el papel de Cre1 va más allá de no permitir la represión por glucosa al demostrar que la delección de Cre1 en una cepa silvestre lleva al incremento tanto en la actividad como en la cantidad de RNAm de celulasas en un medio con glucosa, resultado esperado por la liberación de la represión catabólica (Nakari-Setälä et al., 2009). También se observó que la producción de celulasas en el medio con glucosa fue mucho más baja que en un medio con celulosa para la cepa deficiente en Cre1, así como un aumento en la producción de proteínas en el medio con celulosa, evidenciando que Cre1 juega un papel importante en la modulación de la expresión de genes de celulasas bajo condiciones de inducción.

Por otra parte, se ha reportado que los genes CreA, CreB y CreC (genes ortólogos de *T. reesei*) de *Aspergillus spp.* están involucrados en el mecanismo de regulación de la represión de catabólica de carbono (Dowzer & Kelly, 1991; Todd et al., 2000; Lockington & Kelly, 2001). La represión por CreA en *Aspergillus* ha demostrado que codifican celulasas, arabinasas, endoxilanasas y otras actividades xilanolíticas como xilosidasa, feruloil esterasa y algunas pectinasas (De Vries & Visser, 2001). En *A. niger*, la expresión de genes xilanolíticos y celulolíticos es fuertemente reprimida por glucosa, fructosa y D-xilosa. Esta represión es mediada fundamentalmente por CreA, que es el ortólogo de Cre1 en *T. reesei* (De Vries et al., 1999; Ruijter & Visser, 1997). De Vries et al., (1999) evaluaron esta dinámica comparando la expresión de genes xilanolíticos en una cepa silvestre y una mutante para CreA encontrando que el nivel de expresión de estos genes depende del balance entre la inducción por XlnR y la represión por CreA.

La D-xilosa es liberada gradualmente del xilano, lo que lleva a una baja concentración de D-xilosa en el medio. Bajo estas condiciones la represión por D-xilosa mediada por CreA es baja y se detectan niveles altos de expresión. Cuando los niveles de D-xilosa en el medio alcanzan concentraciones de 70 mM, la represión a través de CreA juega un papel más importante, resultando una disminución de los niveles de expresión (De Vries et al., 1999). En la Figura 4.4 se muestran los FT positivos y negativos que se conocen hasta el momento, en los 3 modelos estudiados, *T. reesei*, *A. niger* y *N. crassa*, responsables de dicha regulación.

Figura 4.4 Representación esquemática de los factores que afectan a la transcripción celulasas y xilanasas expresión en *T. reesei* (recuadro morado), *Neurospora crassa* (caja naranja) y *Aspergillus* spp. (verde)



Fuente: Amore et al., 2013

Estudios recientes, han evaluado los niveles relativos de expresión de los genes que codifican las actividades hidrolasa y los genes que codifican elementos de regulación, tales como el AreA, PacC y CreA, mediante técnicas de PCR en tiempo real (RT-qPCR) empleadas para identificar posibles mecanismos de regulación transcripcional en *Aspergillus oryzae* durante fermentación en estado sólido (McKelvey & Murphy, 2010).

Mientras que, Sun y Glass (2011) evaluaron el nivel de expresión de genes y la actividad de celulasas en una mutante para el ortólogo de Cre1/CreA en *N. crassa*. Cuando este mutante se sembró en un medio con Avicel® como única fuente de carbono, mostró una mayor velocidad en el consumo del sustrato en comparación con la cepa silvestre, alcanzando el 30% más de proteínas secretadas al medio y el aumento del 50% en la actividad de endoglucasas, demostrando el rol de Cre1 en la represión de la expresión de celulasas. Coradetti et al., (2012) reportaron dos nuevos factores de transcripción, para el crecimiento y la actividad enzimática sobre celulosa, pero no requeridos sobre hemicelulosa o xilano y, que codifican para factores de transcripción de la superfamilia del cluster binuclear de zinc específicos de hongos. Demostrando que Clr-1 es un elemento crítico en el mecanismo para la detección de celobiosa de *N. crassa*, durante su crecimiento en Avicel® promoviendo la expresión de genes necesarios para la utilización de celobiosa. Los estudios realizados en *T. reesei*, *A. niger* y, recientemente en *N. crassa* relacionados con los mecanismos de hidrólisis enzimática y los relacionados con la expresión de los genes que codifican a esas mismas, muestran similitudes y diferencias en los mecanismos de acción entre ellos.

Una de las mayores similitudes entre *T. reesei* y *A. niger* es la presencia de un FT Xyr1/XlnR responsable de la activación de la transcripción bajo condiciones de inducción. Además, en *T. reesei* se han identificado el regulador positivo Ace2, cuyo ortólogo no han sido reportados en *Aspergillus* spp. Otra característica en común en estos sistemas es el fenómeno de represión catabólica, en donde el producto final de la hidrólisis enzimática es el directo responsable de la regulación negativa a nivel transcripcional. Este mecanismo evita que el hongo sintetice una cantidad excesiva de celulasas cuando existe disponibilidad de otras fuentes de carbono fácilmente asimilables.

La regulación de los genes que codifican las enzimas necesarias para la degradación y asimilación de sustratos de gran complejidad por FT activa o reprime la transcripción de promotores específicos implicados en la síntesis y secreción de grandes cantidades de enzimas lignocelulolíticas a partir de la degradación de sustratos complejos presentes en el medio que se desarrollan.

Para el control de la expresión genética, el análisis de los mecanismos de acción enzimática y regulación es un área importante de la investigación. Donde las proteínas activadoras de la transcripción son las más estudiadas, que debido a la unión a secuencias de DNA reguladoras permiten incrementar la expresión de genes que codifican para la síntesis de enzimas hidrolíticas.

Diferentes estudios involucrados en la regulación transcripcional se han visto reflejados dentro del género *Trichoderma*. Hasta la fecha, algunos activadores de la transcripción han sido descritos de forma detallada (Rauscher *et al.*, 2006; Stricker *et al.*, 2006; Mach-Aigner *et al.*, 2008), por ello, el estudio de nuevos FT involucrados en la activación de enzimas xilanasas y celulasas de interés biotecnológico en otras especies permitirán el incremento en su producción. Muchas de las enzimas degradadoras de biopolímeros han recibido atención considerable por su aplicación potencial. El uso de enzimas degradadoras de lignocelulosa a partir de la hidrólisis de biomasa vegetal es objeto de estudio, ya que los azúcares liberados podrían servir de materia prima en la bioproducción de productos químicos y biocombustibles por microorganismos.

6 Importancia biotecnológica de *Trichoderma*

Los hongos del género *Trichoderma* spp. han sido explotados en aplicaciones biotecnológicas, el uso de algunas de estas especies resultan de interés para la producción de proteínas biológicamente importantes y son más conocidos por su capacidad para producir enzimas que degradan la celulasas y hemicelulasas utilizadas para despolimerizar la biomasa a azúcares simples que se convierten en productos intermedios químicos y biocombustibles, como el etanol. Por ello, que en los últimos años la búsqueda de nuevos genes encargados de la regulación enzimática a partir de microorganismos del género *Trichoderma* ha proporcionando información muy valiosa, evaluando las vías de regulación como respuesta a los diversos polímeros vegetales.

Los beneficios de *Trichoderma* spp. en la agricultura se debe a su capacidad para proteger los cultivos contra las enfermedades y aumentar el rendimiento de los cultivos en condiciones de campo (Lorito *et al.*, 2010) siendo los microorganismos más empleados, con más del 60% de los biofungicidas registrados en todo el mundo (Verma *et al.*, 2007). Son colonizadores de las raíces de muchas plantas como simbiontes vegetales oportunistas y avirulentos (Harman *et al.*, 2004) y utilizados como agentes de biocontrol, por su acción biológica contra sus competidores (Brotman *et al.*, 2010; Lorito *et al.*, 2010). Se ha reportado que promueve el crecimiento vegetal, facilita la absorción de agua, sales minerales, nutrientes y el uso de carbohidratos. Los mecanismos de defensa, la producción y secreción de enzimas, el desarrollo sexual y la respuesta a condiciones ambientales como nutrientes y luz han sido estudiados con gran detalle con muchas especies de este género.

Diversos estudios están enfocados en desarrollar cepas encargadas de producir metabolitos secundarios tales como antibióticos, micotoxinas, fitotoxinas (Mukherjee *et al.*, 2006, Shores & Harman, 2008b, 2008) y enzimas que degradan la pared celular (Sharma *et al.*, 2011; Hermosa *et al.*, 2012). *Trichoderma* es el género más estudiado, con el genoma de tres especies disponibles; *Trichoderma reesei*, *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma virens* (Schuster & Schmoll, 2010). En los últimos años, el incremento de estudios han contribuido a dilucidar la base molecular de la interacción *Trichoderma*-planta y los efectos beneficiosos para las plantas (Hermosa *et al.*, 2012), para diseñar cepas que sean más efectivas que las silvestres y con el objetivo de conocer los mecanismos moleculares de las interacciones de estos organismos con factores bióticos y abióticos.

7 Referencias

- Alfano G., Ivey ML., Cakir C., Bos JL., Miller SA., Madden LV., Kamoun S., Hoitink HA. (2007). Systemic Modulation of Gene Expression in Tomato by *Trichoderma hamatum* 382. *Phytopathology*. 97:429-37. doi: 10.1094/PHYTO-97-4-0429.
- Amore A., Giacobbe S., Faraco V. (2013). Regulation of Cellulase and Hemicellulase Gene Expression in Fungi. *Current Genomics*. 14, 230-249.
- Argumedo-Delira R., Alarcón A., Ferrera-Cerrato R., Peña-Cabriales JJ. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos, *Revista internacional de contaminación ambiental*. 25, 257-269.
- Aro N., Ilmén M., Saloheimo A., Penttilä M. (2003). ACEI of *Trichoderma reesei* is a repressor of cellulase and xylanase expression. *Applied and Environmental Microbiology* 69:56–65
- Aro N., Pakula T., Penttilä M. (2005). Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. *FEMS Microbiology Reviews*. 29, 719–739
- Aro N., Saloheimo A., Ilmén M., Penttilä M. (2001). ACEII, a novel transcriptional activator involved in regulation of cellulase and xylanase genes of *Trichoderma reesei*. *Journal of Biological Chemistry*. 276, 24309-24314.
- Bailey BA., Bae H., Strem MD., Roberts DP., Thomas SE., Crozier J., Samuels GJ., Chooi IY., Holmes KA. (2006). Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma* species. *Planta*. 224:1449-64.
- Benhamou N., Chet I. (1997). Cellular and Molecular Mechanisms Involved in the Interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 63, 2095–2099.
- Bischof RH., Horejs J., Metz B., Gamauf C., Kubicek C.P., Seiboth B. (2015). L-Methionine repressible promoters for tuneable gene expression in *Trichoderma reesei*. *Microbial Cell Factories*. 14, 14-120. doi: 10.1186/s12934-015-0308-3.
- Bissett J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Canadian Journal of Botany*. 69, 2373-2417.
- Blaszczyk L., Siwulski M., Sobieralski K., Lisiecka J., Jedryczka M. (2014). *Trichoderma* spp. – application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of plant protection research*. 54, 309-317.

- Brotman Y., Briff E., Viterbo A., Chet I. (2008). Role of swollenin, an expansin-like protein from *Trichoderma*, in plant root colonization. *Plant Physiol* 147, 779-789
- Brotman Y., Kapuganti JG., Viterbo A. (2010). *Trichoderma*. *Current Biology*. 20, R390-1. doi: 10.1016/j.cub.2010.02.042.
- Chacón MR., Rodríguez-Galán O., Benítez T., Sousa S., Rey M., Llobell A., Delgado-Jarana J. (2007). Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. *International Microbiology*. 10, 19-27.
- Coninck BD., Timmermans P., Vos C., Cammue BPA., Kazan K. (2015). What lies beneath: belowground defense strategies in plants. *Trends in Plant Sciences* 20, 91-101. doi: org/10.1016/j.tplants.2014.09.007.
- Contreras-Cornejo HA., Macías-Rodríguez L., Beltrán-Peña E., Herrera-Estrella A., López-Bucio J. (2011). *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. *Plant Signal Behav.* 6, 1554-63. doi: 10.4161/psb.6.10.17443.
- Contreras-Cornejo HA., Macías-Rodríguez L., Cortés-Penagos C., López-Bucio J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 149, 1579–1592. doi: 10.1104/pp.108.130369
- Coradetti ST., Craig JP., Xiong Y., Shock T., Tian C., Glass NL. (2012). Conserved and essential transcription factors for cellulase gene expression in ascomycete fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 109, 7397-402. doi:10.1073/pnas.1200785109.
- Crosgrave DJ., (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 6, 850-61.
- Dashtban M., Buchkowski R., Qin W. (2011). Effect of different carbon sources on cellulase production by *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*) strains. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2, 274-286.
- De Jonge R, Van Esse HP, Kombrink A, Shinya T., Desaki Y., Bours R., Van der Krol S., Shibuya N., Joosten M., Thomma B. (2010). Conserved fungal LysM effector Ecp6 prevents chitin-triggered immunity in plants. *Science*. 329, 953-955
- De Vries RP., Visser J. (2001). *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 65, 497-522.
- De Vries RP., Visser J., de Graaff LH. (1999). CreA modulates the XlnR induced expression on xylose of *Aspergillus niger* genes involved in xylan degradation. *Research in Microbiology*. 150, 281-285.
- De Vries MC., Tankersley RA., Forward RB., Kirby-Smith WW., Luettich RA. (1994) Abundance of estuarine crab larvae is associated with tidal hydrologic variables. *Marine Biology* 118, 403-413.

Degenkolb T., Berg A., Gams W., Shlegel B., Gráfe U. (2003). The occurrence of peptaibols and structurally related peptaibiotics in fungi and their mass spectrometric identification via diagnostic fragment ions. *Journal of Peptide Science* 9, 666-78.

Djonovic S., Vargas WA., Kolomiets MV., Horndeski M., Wiest A. Kenerley CM. (2007). A proteinaceous elicitor Sm1 from the beneficial fungus *Trichoderma virens* is required for induced systemic resistance in maize. *Plant Physiol.* 145, 875-889.

Dowzer CE., Kelly JM. (1991). Analysis of the CreA gene; a regulator of carbon catabolite repression in *Aspergillus nidulans*. *Molecular and Cellular Biology.* 11, 5701-5709.

Eberharther A., Becker PB. (2004). ATP-dependent nucleosome remodelling: factors and functions. *Journal of Cell Science.* 117, 3707-3711.

Engelberth J., Koch T., Schüler G., Bachmann N., Rechtenbach J., Boland W. (2001). Ion channel-forming alamethicin is a potent elicitor of volatile biosynthesis and tendrils coiling. Cross talk between jasmonate and salicylate signaling in lima bean. *Plant Physiology.* 125, 369-377.

Foreman PK., Brown D., Dankmeyer L., Dean R., Diener S., Dunn-Coleman NS., Goedegebuur F., Houfek TD., England GJ., Kelley AS, Meerman HJ., Mitchell T., Mitchinson C., Olivares HA., Teunissen PJ., Yao J, Ward M. (2003). Transcriptional regulation of biomass-degrading enzymes in the filamentous fungus *T. reesei*. *Journal of Biological Chemistry.* 278, 31988-31997.

Gams W., Bisset J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. pp. 3–34. In: “*Trichoderma and Gliocladium*” (G.E. Harman, C.P. Kubicek, eds.). Taylor & Francis, London, UK, pp. 393.

Garnica-Vergara A., Barrera-Ortiz S., Muñoz-Parra E., Raya-González J., Méndez-Bravo A., Macias-Rodríguez L., Ruiz-Herrera LF., Lopez-Bucio J. (2015). The volatile 6-pentyl- 2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ethylene insensitive 2 functioning. *New Phytologist.* 209, 1496-1512. doi: 10.1111/nph.13725

Gielkens M., Dekkers E., Visser J., de Graaff LH. (1999). Two cellobiohydrolase-encoding genes from *Aspergillus niger* require D-xylose and the xylanolytic transcriptional activator XlnR for their expression. *Applied and Environmental Microbiology.* 65, 4340-5.

Gielkens MM., Visser J. de Graaff LH. (1997). Arabinoxylan degradation by fungi: characterization of the arabinoxylan-arabinofuranohydrolase encoding genes from *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis*. *Current Genetics.* 31, 22-29

Grossmann K. (2010). Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Science.* 66, 113-120. doi: 10.1002/ps.1860

Gutiérrez-Rojas I., Moreno-Sarmiento N., Montoya D. (2015). Mechanisms and regulation of enzymatic hydrolysis of cellulose in filamentous fungi: classical cases and new models. *Revista Iberoamericana de Micología.* 32, 1-12. doi: 10.1016/j.riam.2013.10.009

Hakkinen M., Valkonen MJ., Westerholm-Parvinen A., Aro N., Arvas M., Vitikainen M., Penttilä M., Saloheima M., Pakula T. (2014). Screening of candidate regulators for cellulase and hemicellulase production in *Trichoderma reesei* and identification of a factor essential for cellulase production. *Biotechnol Biofuels.* 7, 14. doi: 10.1186/1754- 6834-7-14

- Hammerschmidt R., Metraux, JP. Van Loon LC. (2000). Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases. *European Journal of Plant Pathology*. 107, 1-6.
- Hanson LE., Howell CR. (2004). Elicitors of plant defense responses from biological control strains of *Trichoderma virens*. *Phytopathology*. 94, 171-6. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.2.171.
- Harman GE., Howell CR., Viterbo A., Chet I. Lorito M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2, 43-56.
- Harman GE. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. 96, 190-4. doi: 10.1094/PHYTO-96-0190.
- Hermosa R., Rubio MB., Cardoza RE., Nicolás C., Monte E., Gutiérrez S. (2013). The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *International Microbiology*. 16, 69-80.
- Hermosa R., Viterbo A., Chet I., Monte E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*. 158, 17-25
- Howell CR. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*. 87, 4-10.
- Howell CR. (1998). The role of antibiosis in biocontrol. In: Harman GE, Kubicek CP. *Trichoderma y Gliocladium*, vol. 2. Taylor & Francis, Padstow, pp 173-184
- Ilmén M., Saloheimo A., Onnela ML., Penttilä ME. (1997). Regulation of cellulase gene expression in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Applied and Environmental Microbiology*. 63, 1298-1306
- Ilmén M., Thrane C., Penttilä M. (1996). The glucose repressor gene cre1 of *T. virens*: isolation and expression of a full-length and a truncated mutant form. *Molecular Genetics and Genomics*. 251, 451-460.
- Infante D., Martínez B., González N., Reyes Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*. 24. 14-21.
- Keswani C., Mishra S., Sarma B., Singh S., Singh H. (2014). Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98, 533-544.
- Kowalczyk JE., Gruben BS., Battaglia E., Wiwbwnga A., Maljoor E., de Vries RP. (2015). Genetic Interaction of *Aspergillus nidulans* galR, xlnR and araR in Regulating D-Galactose and L-Arabinose Release and Catabolism Gene Expression. *PLoS One*. 18,10:e0143200. doi: 10.1371/journal.pone.0143200.
- Kubicek C., Herrera-Estrella A. Seidl-Seiboth V. Martinez D., Druzhinina I., Thon M., Zeilinger S., Casas-Flores S., Horwitz B., Mukherjee P., Mukherjee M., Kredics L., Alcaraz L., Aerts A., Antal Z., Atanasova L., Cervantes M., Challacombe J., Chertkov O., Grigoriev I. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biology*. 12. R40. 10.1186/gb-2011-12-4-r40.

- Lee S., Yap M., Behringer G., Hung R., Bennett JW. (2016). Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. *Fungal Biology and Biotechnology*. 3, 7. doi: 10.1186/s40694-016-0025-7
- Lockington RA., Kelly JM. (2001). Carbon catabolite repression in *Aspergillus nidulans* involves deubiquitination. *Molecular Microbiology* . 40, 1311-1321.
- Lorenzo DG., Brutus A, Savatin DV., Sicilia F., Cervone F. (2011). Engineering plant resistance by constructing chimeric receptors that recognize damage-associated molecular patterns (DAMPs). *FEBS Letters*. 585, 1521-1528.
- Lorito M., Woo SL. Harman GE., Monte E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. *Annual Review of Phytopatholog.* 48, 395-417. doi: 10.1146/annurev-phyto-073009-114314
- Lorito M., Woo SL., Harman GE., Monte E. (2010). Translational Research on *Trichoderma*: From 'Omics to the Field. *Annual Review of Phytopathology*. 48: 395-417.
- Luo Y., Zhang DD., Dong XW., Zhao PB., Chen LL., Song XY., Wang XJ., Chen XL., Shi M., Zhang YZ. (2010). Antimicrobial peptaibols induce defense responses and systemic resistance in tobacco against tobacco mosaic virus. *FEMS Microbiology Letters*. 313, 120-126.
- Mach-Aigner A. R., Pucher M. E., Steiger M.G., Bauer G.E., Preis S.J., Mach R.L. (2008). Transcriptional regulation of *xyr1*, encoding the main regulator of the xylanolytic and cellulolytic enzyme system in *Hypocrea jecorina*. *Applied and Environmental Microbiology*. 74, 6554-6562.
- Mach-Aigner AR, Omony J, Jovanovic B, van Boxtel AJB, de Graaff LH. D-xylose concentration-dependent hydrolase expression profiles and the function of CreA and XlnR in *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental Microbiology*. 78, 3145-55. doi:10.1128/aem.07772-11.
- Mach-Aigner, A. R., Pucher, M. E., Steiger, M. G., Bauer, G. E., Preis, S. J., and Mach, R. L. (2008). Transcriptional regulation of *xyr1*, encoding the main regulator of the xylanolytic and cellulolytic enzyme system in *Hypocrea jecorina*. *Applied and Environmental Microbiology*. 74, 6554-6562. doi: 10.1128/AEM.01143-08
- Margolles-Clark E., Ilmen M., Penttilä M. (1997). Expression patterns of ten hemicellulase genes of the filamentous fungus *Trichoderma reesei* on various carbon sources. *Journal of Biotechnology* 57, 167-179.
- Martínez B., Infante D., Reyes Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*. 28, 1-11.
- Martínez C., Blanc F., Le Claire E., Bernard O., Nicole M. (2001). Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. *Plant Physiology*. 127, 334-44.
- McBeath J, Adelman M. (1991). Taxonomy of a new *Trichoderma* found in Alaska. Abstract. *Phytopathology*. 81, 1151.
- McKelvey SM., Murphy RA. (2010). Analysis of wide-domain transcriptional regulation in solid-state cultures of *Aspergillus oryzae*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 37, 455-69. doi: 10.1007/s10295-010-0691-z.

- Monte E. (2001). Understanding *Trichoderma*, between biotechnology and microbial ecology. *International Microbiology*. 4, 1–4.
- Morán-Diez E., Rubio B., Domínguez S., Hermosa R., Monte E., Nicolás C. (2012). Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* after 24 h incubation with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *Journal of Plant Physiology*. 169, 614-20. doi: 10.1016/j.jplph.2011.12.016.
- Mukherjee M., Horwitz BA., Sherkhane PD., Hadar R., Mukherjee PK. (2006). A secondary metabolite biosynthesis cluster in *Trichoderma virens* evidence from analysis of genes underexpressed in a mutant of defective in morphogenesis and antibiotic production. *Current Genetics*. 50, 193-202.
- Nakari-Setälä T., Paloheimo M., Kallio J., Vehmaanperä J., Penttilä M., Saloheimo M. (2009). Genetic modification of carbon catabolite repression in *T. virens reesei* for improved protein production. *Applied and Environmental Microbiology*. 75, 4853-4860.
- Nazir A., Soni R., Saini HS., Kaur A., Chadha BS. (2010). Profiling differential expression of cellulases and metabolite footprints in *Aspergillus terreus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 162, 538-47. doi: 10.1007/s12010-009-8775-9.
- Paul D., Park KS. (2013). Identification of volatiles produced by *Cladosporium cladosporioides* CL-1, a fungal biocontrol agent that promotes plant growth. *Sensors (Basel)*. 13, 13969-13977. doi: 10.3390/s131013969
- Penttilä M. (1998). Heterologous protein production in *Trichoderma*. In: Harman GE, Kubicek CP (eds) *Trichoderma and Gliocladium*. Taylor and Francis, London, pp 365-382
- Pieterse CMJ., Leon-Reyes A., Vander S., Van Wees SCM. (2009). Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology*. 5, 308-316.
- Purschwitz J., Müller S., Kastner C., Fischer R. (2006). Seeing the rainbow: light sensing in fungi. *Current Opinion in Microbiology*. 9, 566-71
- Raulo R., Kokolski M., Archer DB. (2016). The roles of the zinc finger transcription factors XlnR, ClrA and ClrB in the breakdown of lignocellulose by *Aspergillus niger*. *AMB Express*. 6, 5. doi: 10.1186/s13568-016-0177-0.
- Rauscher R., Wurleitner E., Wacenovskiy E., Aro N., Stricker AR., Zeilinger S., Kubicek CP., Penttilä M., Mach RL. (2006). Transcriptional regulation of *xyn1*, encoding Xylanase I, in *Hypocrea jecorina*. *Eukaryotic Cell*. 5, 447-56.
- Rauscher R., Wurleitner E., Wacenovskiy E., Aro N., Stricker A.R., Zeilinger S *et al.* (2006). Transcriptional regulation of *xyn1*, encoding Xylanase I, in *Hypocrea jecorina*. *Eukaryot Cell*. 5, 447-56.
- Reino JL., Guerrero RF., Hernandez-Galan R., Collado IG. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*. 7, 89–123.
- Ruijter GJ, Visser J. (1997). Carbon repression in *Aspergilli*. *FEMS Microbiology*. 151, 103-14.

- Salas-Marina MA., Silva-Flores MA., Cervantes-Badillo MG., Rosales-Saavedra MT., Islas-Osuna MA., Casas-Flores S. (2011). The plant growth-promoting fungus *Aspergillus ustus* promotes growth and induces resistance against different lifestyle pathogens in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 21, 686-96.
- Salmond GPC. (1994). Secretion of extracellular virulence factors by plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*. 32, 181-200.
- Sharma R., Tan F., Jung KH., Sharma MK., Peng Z., Ronald PC. (2011). Transcriptional dynamics during cell wall removal and regeneration reveals key genes involved in cell wall development in rice. *Plant Molecular Biology*. 77, 391-406. doi: 10.1007/s11103-011-9819-4.
- Shoresh M., Harman GE. (2008b). The relationships between increased growth and resistance induced in plants by root colonizing microbes. *Plant Signal & Behavior* 3, 737-739.
- Shoresh M., Harman GE. (2008a). The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: A proteomic approach. *Plant Physiol*. 147, 2147-2163.
- Shoresh M., Harman GE., Mastouri F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu Rev Phytopathol* 48, 21-43.
- Stergiopoulos I., De Wit PJGM. (2009). Fungal effector proteins. *Annual Review of Phytopathology*. 47, 233-263.
- Stricker A. R., Grosstessner-Hain K., Wurleitner E., Mach R. L. (2006). Xyr1 (xylanase regulator 1) regulates both the hydrolytic enzyme system and D-xylose metabolism in *Hypocrea jecorina*. *Eukaryotic Cell*. 5, 2128-2137.
- Stricker AR., Grosstessner-Hain K., Wurleitner E., Mach RL. (2006). Xyr1 (xylanase regulator 1) regulates both the hydrolytic enzyme system and D-xylose metabolism in *Hypocrea jecorina*. *Eukaryotic Cell*. 5, 2128-2137
- Stricker, A. R., Steiger, M. G., and Mach, R. L. (2007). Xyr1 receives the lactose induction signal and regulates lactose metabolism in *Hypocrea jecorina*. *FEBS Letter*. 581, 3915-3920. doi: 10.1016/j.febslet.2007.07.025.
- Stricker AR., Mach RL., De Graff LH. (2008). Regulation of transcription of cellulases and hemicellulases-encoding genes in *Aspergillus niger* and *Hypocrea jecorina* (*T. virens reesei*). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 78, 211-220.
- Sun J., Glass NL. (2011). Identification of the CRE-1 cellulolytic regulon in *Neurospora crassa*. *PLoS ONE* e25654.
- Sun J., Tian C., Diamond S., Glass NL. (2012). Deciphering transcriptional regulatory mechanisms associated with hemicellulose degradation in *Neurospora crassa* *Eukaryotic Cell*. doi:10.1128/EC.05327-11.
- Suto M., Tomita F. (2001). Induction and catabolite repression mechanisms of cellulase in fungi. *Bioscience and Bioengineering*. 92, 305-11.

- Todd RB., Lockington RA., Kelly JM. (2000). The *Aspergillus nidulans* creC gene involved in carbon catabolite repression encodes a WD40 repeat protein. *Molecular Genetics and Genomics*. 263, 561-570.
- Van Peij, N.N., Visser, J. and de Graaff, L.H. (1998). Isolation and analysis of xlnR, encoding a transcriptional activator coordinating xylanolytic expression in *Aspergillus niger*. *Molecular Microbiology*. 27, 131-142.
- Verma M., Brar SK., Tyagi RD., Surampalli RY., Valéro JR. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*. 37, 1-20.
- Viterbo A., Landau U., Kim S., Chernin L., Chet I. (2010). Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. *FEMS Microbiology Letters*. 305, 42–48.
- Viterbo A., Horwitz B.A. (2010). Mycoparasitism. In *Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi*, vol. 42, pp. 676–693. Edited by K. A. Borkovich & D. J. Ebbole. Washington: American Society for Microbiology.
- Wang S, Liu G, Wang J, Yu J, Huang B, Xing M. (2013). Enhancing cellulase production in *Trichoderma reesei* RUT C30 through combined manipulation of activating and repressing genes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 40, 633-41. doi: 10.1007/s10295-013-1253-y.
- Wells H., Bell D., Jaworski C. (1972). Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*. 62, 442-447.
- Zhang C., Druzhinina I., Kubick CP., Xu T. (2005). *Trichoderma* biodiversity in China: evidence for a north to southern distribution of species in East Asia. *FEMS Microbiology Letter*. 251, 251-257.
- Zeilinger S., Mach RL., Schindler M., Herzog P., Kubicek CP. (1996). Different inducibility of expression of the two xylanase genes xyn1 and xyn2 in *Trichoderma reesei*. *Journal of Biological Chemistry*. 271, 25624-9.
- Zipfel C. (2014). Plant pattern-recognition receptors. *Trends in Immunology*. 35, 345-351, doi: 10.1016/j.it.2014.05.004.

Alimentos funcionales de la región del Altiplano y su capacidad antioxidante

Bethsua Mendoza, Edna María Hernández, Carlos Alberto Gómez y Erik Gómez

B. Mendoza, E.Hernández, C.Gómez y E. Gómez
Instituto Tecnológico Superior del Oriente del Estado de Hidalgo
egomez@itesa.edu.mx

F. Trejo, (eds.).Ciencias Biológicas y de la Salud, Proceedings-©ECORFAN-México, Pachuca, 2017.

1 Introducción

La oxidación es un proceso bioquímico de pérdida de electrones siempre asociado a otro de captación que llamamos reducción. Esta oxidación es fundamental para la vida pues participa en los procesos de obtención de la energía celular (Elejande, 2001). Los radicales libres causan dicha oxidación, estos son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células (Arevalo y Suwalsky, 2006).

Cuando existe un exceso de oxidación aparece el estrés oxidativo que es una realidad compleja en todos los niveles biológicos que no se puede medir ni definir con un solo parámetro. Hay una multitud de enfermedades que se han relacionado con el estrés oxidativo y la generación de radicales libres. Por esto, terapias antioxidantes y dietas ricas (como la dieta mediterránea) o enriquecidas con antioxidantes parecen prevenir o al menos disminuir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso de estrés oxidativo (Elejande, 2001). Estudios realizados en una amplia gama de países y grupos de la población, han demostrado que existe una relación inversa entre el consumo per cápita de frutas y hortalizas y el riesgo de enfermedades cardiovasculares e incluso algunos cánceres. De la misma manera se reportan beneficios para personas que padecen diabetes tipo 2, beneficios oculares e incluso en la función pulmonar (Buttriss et al. 2002).

Los antioxidantes son sustancias con capacidad para oponerse a la acción del oxígeno y de ciertas especies oxidantes, independientemente de su mecanismo (Elejande, 2001). El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar o interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente, ya sea, membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular (Veneo, 2002).

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres. Estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluyen la vitamina E, vitamina C y los carotenoides. La vitamina C constituye el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, mientras que la vitamina E es el antioxidante lipofílico mayoritarios.

El selenio, el más tóxico de los minerales incluidos en nuestra dieta, actúa junto con la vitamina E como antioxidante, esta vitamina se encuentra en vegetales, aceites de semilla, germen de trigo, maní, carne, pollo, pescado y algunas verduras y frutas, en tanto la vitamina C se puede encontrar en frutas y verduras. Los carotenoides son compuestos coloreados tales como los betacarotenos, presentes en verduras y frutas amarillas y anaranjadas, y en verduras verdes oscuras, los alfa carotenos en la zanahoria, los licopenos en el tomate, las luteínas y xantinas en verduras de hojas verdes como el brócoli, y las betas criptoxantinas en frutas cítricas. Recientemente se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes, los compuestos fenólicos.

Algunas fuentes son los frijoles (isoflavonas), cítricos (flavonoides), cebolla (quercenita) y polifenoles (aceitunas). También se han encontrado algunos antioxidantes fenólicos en el café, vino tinto y té. Por esta razón la forma de suplir los antioxidantes para proteger al organismo del efecto oxidativo producido por los radicales libres es el consumo de alimentos ricos en vitamina E, C, carotenoides y otras sustancias que tienen función antioxidante, tales como los compuestos fenólicos (Avello y Suwalsky, 2006).

Las investigaciones sobre la importancia de los antioxidantes en sistemas biológicos debido a que contrarrestan el estrés oxidativo responsable de diferentes enfermedades como arterosclerosis, diabetes, desordenes neurodegenerativos y ciertos tipos de cáncer han despertado un gran interés para determinar la capacidad antioxidante de un gran número de componentes presentes en los alimentos.

En la ciencia de los alimentos, un antioxidante se define como un compuesto presente en los alimentos que cuando se encuentra presente a bajas concentraciones es capaz de prevenir bajo condiciones fisiológicas normales los efectos adversos de algunas especies reactivas de oxígeno y nitrógeno por sus siglas en inglés (ROS/RNS) (Halliwell et al., 1995). Dentro de los mecanismos de acción de los compuestos antioxidantes se pueden mencionar los siguientes: a) cuando sirven de barreras físicas para prevenir la generación de ROS o para prevenir su acceso a sitios biológicos importantes por ejemplo filtros UV, b) acción como trampas químicas que absorben energía y electrones como los carotenoides y antocianinas, c) sistemas catalíticos que neutralizan los ROS por ejemplo enzimas (catalasa), d) inactivación por formación de enlace para prevenir la generación de ROS por ejemplo la ferritina.

En años recientes en diversas investigaciones se ha demostrado que alimentos de origen vegetal y subproductos de estos, contienen importantes cantidades de compuestos que debido a sus características estructurales poseen actividad antioxidante, entre los que se encuentran el capulín (*Prunus serotina*) y el agua miel (obtenido del agave).

2 Desarrollo

2.1 Capulín, Generalidades

El género *Prunus*, perteneciente a la familia *Rosaceae* y a la subfamilia *Amygdaloidae*, es un género botánico conformado por alrededor de 400 especies de árboles y arbustos (Maynard et al., 1991). Inicialmente, el género *Prunus* fue subdividido en 5 subgéneros diferentes: *Amygdalus*, *Cerasus*, *Laurocerasus*, *Padus* y *Prunus*. Sin embargo, estudios filogenéticos recientes, agrupan a las distintas especies de este género en dos grandes ramas monofiléticas; el primero conformado por los subgéneros *Cerasus*, *Laurocerasus* y *Padus*, y el segundo conformado por los subgéneros *Amygdalus*, *Emplectocladus* y *Prunus* (Bortiri et al., 2006). A través de las rutas comerciales *Prunus serotina* ha sido trasladada de un continente a otro, por el hecho de ser un género que se ha destacado en el ámbito agrícola por poseer especies frutales de mucha importancia a nivel económico y comercial; ejemplos de ello son: el cerezo (*P. Cerasus* y *P. Avium*), el albaricoque (*P. Armeniaca*), el almendro (*P. Dulcis*), el durazno (*P. Persica*), entre otros (USDA, 2008).

P. serótina se distribuye en México principalmente en cuatro regiones: septentrional, occidental, central y del sudeste, con las regiones central y occidental, donde las tres subespecies de *P. serótina* (*capulí*, *serótina* y *virens*) convergen. Además, las tres subespecies presentes en México comparten nichos ecológicos en las regiones occidental y central, que incluye los estados de Michoacán, Estado de México, Tlaxcala y Querétaro. El Capulín en el oeste y centro de México crece en zonas cercanas a los bosques de *Quercus* y *Pinus* con 400-900 mm de lluvia al año. *Prunus serótina* también se encuentran distribuidas en todo el mundo, especialmente en Asia, Norteamérica, como Nueva Escocia a Minnesota, Florida, Texas, Arizona, México y Europa.

El capulín, en el centro de México estaba cerca de los asentamientos humanos, ya que sus frutos y madera son de interés antropocéntrico. Esta especie actúa de vanguardia para ambientes perturbados, lo que le da un uso potencial adicional. En la región occidental, los seres humanos históricamente no manejan mucho los árboles de Capulín. Es posible encontrar capulines en los claros de vegetación, quebradas, y los campos agrícolas y en las carreteras. Por lo tanto, teniendo en cuenta los conceptos de diversificación de las especies presentadas, a través de los continuos procesos de diversificación y la domesticación. Las regiones estudiadas tienen los requisitos medioambientales y las características culturales para apoyar la diversificación de las especies (Fresnedo et al., 2011).

2.2 Composición química y capacidad antioxidante

En la literatura científica se reportan diferentes trabajos sobre esta planta, se ha encontrado que las hojas y flores de la planta contienen compuestos fenólicos que le confieren gran poder antioxidante principalmente asociado a algunos efectos terapéuticos como el tratamiento de la hipertensión. Se ha encontrado además que las semillas del fruto son ricas en ácido oleico, en algunos trabajos se ha establecido la presencia en un extracto (acetona-agua) de la cascara, de cinidina – 3 – rutinosido, cianidina-3-glucosido y un tercer pigmento posiblemente de tipo rutinósido en el fruto de Capulín de México (Hurtado y Pérez, 2013). Por otro lado, Jimenez, Castillo, Azuara y Beristain, (2011), mencionan que desde tiempos ancestrales el capulín ha sido utilizado para la prevención de enfermedades respiratorias y diarrea, gracias a que contiene una gran variedad de compuestos fenólicos tales como flavonoides y taninos, cuyas propiedades antioxidantes y antibacterianas están ampliamente documentadas.

García-Aguilar et al., (2015) y Rivero-Cruz, (2014) reportaron estudios químicos y farmacológicos de las hojas, frutos y semillas de *P. serótina*, mostrando que el extracto metanólico de las hojas condujo al aislamiento del compuesto hiperósido y ácido ursólico como los principales compuestos con efecto vasodilatador. También se encontró que el alcohol bencílico, el benzaldehído, el alcohol cinámico y el cinamaldehído eran los principales constituyentes del aceite esencial obtenido de las hojas, estos compuestos promovieron la relajación del músculo liso vascular. Respecto a los frutos de *P. serotina*, encontramos un alto contenido de compuestos fenólicos como el ácido clorogénico, el ácido gálico, el ácido cafeico, la catequina, la epicatequina, la quercetina y los glucósidos de kaempferol, que están directamente relacionados con la alta capacidad antioxidante. Además, la caracterización físico-química y química del aceite de semilla de cerezo negro demostró que está compuesto principalmente de ácidos grasos poliinsaturados, incluyendo ácido oleico, linoleico y α -eleosteárico. Estos resultados apoyan la potencial importancia terapéutica del aceite de semilla de *P. serotina*, ya que se ha demostrado ampliamente que el consumo de ácidos grasos insaturados reduce los lípidos plasmáticos y reducir la aterogénesis por la disminución de la inflamación de los macrófagos y las células endoteliales vasculares. Además, se ha informado que el ácido α -eleosteárico es efectivo en la supresión del crecimiento de células cancerígenas y ha sido propuesto como un agente en las quimioterapias contra el cáncer.

Nuestro grupo de trabajo recientemente se ha dedicado a la elaboración de productos alimenticios a base de capulín, con el objetivo de dar un valor agregado al fruto, se ha logrado la elaboración y caracterización fisicoquímica de mermelada y licor, también se estudió la capacidad antioxidante de extractos etanólicos del fruto (pulpa y cascara), encontrando una correlación fuerte y directamente proporcional de la capacidad antioxidante total con la concentración de compuestos flavonoides (catequina y quercetina), y además el porcentaje de inhibición de los radicales libres es mayor a la reportada por frutos como guayaba, mango, entre otras frutas tropicales (Mendoza-Mendoza, et al., 2017). La idea de estos trabajos es comprobar que las propiedades del capulín, se conservan o se potencializan durante el procesamiento de los alimentos, para que esta forma se pueda asegurar ofrecer productos funcionales al consumidor.

2.3 Aguamiel

En México, desde la época prehispánica, diversos recursos naturales han sido empleados para distintos fines, dentro de los cuales, la formulación de alimentos y bebidas juegan un papel de suma importancia debido al incremento de la población. De las diversas fuentes naturales con gran potencial de aplicaciones industriales se encuentra el maguey pulquero, también conocido como Agave, este es una planta que pertenece a la familia *Agavaceae* y del cual se derivan una serie de productos tales como el tequila, mezcal, jarabes fructosados, aguamiel, pulque, bagazos empleados como fibra dietética o para la elaboración de artesanías típicas mexicanas (Lopez y col., 2007).

Sin embargo de todos estos productos, el aguamiel ha sido uno de los menos aprovechados tecnológicamente hablando, ya que el principal uso que se le ha dado es para la elaboración de pulque, una bebida que resulta de la fermentación de este líquido que emana de la capación central del maguey adulto (Valadez y col., 2012). Actualmente el aguamiel y el pulque (su principal producto) han perdido importancia en el mercado, como resultado de la inclusión de bebidas con mayor distribución como la cerveza y una amplia diversidad de bebidas alcohólicas. A consecuencia de esto el cultivo de agave pulquero ha perdido impulso ya que no representa una buena fuente de ingresos. Esta situación obliga a los investigadores a buscar nuevas alternativas para la aplicación o industrialización del aguamiel (García y col., 2010).

2.4 Composición del aguamiel y propiedades nutraceuticas

Algunos autores definen al aguamiel como un fluido obtenido del agave, este líquido se produce en las plantas adultas y se obtiene en la etapa previa a la floración. El jugo se acumula en la parte baja de la planta. Campos (2002) comenta que el aguamiel presenta un pH promedio cercano a la neutralidad (6.8) con un promedio de humedad elevado (86 %) y una proporción de sólidos solubles de 10.85 °Brix. Sin embargo hasta ahora las diferentes investigaciones sobre el aguamiel se han centrado en el estudio de su composición química así como de la flora microbiana resaltando su efecto probiótico atribuido a la presencia de bacterias ácido lácticas como *Leuconostoc mesenteroides* y recientemente en el contenido de fructanos, algunos estudios reportan que el contenido de inulina en el aguamiel es del 11 %, mientras que el contenido de hierro y zinc es de 2.15 mg/100 g y 1.41 mg/100 g, respectivamente, dichos valores son superiores a los encontrados en leche por ejemplo (Silos, et al., 2007).

2.5 Aprovechamiento del aguamiel para producir miel de maguey

Algunas investigaciones revelan que la miel de maguey obtenida mediante el calentamiento del aguamiel tiene alto contenido de fructosa, en mayor cantidad que glucosa, la cual es recomendable para un paciente diabético, ya que la fructosa no estimula la producción digestiva de la insulina por lo que es recomendable para personas con este padecimiento (Silos, 2007). Su Índice Glicémico es de 33, lo cual favorece que sea consumido por deportistas; contiene Fructoligosacáridos, (FOS, Fibra Dietética Soluble) que mejoran el sistema digestivo y la capacidad de eliminación de grasas y toxinas que dañan al cuerpo humano; es por sí mismo un estimulante del crecimiento de la flora intestinal (prebiótico), lo cual ayuda a personas con gastritis. Contiene Vitaminas A, B, B2, C, Hierro, Niacina, Fósforo y Proteínas, por lo que por sí mismo contribuye a la buena alimentación; inhibe el crecimiento de bacterias patógenas (*E. Coli*, *Listeria*, *Shigella*, *Salmonella*); disminuye los niveles de colesterol y triglicéridos mejorando la metabolización de toxinas en el cuerpo. La niacina que contiene permite que limpie, drene y desintoxique, venas y arterias. Aumenta la absorción del calcio y del magnesio, siendo un auxiliar en la prevención de osteoporosis. Facilita la movilidad intestinal y se recomienda a las personas con estreñimiento (Medina, 2010). También contiene agua y minerales tales como hierro y zinc en cantidades de 21.500 y 14.100 mg/l, respectivamente, y vitamina C (Solís, 2008).

2.6 Capacidad antioxidante del aguamiel y miel de agave

Es importante considerar que la gran cantidad de compuestos presentes en el aguamiel y la miel de maguey los cuales pueden poseer capacidad antioxidante, lo cual podría incrementar su uso en la industria alimenticia y farmacéutica. Es por ello que el grupo de investigación se ha enfocado en evaluar la capacidad antioxidante del aguamiel y miel de agave obtenidos de *A. Salmiana* y producidos en la zona del altiplano hidalguense. Los métodos empleados fueron ABTS y DPPH. Los resultados obtenidos hasta ahora, permiten observar que la capacidad antioxidante del aguamiel y la miel es baja comparados con jugos de uva o naranja comerciales (aproximadamente un 20 % menor), pero si estos valores se comparan con los del jugo de nopal (6.7 μmol equivalentes de Trolox), el aguamiel y la miel presentan mayor actividad antioxidante, esta última comparación permite resaltar la capacidad antioxidante de ambos productos sobre la papaya, aguacate y mango.

3 Conclusiones

Debido a su composición química el capulín representa una buena fuente de compuestos con capacidad antioxidante por lo cual se deben continuar los estudios para confirmar su efecto benéfico para la salud, finalmente para comprobar si los tratamientos a los que son sometidos los productos derivados de este fruto afectan dicha propiedad es importante caracterizar y cuantificar su capacidad antioxidante. Finalmente los diferentes estudios que se han realizado sobre las propiedades del aguamiel sugieren que puede ser considerado un suplemento alimenticio. Ya que este contiene suficientes cantidades de minerales como hierro y zinc. Adicionalmente podría considerarse como un nutraceutico que podría ser aprovechado por personas con problemas de deficiencia de hierro y zinc. Finalmente el aguamiel mostro actividad antioxidante considerable en comparación con alimentos como el nopal y el mango. A pesar de ello es importante continuar estudiando los diferentes componentes del aguamiel para poder identificar algunos posibles componentes que promuevan la capacidad antioxidante del aguamiel.

Referencias

- Avello, M. y Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 494. 2: 161-172.
- Bortiri, E., Sang Hun Ah, Gao, F. Y., y Potter, D. (2006). El análisis filogenético de la morfología de *Prunus* revela extensa homoplasia. *Sistemática Vegetal y Evolución*. 259(10): 53-71. doi: 10.1007 / s00606-006-0427-8.
- Buttriss, J. L.; Hughes, J.; Colette, N.M.K.; and Stanner, S. (2002). Antioxidants in food: a summary of the review conducted for the Food Standards Agency. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*. 27: 227–236.
- Elejande Guerra, J.I. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos Antioxidantes. *Anales de medicina interna*. 18:326-335.
- Campos, Mendiola, R. (2002). Obtención de una bebida funcional de bifidobacterias utilizando aguamiel como base. *Tesis Maestría*. E.N.C.B., I.P.N.
- Fresnedo-Ramírez, J., Segura, S., y Muratalla-Lúa, A. (2011). Morphovariability de capulín (*Prunus serotina* Ehrh.) En la región centro-occidental de México desde una perspectiva de recursos fitogenéticos. *Recursos genéticos y la evolución de los cultivos*. 58 (4), 481-495. doi: 10.1007 / s10722-010-9592-2.

- García-Aguilar, L., Rojas-Molina, A., Ibarra-Alvarado, C., Rojas-Molina, J.I., Vázquez-Landaverde, P.A., Luna-Vázquez, F.J., y Zavala-Sanchez, M.A. (2015). Nutritional Value and Volatile Compounds of Black Cherry (*Prunus serotina*) Seeds. *Molecules* 20:3479-3495. doi:10.3390/molecules20023479.
- García, E. J. , S. J. Méndez y D. Talavera. 2010. El género *Agave* SPP. En México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *RESPYN*. 5: 109-129
- Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit Rev Food Sci Nutr* 35:7-15.
- Hurtado, H.N. y Perez, M. (2013). Identificación, Estabilidad y Actividad Antioxidante de las Antocianinas Aisladas de la Cáscara del Fruto de Capulí (*Prunus serotina* spp *capuli* (Cav) Mc. Vaug Cav). *Información tecnológica*. 25(4): 131-140. doi: 10.4067/S0718-07642014000400015.
- Jimenez, M., Castillo, I., Azuara, E. y Beristain, C.I. (2011). Antioxidant and antimicrobial, activity of capulin (*Prunus seortina* subsp. *capuli*) extracts. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10(1): 29-37.
- Lopez, M. G. y N. A. Mancilla. 2007. The nature of fructooligosacarides in agave plants. *Recent Advances in Fructooligosacarides Research*. 2: 47-67.
- Maynard, C. A., Kavanagh, K., Fuernkranz, H., y Drew, A. P. (1991). Negro cereza (*Prunus serotina* Ehrh.). En P. D. Y. P. S. Bajaj (Ed.), *Árboles III* (pp. 3-22). Berlin Heidelberg: Springer.
- Medina, R. (2010). Maguey, el árbol de las maravillas, *Revista Agroentorno*, pp. 26-28.
- Mendoza-Mendoza, B., Hernández-Domínguez, E.M., Gómez-Hernández, E., Ávila-Ramírez, M. C. (2017). Food products (jelly and Liquor) based on capulín (*Prunus serótina*) from to Altiplano Hidalguense. *Mexican Journal of Biotechnology*. 2(2):177-182.
- Rivero-Cruz, B. (2014). Simultaneous quantification by HPLC of the phenolic compounds for the crude drug of *Prunus serotina* subsp. *capuli*. *Pharmaceutical Biology*. 52(8): 1015–1020.
- Silos, E. H., Gonzáles, C. N., Carrillo, L.A., Guevara, L.F., Valverde, G. M., Paredes, L. (2007). Chemical composition and in vitro propagation of *Agave salmiana*. *Gentry. J. Hort. Sci. Biotech*. 82:355-359.
- Solis, D. (2008). Inulina. Un probiótico natural , *Revista Mundo Alimentario*, 18-19
- USDA. (2008). Guía de plantas de cerezo negro *Prunus serotina* Ehrh. Nacional de datos de plantas el USDA NRCS Center y la biota del Programa de América del Norte. Recuperado de <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PRSES>.
- Valadez, R, G. Bravo, N. F. Santos, S. I. Velasco y T. J. Montville. 2012. The Artesanal Production of Pulque, a traditional Beverage of The Mexican Highlands. *Prpbiotics Antimicrob. Proteins*. 4: 140-144.
- Veneo-Gutiérrez, J.R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes”. *Rev. Cubana Med. Milit*. 31(2):126-133.

Prácticas basadas en valores e implementación de Tecnologías de la Información y Comunicación en la Asignatura Cardiorrespiratoria en el programa educativo de la Licenciatura en Terapia Física de la Universidad Politécnica de Pachuca

Verónica Vázquez Chacón, Rosa María Chío Austria, Erendira Sánchez Barrera, Sandra Kristal Cortes Marquez, Laura Subervier Ortiz, Albino Ahumada Medina, González Mosqueda

V. Vázquez, R.Chío, E. Sánchez, S.Cortes, L. Subervier, A. Ahumada y González
Universidad Politécnica de Pachuca

F. Trejo, (eds.).Ciencias Biologicas y de la Salud, Proceedings-©ECORFAN-México, Pachuca, 2017.

Abstract

The academic training of the licensed in physical therapy has been built over the years, based on the forms of perception of health and disease, as well as the theoretical references of the teachers involved, this activity includes the subject of cardiorespiratory rehabilitation, which involves the application of techniques to patients with cardiac and respiratory pathologies. This attention must be of quality and warmth, focusing on the patient as a human being, and, therefore, these approaches must be applied in value practices. Values are necessary for any professional, and, teaching them to practice them in working life is not an easy task, in this research it is intended to contribute with theoretical referents, based on evidence and with the implementation of Information and Communication Technologies, as regards the matter of cardiorespiratory rehabilitation, in order to obtain theoretical elements and avoid past mistakes. The aim is to formulate in the classroom the subject of cardiorespiratory rehabilitation for the students of the Polytechnic University of Pachuca to promote ethics, through the implementation of Information Technologies for the care of patients with cardiac and pulmonary disorders.

Prácticas, valores, TICs, Cardiorrespiratoria

1 Introducción

La formación académica del licenciado en terapia física se ha construido a través de los años, en base a las formas de percepción de la salud y enfermedad, así como de los referentes teóricos de los docentes involucrados, esta actividad incluye la materia de rehabilitación cardiorrespiratoria, que involucra la aplicación de técnicas a pacientes con patologías cardíacas y respiratorias. Esta atención debe de ser de calidad y calidez, centrándose en el paciente como ser humano, y, por lo tanto, estos abordajes deben ser aplicados en prácticas de valor. Los valores son necesarios para cualquier profesional, y, enseñar a practicarlos en la vida laboral no es tarea fácil, en esta investigación se pretende contribuir con referentes teóricos, basadas en evidencias y con la implementación de las Tecnologías de la Información y de la Comunicación, en cuanto a la materia de rehabilitación cardiorrespiratoria, para así poder obtener elementos teóricos y evitar los errores pasados. Se pretende formular en el aula de la materia de rehabilitación cardiorrespiratoria para los alumnos de la Universidad politécnica de Pachuca que fomenten ética, por medio de la implementación de las Tecnologías de la Información para la atención a pacientes con alteraciones cardíacas y pulmonares.

1.2 Prácticas basadas en Valor de la Asignatura en Terapia Física Cardiorrespiratoria

Valores del profesional

A través de los años se han transformado los campos disciplinarios, han aparecido nuevas exigencias cognoscitivas y, por tanto, la demanda de la renovación de las competencias de los docentes es un tema de actualidad al observar el perfil del profesorado. Uno de los ángulos que es necesario seleccionar para el conocimiento de los profesores universitarios es el de su estructura de valores académicos y morales, considerando su influencia en el desempeño ante la tarea que tienen asignada por la institución educativa, que es convertirse en los actores sociales y pedagógicos por excelencia, con lo cual influyen de manera relevante en la formación profesional, buscando cumplir con las expectativas de los demandantes del servicio educativo. Los valores de los docentes son construcciones sociales, concebidos como dispositivos para actuar; sin embargo, es imprescindible agregarles complemento necesario: su objetivación como modos de ser buscando el logro de propósitos, por cierto, no todos los explícitos, lo cual va definiendo la personalidad moral. En esto, se encuentra el eje heurístico para sanear los rasgos del desarrollo moral de los profesores, de su compromiso con su profesión, del grado de conciencia que hayan logrado acerca de la naturaleza estratégica ante el cambio educativo que le demanda.

La justificación social de la profesión académica en la educación superior radica, principalmente en los valores que pone en juego para situarse ante la problemática del proceso de conocimiento. “Es su materia de trabajo y junto a ello, es la oportunidad exclusiva del docente para situarse en una relación educativa como el actor más influyente en la formación profesional.”

Es un espacio relevante —el de la enseñanza y el aprendizaje— para legitimar un determinado modo de formar profesionales y persona para reivindicar valores docentes, con fundamento en una racionalidad técnica instrumental, basada en su constitución en la racionalidad comunicativa, en una ética dialógica, donde lo académico se imbrica con la intencionalidad de formar la personalidad moral de los profesionales, que hoy requieren de formación integral, de un bagaje que incluye cualidades, actitudes y aptitudes que coadyuvan en el proceso de adaptación a las necesidades, así como la adquisición de habilidades y destrezas requeridas en el vertiginoso camino que recorre el conocimiento hasta impactar en el mercado laboral. Los valores rigen la educación de los individuos, impregnan a las instituciones educativas y con ello a sus programas de estudio y los de formación.

“...se deben distinguir tres características importantes de los valores: lo que persigue la valoración, la decisión, la acciones lo que da sentido a los juicios de valor, a las decisiones, a las acciones, a la vida”.

“...si concebimos el proceso de educar, podemos rescatar de ello dos acciones sustanciales: el proceso de instrucción y el proceso de formación. En el primero, es posible reconocer la capacidad de construir conocimientos y promover el desarrollo de habilidades a través de operaciones de integración y reelaboración de lo aprendido. En el segundo, aquello que tiene relación con las actitudes, los valores éticos y morales, o sea, la formación social y personal del individuo.”

El docente tiene que ser Responsable como primer valor, capaz de responder a las necesidades de las normas que dictan la conducta social, e impregnar a sus alumnos en esta misma conducta.

“...el profesor como individuo responsable debe velar por el cumplimiento de los derechos y deberes propios y de los demás desde su situación social; debe procurar que cada uno obtenga todos los beneficios posibles de lo que llamamos bien común...”

El ser responsable conoce los valores de la sociedad y aspira a humanizarla, esforzándose por el imperio de aquellos que justifican la existencia de las personas como seres humanos.

“...las necesidades de formación de este fenómeno...van más allá de la simple práctica de conocimientos y habilidad adquiridas; el constante movimiento del conocimiento, el impacto de las nuevas tecnologías, así como el mundo del interactúa son, ..., los focos de atención...del ejercicio competitivo de su práctica...cobra relevancia la internalización de los valores aceptados socialmente y llevados a la práctica mediante un ejercicio responsable”.

“Es bueno tratar de alcanzar el conocimiento que vale la pena esforzarse por la justicia social”.

La enseñanza al alumnado de los valores de la ética civil como la dignidad de la persona, justicia, libertad, igualdad, solidaridad, tolerancia o respeto activo, participación en asuntos públicos, paz y responsabilidad son valores básicos que toda persona, todo estudiante debe poseer para que no se manifieste en ella o en él una deficiencia de humanidad. Son los valores que están en la base de los derechos humanos: el valor de la dignidad humana., el valor de la libertad (derechos civiles y políticos), igualdad (derechos sociales y económicos), valor de solidaridad (derechos humanos a la calidad de vida y a un medio ambiente sano, paz, desarrollo de capacidades personales y de los pueblos).

Proceder con autonomía profesional

- a. Decisiones profesionales desde convicciones éticas
- b. Regulación corporativa, código ético, disponer de protocolos de actuación validados para la buena práctica de la profesión
- c. Toma de decisiones y responsabilidad de sus actos

Principio de beneficencia

El empleo de sus competencias para el aprendizaje de sus alumnos en la solución de los problemas que plantean, procurando ofrecerles una prestación experta, que les facilite la comprensión técnica, científica y social de los conocimientos impartidos.

Responsabilidad profesional

Tiene el deber moral de actualizarse, para mejorar la calidad técnica y humana del servicio que presta.
“Nunca se insistirá demasiado en la calidad de la educación y por ende del profesorado.”

La intervención del docente debe orientarse a lograr la autonomía personal de los alumnos en tres frentes:

- a. La necesidad de satisfacer sus propias necesidades vitales o de autosuficiencia
- b. La capacidad para realizar sus aspiraciones y deseos o autorrealización
- c. Capacidad para satisfacer necesidades y expectativas de la sociedad o responsabilidad

La decencia es la virtud que cualifica las relaciones personales de buenas maneras, de cortesía y gentileza.

Prácticas profesionales

Son un espacio donde la acción donde expresa las presiones e influencias sociales, pero también donde puede modificar las presiones y pautas sociales por las intenciones y acciones de los propios profesionales. Es una acción moralmente informada; de ahí, que no sea un medio para producir el bien o los valores a los que se aspira, sino el lugar mismo donde se encarnan y viven los valores como el respeto a la dignidad de los usuarios del servicio; la ayuda que se les presta; la responsabilidad para con ellos y para con la comunidad social a la que se garantiza la satisfacción de sus necesidades por la prestación competente; la colaboración para que sea el usuario mismo quien se responsabilice de su vida y de la solución de sus problemas.

Son aquellas que tienen como objeto activar las capacidades de los estudiantes: su autoconocimiento, voluntad, moralidad, imaginación, sensibilidad, creatividad y acción. Resultan beneficiosas para el conjunto de la sociedad, para el bien público, puesto que generan hábitos de confianza y solidaridad.

Actividades docentes

Abarcan las acciones, tareas y trabajos que suponen la transmisión del conocimiento y el apoyo para la adquisición de competencias por los estudiantes a través de los procesos formativos. Suponen participar en impartir enseñanzas dentro del ámbito de la especialidad disciplinar a la que pertenecen.

Docencia presencial: clases teóricas, seminarios y clases prácticas, Tutorías, orientación a estudiantes individual o grupal, dirección, seguimiento y evaluación de prácticas externas, participación en la elaboración de materias presenciales y semipresenciales, proceso de evaluación continua, y evaluación, dirección de trabajos de titulación, elaboración de guías, manuales, Preparación y realización de evaluaciones, Actividades de formación continua, administración, coordinación académica de materias y Gestión.

Un buen profesor ayuda a sus estudiantes a aprender y es aquel que consigue “influir positiva, sustancial y sostenidamente en sus formas de pensar, actuar y sentir”.

La preparación profesional implica: formar a futuros profesionales para que comprendan las complejidades éticas que afectan la toma de decisiones en la práctica.

La noción de profesionalidad incluye, además de un conjunto de competencias técnicas, una capacidad de juicio e integridad personal que se proyecta en una conducta ética.

La especialización y la atomización de los planes de estudio, la visión tecnista de muchas profesiones y de su formación, han llevado a desestimar las competencias éticas de los profesionales como de menor rango, incluso presuponiendo que se aprenderán directamente con el propio ejercicio de la profesión.

Competitividad docente

Para poder hablar de competencias docentes, es necesario abordar aspectos como:

- Preparación científica en procedimientos fisioterapéuticos basados en Métodos y Técnicas específicos de actuaciones fisioterapéuticas a aplicar en las diferentes patologías de todos los aparatos y sistemas, y en todas las especialidades de medicina.
- Poseer bases teóricas de la Fisioterapia como ciencia y profesión, los modelos de actuación y as bases teóricas de las valoraciones, test y comprobaciones funcionales.
- Intervenir en los ámbitos de promoción de la salud y prevención de la enfermedad.
- Desarrollar la función docente como parte propia del ejercicio profesional.
- Diseñar y/o desarrollar el programa de la asignatura, tomar en cuenta los contenidos básicos de la disciplina, el marco curricular en que se enmarca, didáctica a emplear, las características de nuestros alumnos y los recursos disponibles.

1.2 Prácticas

En las prácticas, el docente debe ser: Profesional proactivo, Participar en la elaboración e impartición de programas educativos relacionados con la Fisioterapia dirigidos a grupos profesionales, Aplicar de técnicas y procedimientos específicos propias del abordaje en respiratoria, diseñar un plan específico de Intervención, empleando habilidades de resolución de problemas y razonamiento clínico, seleccionando los protocolos o procedimientos más adecuados a la atención planificada, atendiendo a criterios de adecuación, validez y eficiencia, Mantener actualizados los fundamentos de los conocimientos, habilidades y actitudes de las competencias profesionales, mediante un proceso de formación permanente y aportar innovaciones tecnológicas en productos y procesos de investigación.

Actividades

En cuanto a actividades propiamente dichas en la praxis, el docente en la asignatura en Terapia Física Cardiorrespiratoria debe: Brindar preparación científica y capacitación suficiente para describir, identificar y tratar problemas de salud a los que se puede dar respuesta desde el abordaje respiratorio, fomentar la integración de los conocimientos procedentes de ciencias básicas, Capacitar al alumno para el razonamiento crítico de la resolución de casos clínicos, Participar en el desarrollo psicológico del individuo, particularmente en el plano intelectual y en su intersección con los aprendizajes escolares, Identificar y atender la diversidad de intereses, necesidades y motivaciones de los alumnos en relación con el proceso enseñanza-aprendizaje, buscar de alternativas novedosas para la selección, organización y distribución del conocimiento, asociadas al diseño y promoción de estrategias de aprendizaje e instrucción cognitiva, así como, Propiciar la investigación científica y vincular con el sector productivo

1.3 Tecnologías de la Información y de la Comunicación

Definición

Las Tecnologías de la Información y Comunicación no sólo hemos de definir las como herramientas o artefactos a través de los cuáles ejecutamos distintas tareas o acciones como puede ser buscar información, redactar un texto, almacenar datos, elaborar una presentación multimedia, oír música o ver una película, sino también como un espacio para la interacción con otros individuos y grupos sociales. La información en sus múltiples formas (oral, textual, hipertextual, audiovisual, icónica, auditiva, multimedia...) es la materia prima de nuestra existencia moderna.

Clasificación

La información en sus múltiples formas (oral, textual, hipertextual, audiovisual, icónica, auditiva, multimedia...) es la materia prima de nuestra existencia moderna.

Tecnología audiovisual

El audio y el video siempre han estado en la mira de las instituciones educativas para la distribución de contenidos. Existen tres familias principales de transmisión de audio y video a partir de redes digitales de datos: Síncronas unidireccionales, Síncronas bidireccionales y Asíncronas unidireccionales. Probablemente una de las herramientas más empleadas en materia de contenidos en video, es decir, la transmisión y recepción de audio y video.

2 Desarrollo

El área de estudio corresponde a Educación Superior en el área de la Salud, en el programa educativo de la Licenciatura en Terapia Física en la Asignatura Cardiorrespiratoria. El tipo de estudio según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registros de la información: retrospectivo, según el período y secuencia del estudio: transversal, según análisis y alcance de los resultados: descriptivo y cualitativo. El método de recolección de datos se realizó por medio de una recopilación de archivos y documentos, resultado de una revisión y análisis bibliográfico, utilizando las palabras de búsqueda: fisioterapia pulmonar, cardiaca, técnicas basadas en evidencia, competencias docentes, ética y valores docentes, capacitación, TIC's.

Materiales y Métodos

La propuesta de mejora, abarca a la población estudiantil de la Universidad Politécnica de Pachuca, el problema específico es fundamentar las bases científicas de la enseñanza práctica de la materia de Rehabilitación Cardíaca e implementar Tecnologías de la Información y comunicación, volviéndola en una educación de calidad, centrada en los valores universales.

La alternativa para dar solución a esta problemática es la formulación de prácticas para la materia de Rehabilitación Cardiorrespiratoria con investigación acerca de las técnicas utilizadas en la historia de la Cardiopulmonar basadas en evidencia, realizar material audiovisual como estrategia pedagógica para la implementación de la utilización de las Tecnologías de la Información y comunicación, de esta forma se pretende influir en la calidad educativa, y por lo tanto, en la calidad profesional y de atención a pacientes. Realizar prácticas donde los alumnos asuman roles e identifiquen el actuar autónomo con fundamentada en valores.

3 Resultados

Posterior al análisis de los contenidos de la revisión bibliográfica, tomando en cuenta criterios de búsqueda: fisioterapia pulmonar, cardíaca, competencias docentes, ética y valores docentes, capacitación, TIC's, prácticas basadas en evidencia, se logró diseñar prácticas docentes basadas en valores universales, de calidad, utilizando material audiovisual como estrategia pedagógica para la implementación de la utilización de las Tecnologías de la Información y comunicación.

4 Conclusiones y Discusión

El cumplimiento de objetivos se lleva a cabo por medio de la formulación y diseño de prácticas de la materia de Rehabilitación Cardiorrespiratoria, tomando en cuenta la educación en valores y la implementación de las Tecnologías de la información, corresponde a la formación académica del Licenciado en Terapia Física en la Universidad Politécnica de Pachuca, los beneficios serán: poseer prácticas de valor en el Manual de la Asignatura de Rehabilitación Cardiorrespiratoria, que, fortalecerá la práctica docente y los resultados del Aprendizaje, las limitaciones serán de tipo técnicas, pues cada profesor la puede interpretar en algunos aspectos aquí abordados de manera diferente, debido a los referentes teóricos y posiblemente a la falta de formación académica.

La utilidad de esta investigación consiste en formar profesionales de la Licenciatura en Terapia Física con practicas de valor en la Asignatura de Cardiorrespiratoria, así como la práctica basada en evidencias y la implementación de Tecnologías de la información y de la Comunicación, situación que les proporcionará herramientas para su práctica profesional actual, incluso, en medios hospitalarios. La presente información será de valor a los pares responsables de la materia de Rehabilitación Cardiorrespiratoria, además, servirá de evidencia de trabajo del Coordinador de la Asignatura. La reflexión personal que surge del presente trabajo es que la práctica docente involucre compromiso, incluso, en los contenidos e impartición de cátedra de las asignaturas, que puedan ser modificables (por medio de la implementación de las Tecnologías de la Información) para cumplir su objetivo, y, que, finalmente sirvan estas modificaciones de manera directa a la sociedad. La formación de profesionistas, especialmente en el área de la Salud requiere de formación en valores.

5 Reconocimientos

La autora: M.C. Verónica Vázquez Chacón agradece las facilidades y apoyo en la realización del presente a la Dra. Rosa María Chío Austria Directora del Programa Educativo de la Lic. en Terapia Física de la Universidad Politécnica de Pachuca.

6 Referencias

- Aguilar (2009). Competencias sociales y digitales en el alumnado de las aulas mayores de la ULPGC. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Canaria.
- Aguilar Pérez, Martha Guadalupe; Ortega Pérez, José Ramiro. (2008). Alfabetización científica, epistemología y docencia. Enseñanza e Investigación en Psicología, Enero-Junio, 177-185.
- Alzate Yepes T. (2008). Una mediación pedagógica en educación superior en Salud. El diario de Campo. Revista Iberoamericana para la Educación, la Ciencia y la Cultura. Antioquia, Colombia.
- Area (2012). Alfabetización digital y competencias informacionales. Ariel. España.
- Area M (2002). Igualdad de oportunidades y nuevas tecnologías. Un modelo educativo para la alfabetización tecnológica. Revista Educar. No 29.
- Area M (2012). La alfabetización informacional y digital: fundamentos pedagógicos para la enseñanza y el aprendizaje competente. Revista Española de Documentación Científica. No. Monográfico 46-74. España. Extraído de: redc.revistas.csic.es/index.php/redc/article/download/744/
- Arrieta. (2011). Alfabetización digital: Uso de las TIC's más allá de una formación instrumental y una buena infraestructura. Revista colombiana de Ciencia y Animación. Vol 3 No 1. Colombia
- Attali Jaques 2006. Breve historia del futuro, Recuperado el 12 de 2011, de Wikipedia: http://es.wikipedia.org/wiki/Breve_historia_del_futuro
- B. McCARREN (2006). Physiological effects of vibration in subjects with cystic fibrosis. Eur. Respir. J.27, España ; Pág: 1204 - 1209.
- Bawden, D. (2002). "Revisión de los conceptos de alfabetización informacional y alfabetización digital" en Anales de documentación (Vol.5) Universidad de London. Pp.361-408.
- Becerril E. (2013) Instruye policía Federal a alumnos de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo sobre delitos cibernéticos. Boletín Electrónico Informativo 778. www.uaeh.edu.mx
- Biachini A. (1999). Conceptos y definiciones de hipertexto. Departamento de comunicación y Tecnología. Caracas. Extraído de: <http://ldc.usb.ve/~abianc/hipertexto.pdf>
- Bireme. (2004) Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS). Sao Paulo: BIREME.
- Caballero (2010). De la Alfabetización a la Literacidad Crítica. Revista de Comunicación, profesión, conocimiento. Uruguay.
- Cano Muñoz, M. A (2011). Reseña de "Selección, formación y práctica de los docentes investigadores. La carrera docente. EEES" de Félix E. González (dir.). (REDALyC, Ed.) RU&SC. Revista de Universidad y Sociedad del Conocimiento, 328-330.
- Cano Muñoz, M. A. (2011). Reseña de " Selección, formación y práctica de los docentes investigadores. La carrera docente EEES" de Félix. E. González (dir). Revista de Universidad y Sociedad del conocimiento, 328-330.

Carlino, , Paula. (2003). Alfabetización Académica: Un Cambio Necesario, algunas Alternativas Posibles. Educere, enero-marzo, 409-420 Extraíd <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=35662008> o de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=35662008>

Castañeda, J. (2009). “El siglo del conocimiento puede ser el siglo de la ceguera” en Diplomado de transformación educativa. Pp.1-4.

Código de Ética. Fundación Teletón México.
www.teleton.org.mx/sites/default/files/ch4ag3/codigodeetica.pdf

Código de Ética. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. INER. México.

Código de Etica. Universidad Politécnica de Pachuca.
www.upp.edu.mx/3esp/mc/institucion/certificacion_de_valores/codigo_de_etica.pdf

DEAN R HESS PHD RRT FAARC. (2001) The evidence for Secretion Clearance Techniques. Respiratory Care. CHEST. E.U.A. Vol 46. No 11. Pág 1276-1293.

DEAN R HESS PHD RRT FAARC. (2001) *The evidence for Secretion Clearance Techniques. Respiratory Care*. CHEST. E.U.A. Vol 46. No 11. Pág 1276-1293.

Declaración Universal de los Derechos Humanos. Organización de las Naciones Unidas.
<https://www.un.org/es/documents/udhr/>

DENNIS McCOOL.(2006) Nonpharmacologic Airway Clearance Therapies: ACCP Evidence-Based Clínicl Practice Guidlines. CHEST. E.U.A.

Departamento de Documentación Legislativa. Reformas al Artículo 3.
http://www.insp.mx/transparencia/XIV/leyes_federales/refcns/pdfsrcs/3.pdf Disponible en:
<http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>

Education and training in selected EU member status: a critical análisis”, Journal of Vocational Education & Training, 59 (1), 67-88. Extraído de: <http://www.ugr.es/local/recfpro/rev123ART6.pdf>

Elizalde, L. y Reyes (2008). Elementos clave para la evaluación del desempeño de los docentes. Revista Electrónica de Investigación Educación Especial. Consultado: 05/05/2014 en: <http://reidie.uabc.mx/NumEsp1/contenido-elizaldereyes.html>

Evidencia basada en revisión. Evidencia para terapia física (aclorado de vía aérea y training) en fibrosis quística: Una overview de cinco revisiones con el Sistema Cochrane. Respiratory Medicine (2006) 100, 191-201

Feldman (2005). Aprendizaje con Poder. Estrategias para el éxito en la universidad y en la vida. Mc. Graw –Hill . México.

Feldman (2005). Aprendizaje con Poder. Estrategias para el éxito en la universidad y en la vida. Mc. Graw –Hill . México.

Feldman (2005). *Aprendizaje con Poder. Estrategias para el éxito en la universidad y en la vida*. Mc. Graw –Hill . México.

Fernández Marcial, Viviana. (2008). La gestión de la información y las habilidades informacionales: binomio esencial en la formación universitaria. Reencuentro, marzo, 19-27. Extraído de: <http://www.redalyc.org/pdf/340/34005103.pdf>

Ferreiro (2007). Nuevas alternativas de aprender y enseñar. Editorial Trillas. México.

Figueroa Sandoval, Beatriz, Aillon Neumann, Mariana, & Salazar Provoste, Omar. (2012). Avances hacia la comprensión del fenómeno de la alfabetización académica hipertextual en el contexto de formación docente. *Universum* (Talca), 27(1), 55-70. Recuperado en 22 de marzo de 2014, de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-23762012000100004&lng=es&tlng=es. 10.4067/S0718-23762012000100004.

Flores E. (2011). Biblioteca y Docencia: Motivando el Desarrollo de un Programa ALFIN en el consorcio de Universidades. *Revista de Ciencias de la información*. Año V. No. 8. Alexandría.

Foures. Alfabetización científica y tecnológica. Ediciones Colihue. Estados Unidos.

Franganillo J (2006). Alfabetización digital en la Prisión: una experiencia con jóvenes internos. *Actas del II Congreso Internacional de la Alfabetización Tecnológica: Superando la Brecha Digital*. Chile. Extraído de: franganillo.es/alfabetización.pdf

Freire Paulo (1997). "Seriedad y Alegría, Dialogicidad" en *A la Sombra de un árbol*. Barcelona: El Rouce.

Freire Paulo (2004) "Práctica de la Pedagogía Crítica" en *El Grito Manso*. México. Siglo XXI.

Fresno (2007). Contribuciones cortas. Sobre las necesidades de una alfabetización digital y en información en una sociedad globalizada. Acimed.

García (2010). *Ética profesional docente*. Ed. Síntesis. México. P.:13.

García (2010). *Ética profesional docente*. Ed. Síntesis. P.:13

García (2010). *Ética profesional docente*. Ed. Síntesis. P.:13

García (2010). *Ética profesional docente*. Ed. Síntesis. P.:13

García Carrasco, Joaquín. (2009). Las formas de la alfabetización cultural en la sociedad de la información. *Teoría de la Educación. Educación y Cultura en la Sociedad de la Información*, Marzo-Sin mes, 49-75.

García. (2012). Alfabetización Cultural Digital. *Revista Mexicana de Comunicación*. México. Extraído de: <http://mexicanadecomunicacion.com.mx/rmc/2012/01/23/alfabetizacion-cultural-digital/>

Garmendia Bonilla, Lovania. (2005). La alfabetización informacional como estímulo investigativo: una estrategia en la gestión de la información y el conocimiento. *Biblios*, enero-agosto, 1-12.

Garzón Clemente, Rebeca. (2012). Alfabetización digital del profesor universitario mexicano. *Apuntes iniciales. Revista de Pedagogía*, XXXIII. Enero-Junio, 273-288.

George. 1995. Hipertexto. La convergencia de la teoría crítica contemporánea y la tecnología. Paidós, Barcelona. Págs. 14-17.

Gestión de Calidad. Universidad Politécnica de Pachuca. www.upp.edu.mx

Gómez Pereira, Roque Manuel; Núñez Rodríguez, Lisbet; Santos Herrera, Yamilet; Horta Fuentes, Otany. (2005). Rehabilitación respiratoria en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Archivo Médico de Camagüey, Sin mes.

Gómez Pereira, Roque Manuel; Núñez Rodríguez, Lisbet; Santos Herrera, Yamilet; Horta Fuentes, Otany. (2005). *Rehabilitación respiratoria en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica*. Archivo Médico de Camagüey, Sin mes.

Gómez-Hernández, José-Antonio. (2007) “Alfabetización informacional: cuestiones básicas”. Anuario ThinkEPI, 2007, v. 1, pp. 43-50. Extraído de: <http://www.thinkepi.net/alfabetizacion-informacional-cuestiones-basicas#sthash.y00Xawdb.dpuf> <http://www.thinkepi.net/alfabetizacion-informacional-cuestiones-basicas#sthash.y00Xawdb.dpuf>

González N (2012). Alfabetización para una cultura social, digital, mediática y en red. Revista Española de Documentos Científicos. No. Monográfico.

GONZÁLEZ R (1997). Rehabilitación médica. Ed. Masson. Barcelona España. Pp.: 337.

GONZÁLEZ R (1997). *Rehabilitación médica*. Ed. Masson. Barcelona España. Pp.: 337.

Gros. (2006). La alfabetización digital y el desarrollo de competencias ciudadanas. Revista iberoamericana de educación. No. 42. Pág. 103-125.

Gutiérrez A. (2012). Educación para los medios, alfabetización mediática y competencia digital. Comunicar. Revista Científica de Comunicación y Educación. Scientific Journal of Media Education. Extraído de: <http://www.revistacomunicar.com/pdf/preprint/38/03-PRE-13396.pdf>

Hernández (2008). Alfabetización, teoría y práctica. Desición. Vanderbilt University. EU/México.

Herrera, Ortiz M. et al (2009). Establecimiento de los estándares en un examen criterial. México: Cuaderno técnico 3. CENEVAL, pp.15-16 y 29-36.

Homs, O. (2008). La formación profesional en España. Hacia la sociedad del conocimiento. Barcelona: Fundación La Caixa. Obra Social.

J MORTESEN.(1991). The effects of postural drainage and positive expiratory pressure physiotherapy on tracheobronchial clearance in cystic fibrosis CHEST. E.U.A.; 100: 1350 - 1357.

K. WOLFF. (1977) Effects of exercise and eucapnic hyperventilation on bronchial clearance in man J Appl Physiol 43: 46 - 50.9

Kellner, D.M.(2004): «Revolución tecnológica, alfabetismos múltiples y la reestructuración de la educación», en I. SNYDER: Alfabetismos digitales. Archidona, Ediciones Aljibe.

Kruger K. (2006). El concepto de sociedad del conocimiento. Revista Bibliográfica de Geografía y Ciencias Sociales. Vol. XI No 683. Barcelona. Extraído de: <http://www.ub.edu/geocrit/b3w-683.htm>

Lau. Directrices sobre el desarrollo de habilidades informativas para el aprendizaje permanente. IFLA. México. Extraído de: www.jesuslau.com

López. (2009) Educación en Valores, educación en virtudes. Grupo Editorial Patria. México

Marin M. (2006). Alfabetización Académica Temprana. Lectura y vida. Asociación Internacional de Lectura. Argentina. Extraído de: http://www.lecturayvida.fahce.unlp.edu.ar/numeros/a27n4/27_04_MarIn.pdf

MARKS. (2004) Pulmonary Function and Sputum Production in Patients With Cystic Fibrosis: A Pilot Study Comparing the PercussiveTech HF Device and Standard Chest Physiotherapy. CHEST. Volume 125(4), E.U.A., pp 1507-1511.

Martínez, Rizo Felipe (2004). “¿Aprobar o reprobar? El sentido de la evaluación en educación básica en México” en Revista Mexicana de Investigación Educativa. Vol 9 No. 23, pp. 817-839.

Marzal, Miguel Ángel. (2009). Evolución conceptual de la alfabetización en información a partir de la alfabetización múltiple en su perspectiva educativa y bibliotecaria. Investigación bibliotecológica, 23(47), 129-160. Recuperado en 22 de marzo de 2014, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-358X2009000100006&lng=es&tlng=es.

Mazo (2008). Los Valores Docentes en la Profesión Académica de Educación Superior. Ed. Plaza y Valdéz. México.P.: 11.

Mazo (2008). Los Valores Docentes en la Profesión Académica de Educación Superior. Ed. Plaza y Valdéz. México.P.: 11

Mazo (2008). *Los Valores Docentes en la Profesión Académica de Educación Superior*. Ed. Plaza y Valdéz. México.P.: 11

McCARREN. (2006) Vibration and its effect on the respiratory system. Australian Journal of Physiotherapy. 52 Australia. (1):39-43, 2006.

MENDOZA I, LAURA, & HORTA M, PAULA. (2011). Educación en los programas de rehabilitación respiratoria de los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Revista chilena de enfermedades respiratorias, 27(2), 134-138. Recuperado en 11 de marzo de 2014, de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-73482011000200009&lng=es&tlng=es. 10.4067/S0717-73482011000200009.

Moreno Olivos Tiburcio. (2009) Evaluación del aprendizaje en la Universidad. RMIE, Abril-Junio Vol. 14.

Morin, E. (1996). El pensamiento ecologizado. Recuperado el Noviembre de 2011 de Gazeta de antropología: http://www.urg.es/_pwlac/G12_Edgar_Morin.html

Morin, E. (2009). “Ética y Globalización en la Biblioteca digital de la Iniciativa Interamericana de Capital Social: Ética y desarrollo” en Diplomado de transformación educativa. Pp. 1-8.

Morin, E., Los siete saberes necesarios para la educación del futuro, Dower, México, 2001. Extraído de: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=6646731&pid=S0718-2376201200010000400018&lng=es

Mulder, Martin, Weigel, Tanja y Collins, Kate (2007). "The concept of competence in the development of vocational

Najmanovich, D. (2009). Desamurallar la educación hacia nuevos paisajes educativos. Recuperado en noviembre de 2011 de Diplomado de Transformación educativa: http://www.usal.es7teoriaeducacion/rev_numero_08_01_gavani_garcia_ruizpdf

O ACOSTA (2008). Fármacos mucolíticos y fármacos moduladores del surfactante pulmonar Revisión y actualizaciones: Enfermedades respiratorias. . *Pneumologie*. España;62 Suppl 1:S11-3

Ortega Sánchez, Isabel. (2009). La alfabetización tecnológica. *Teoría de la Educación. Educación y Cultura en la Sociedad de la Información*, Julio-Sin mes, 11-24.

PECES et al (2005). Fisiopatología del atrapamiento aéreo en la EPOC. *Rev. Patol. Respir. Supl* 2.P.: 255-261.

Pereira de Gómez (1997). Educación en Valores. Metodología e innovación Educativa. Ed. Trillas.México.

Pereira de Gómez (1997). *Educación en Valores. Metodología e innovación Educativa*. Ed. Trillas.México.

Pereira. (2004). Educación en Valores. Metodología e innovación educativa. Trillas. México.

Pérez Rocha Manuel (2009) Evaluación, acreditación y calidad de la evaluación superior en México: REVISTA DE ANUIES. Pp. 1-9.

Policía Federal advierte a jóvenes universitarios sobre delitos cibernéticos. El independiente de Hidalgo. 10 de noviembre 2013. www.elindependientedehidalgo.com.mx

POSTIAUX.(2000) Fisioterapia respiratoria en el niño. Las técnicas de tratamiento guiadas por la auscultación pulmonar. McGraw-Hill*Interamericana. España 2000.

Prats, M. A. (2005). ¿Qué implica la alfabetización digital? ¿Qué competencias debe proporcionar y cómo debe adaptarse a los diferentes colectivos de la sociedad? Consultado el 31 de marzo de 2014 en <http://www.educaweb.com/EducaNews/interface/asp/web/NoticiasMostrar.asp?NoticiaID=516&SeccioID=791>

Priscitelli A. (2006). "Nativos e inmigrantes digitales ¿ Brecha generacional, brecha cognitiva o las dos juntas y más aún? En REMIE. Aportes de discusión"en REMIE. Aportes de discusión: Temático, 11 (28) Pp.:179-185

Rabadán-Rubio, J.A. y Hernández-Pérez, E.(2012). Renovación pedagógica en la Sociedad del Conocimiento. Nuevos retos para el profesorado universitario. RED-DUSC, Revista de Educación a Distancia. Sección de Docencia Universitaria en la Sociedad del Conocimiento. Número 6. Consultado el [22/03/2014] en <http://www.um.es/ead/reddusc/6>

Reforma 2013 al Artículo 3 Constitucional. www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5288919&fecha=26/02/2013&print=true 2/4

Rehabilitación Cardíaca en el trasplante Cardíaco. Guía para el paciente. Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Trasplante Cardíaco. Área del Corazón. Hospital Universitario A. Coruña. Servicio Galego de Saude.
http://www.cpficyl.com/descargas/rehab_cardiaca/rehabilitacion_cardiaca_guia.pdf

Rehabilitación Cardíaca en el trasplante Cardíaco. Guía para el paciente. Unidad de Insuficiencia Cardíaca y Trasplante Cardíaco. Área del Corazón. Hospital Universitario A. Coruña. Servicio Galego de Saude.
http://www.cpficyl.com/descargas/rehab_cardiaca/rehabilitacion_cardiaca_guia.pdf

Rivas M. (2008). Procesos cognitivos y Aprendizaje significativo. Consejería de Educación. No. 19. Madrid. Extraído de:
<http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-Disposition&blobheadervalue1=filename%3DProcesos+cognitivos+y+aprendizaje+significativo+M+Rivas.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1220443509976&ssbinary=true>

Rodríguez Gallardo, Adolfo. (2007). Definiendo la lectura, el alfabetismo y otros conceptos relacionados. Investigación bibliotecológica, 21(42), 143-175. Recuperado en 19 de marzo de 2014, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-358X2007000100007&lng=es&tlng=es.

Sánchez et al. (2006). El uso de las TIC's. Tecnologías de la Información y la Comunicación. Ed. Alfaomega. México.

Sandía Beatriz et al. (2008). ¿Cómo evaluar cursos en línea? En Educere, Venezuela Universidad de los Andes, Octubre-diciembre.

Sobrado Fernández Luis (2007) Plan de acción tutorial en los centros docentes universitarios: El rol del profesor tutor. Revista Interuniversitaria de Formación del Profesorado. Santiago de Compostela.

Tello E. (2007). Las Tecnologías de la información y comunicaciones (TIC) y la brecha digital. Revista de Universidad y Sociedad del Conocimiento. RUSC. Vol. 4 N. 2. Catalunya. <http://rusc.uoc.edu>

Tobón Tobón, Sergio (2010). "Técnicas para valorar las competencias" en Formación Integral y Competencias. México: ECO Ediciones, pp. 302-308.

Torre Velandia A., & Reyes Médez, J.J. (2008). Los investigadores y Colaboratorios Virtuales: Experiencia de Profesores Investigadores de la UAM-X y de la UNAM en México, REDALyC. 77-82.

Viloria, O Rendón (2005). Reseña "Historia de la sociedad Poscapitalista" de Peter Druker, Recuperado el 12 de 2011 de REDALyC: www.redaly.org
www.iIner.salud.gob.mx/descargas2/código_de_conducta_relab.pdf

Zabalza Miguel A. (2010). Competencias docentes del profesorado universitario. Narcea. Madrid.

Nutrición Ovina

Brianda S. Velázquez De Lucio, Yuridia Mercado Flores, Alejandro Téllez Jurado, Maricela Ayala Martínez, Edna M. Hernández Domínguez, Jorge Álvarez Cervantes

B.Velázquez¹, Y. Mercado¹, A. Téllez¹, M. Ayala³, E.Hernández², J. Álvarez¹

¹ Universidad Politécnica de Pachuca (UPPachuca), Posgrado en Biotecnología.

² Instituto Tecnológico Superior del Oriente del Estado de Hidalgo (ITESA).

³ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH).

ehernandez@itesa.edu.mx

F. Trejo, (eds.).Ciencias Biológicas y de la Salud, Proceedings-©ECORFAN-México, Pachuca, 2017.

Abstract

Sheep breeding in Mexico is mainly intended for the production of meat for human consumption, however, factors such as low genetic quality of livestock and deficiencies in food cause fluctuations that are reflected in the animal's body condition and gain in weight; so the need arises to find efficient feeding alternatives that meet their nutritional need. In this chapter, important issues of ovine nutrition, digestive system, production systems, and biotechnological perspectives for the feeding of sheep through the use of lignocellulosic residues degraded by fungi.

Residuos lignocelulósicos, *Pleurotus ostreatus*, Rumiante, alimento balanceado

Introducción

Los ovinos son animales rumiantes criados principalmente en pastoreo para la producción de carne de consumo humano, la cual genera grandes derramas económicas al país. Se alimentan de pastos, pajas, arbustos, leguminosas o forrajes de bajo valor nutritivo y difícil digestión, aprovechando solo una parte de los carbohidratos estructurales por acción enzimática de los microorganismos que viven en sus divertículos estomacales; sin embargo, los fuertes vínculos entre la celulosa, hemicelulosa y lignina inhiben la accesibilidad total de las enzimas microbianas del rumen, bloqueando cantidades significativas de energía para el animal, lo que ocasiona una disminución en su producción.

La deslignificación biológica es una forma prometedora para mejorar la calidad nutricional y digestibilidad de materiales fibrosos, como es el caso del sustrato degradado por hongos, el cual es el residuo que queda del cultivo de un hongo sobre un material lignocelulósico, que puede ser utilizado en la formulación de alimentos balanceados para rumiantes.

En este capítulo se aborda de manera general los aspectos del sistema digestivo de los rumiantes, su ecosistema ruminal para la fermentación de alimentos fibrosos, nutrición y los avances biotecnológicos para el aprovechamiento de residuos en la elaboración de alimentos balanceados.

Ovinocultura en el Estado de Hidalgo

En la actualidad en México, la cría de ovinos se destina para la producción de carne para consumo humano, de acuerdo con el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) la producción nacional de ganado ovino en pie fue de 116 047 toneladas y en canal de 59 419 toneladas en el año 2015, en donde el Estado de Hidalgo se posicionó en el 2° lugar en producción de ganado ovino en pie con 14 533 toneladas después del Estado de México con una producción 17 033 toneladas en el mismo año.

A pesar de lo anterior, la producción de carne ovina para consumo humano en México no es suficiente ya que sólo se genera cerca del 70% de la carne que se consume (Arteaga, 2012), debiendo importarla congelada de otros países (SAGARPA 2015), como Jordania, Turquía y Corea del Sur (Arteaga, 2012). La deficiente producción se debe principalmente a factores como la baja calidad genética de los rebaños, escasa adopción de tecnologías, deficiencias en la comercialización (Bores y Vega, 2003), entre otros, por lo que es una necesidad incrementar la producción. En el Estado de Hidalgo, la ovinocultura es una actividad importante para la población, no solo por los ingresos que genera, sino también por la identidad y calidad del sabor de su barbacoa (SAGARPA 2015), el cual es un platillo típico de la región preparado con carne de ovino cocida en su propio jugo o al vapor (SIAP, 2014).

Ganado ovino

El borrego doméstico, *Ovis aries*, Figura 7.1 es un animal ungulado, con dos dedos, rumiante y herbívoro del que se obtienen principalmente carne, lana y leche. Carece de dientes incisivos superiores y caninos se alimentan de hierbas frescas y utilizan sus cuatro estómagos para la degradación y absorción de los nutrientes, su piel posee dos estructuraciones, una de pelo y otra de lana, la cual se desarrolla de acuerdo con la raza y condiciones climatológicas. Los ovinos poseen un sistema gustativo desarrollado que le permite ser un “Rumiante selectivo” por lo que selecciona su comida y la cortan con sus dientes (Vega-Pérez y García-Barrera, 2011).

Figura 7.1 Borrego doméstico *Ovis Aries*



Sistemas de producción

Existen diferentes razas de ovinos en todo el mundo criadas para la producción de carne como el Dorset, el Columbia, el Suffolk y el Hampshire, y para la producción de lana que incluyen el Merino, Rambouillet, Lincoln y Romney (Delano *et al.*, 2002); en el caso de México se producen carne y pieles con razas como la Suffolk, Hampshire, Rambouillet y Dorser y de pelo como Katahdin y Polibuey. Su producción en México se lleva a cabo por diversos sistemas que dependen principalmente de las condiciones climatológicas, disponibilidad de recursos y nivel socioeconómico de los productores, los principales se desarrollan en pastoreo, estabulación o su combinación; y de acuerdo con la intensidad son divididos en intensivos, semi-extensivos y extensivos; con respecto a su propósito fundamental se clasifican como comerciales y de autoconsumo (Partida de la Peña *et al.*, 2013).

Sistema de producción intensiva

Mediante este sistema los animales tienen acceso a la alimentación abundante mediante comederos, viven al aire libre y poseen mano de obra especializada. Este tipo de sistema de producción es el indicado para la crianza de animales, el cual procura obtener una mayor eficiencia reproductiva y mínima mortalidad. La producción intensiva puede ser en pastoreo tecnificado, en completa estabulación o en esquemas mixtos (Vega-Pérez y García-Barrera, 2011).

En el sistema de pastoreo tecnificado o racional, el alimento que el animal consume está constituido principalmente por forrajes y/o gramíneas con leguminosas; toma en cuenta factores como la temperatura, radiación solar, disponibilidad de agua, propiedades físicas del suelo y precipitación pluvial (Partida de la Peña *et al.*, 2013).

En la estabulación, los animales son confinados durante toda su vida a corrales donde cuentan con los cuidados necesarios como sombra, comederos y bebederos automáticos. En esta categoría existen unidades especiales para cada etapa fisiológica, donde los animales son atendidos de acuerdo con sus necesidades específicas de sexo, edad y peso (Partida de la Peña *et al.*, 2013).

Sistema extensivo

En este sistema la crianza de los animales es a gran escala y se utilizan pasturas naturales como fuente principal de alimentos. Requiere acceso a cereales, manejo y cuidados sanitarios para los animales (Vega-Pérez y García-Barrera, 2011). Aquí no se proporcionan complementos alimenticios, solo reciben sales minerales como suplementos (Partida de la Peña *et al.*, 2013).

Sistema semi-extensivo

Los animales pastorean en potreros o en plantaciones por las mañanas y luego por las tardes antes del anochecer (Figura 7.2). Los ovinos reciben alimentación complementaria como esquilmos agrícolas, granos, cereales o alimentos comerciales (Partida de la Peña *et al.*, 2013).

Figura 7.2 Sistema de producción semi-extensivo



Alimentación y Nutrición Ovina

Poseen la capacidad de degradar los hidratos de carbono estructurales como la celulosa, hemicelulosa y pectina presentes forrajes y pastos, gracias a sus divertículos estomacales existen microorganismos que realizan procesos fermentativos (Relling y Mattioli, 2003).

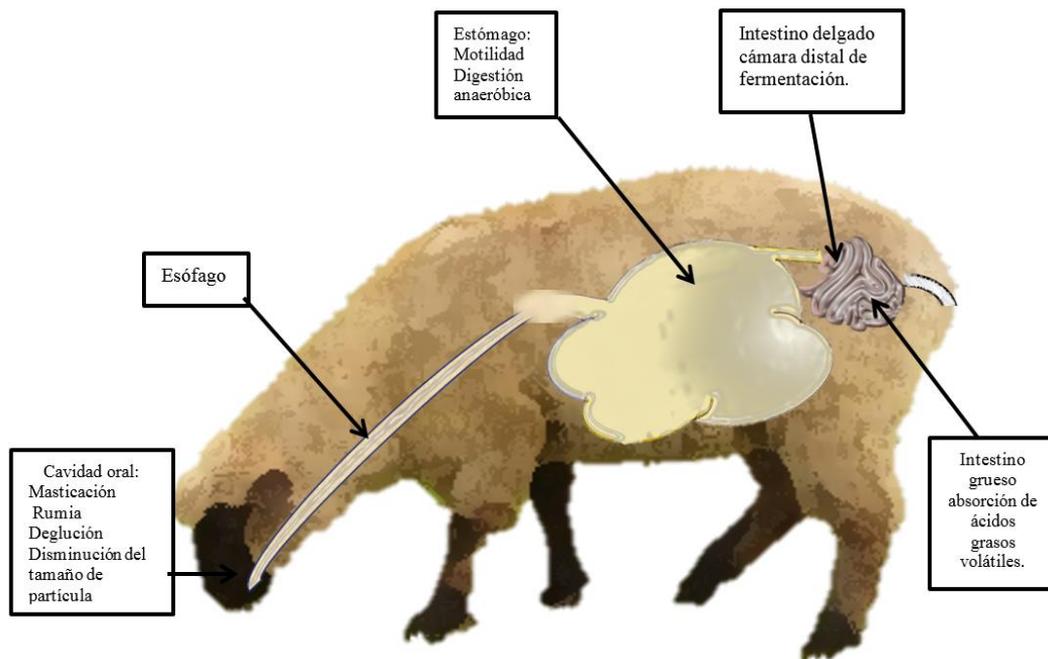
Función e importancia del sistema digestivo de los rumiantes

Los rumiantes son animales que poseen un conducto gastrointestinal con cierto grado de especialización y variaciones anatómicas resultado de la evolución y la selección del alimento, de acuerdo con esto, las especies que evolucionaron precozmente son conocidos como selectores ya que escogen los vegetales y alimentos de fácil digestión; los consumidores de gramíneas y forrajes se alimentan de vegetales fibrosos, encontrándose el ganado vacuno, ovejas salvajes y domésticas como consumidores de estos, otro grupo es el tipo intermedio o mixto que se adapta a un extremo u otro como las cabras (Hofman, 1993).

El sistema digestivo de los rumiantes (Figura 7.3), anatómicamente puede dividirse de acuerdo a su desarrollo y función en:

- Porción cefálica con glándulas anejas.
- Porción del intestino anterior que comprende al esófago y estómago.
- Porción del intestino medio que comprende el intestino delgado y glándulas anejas.
- Porción de intestino posterior que comprende al intestino grueso y ano (Hofman, 1993).

Figura 7.3 El sistema digestivo de los rumiantes posee un grado de especialización resultado de la evolución y hábitos alimenticios



La porción correspondiente a la cabeza y glándulas anejas comprende los órganos prensiles consistentes en labios, lengua, dientes incisivos inferiores y lámina dental. La cavidad oral se encuentra recubierta por una mucosa cutánea gruesa y es ocupada en su mayor parte por la lengua; las glándulas salivales son variables de acuerdo con el tipo de alimentación del animal (Hofman, 1993).

Alguna de las funciones de la saliva en los rumiantes son (Church, 1993):

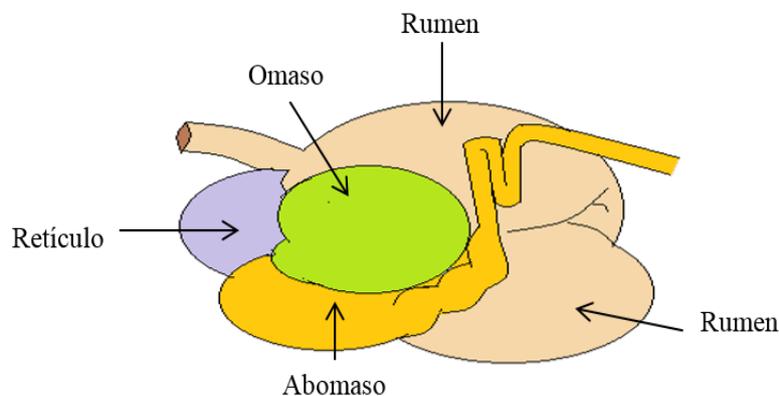
- Ayudan a la masticación y deglución.
- Actividad enzimática, los rumiantes carecen de la enzima amilasa, pero poseen un grupo de enzimas denominado lipasa salival que interviene en la hidrólisis de ácidos grasos de cadena corta como butírico.
- Actividad tampón (bicarbonato-fosfato) como mecanismo para mantener el pH del rumen en las condiciones a las que se encuentran adaptadas los microorganismos.
- Factor importante para la apreciación de sabores.
- Tiene propiedades antiespumantes.

El aparato masticador de los rumiantes está conformado por las mandíbulas, dientes y músculos que intervienen en la masticación, la cual es una acción previa a la digestión que permite la reducción de los materiales vegetales hasta un tamaño adecuado para el ataque de los carbohidratos estructurales por los microorganismos del rumen e intestinos (Hofman, 1993).

El esófago es un tubo que desemboca en el estómago (Hofman, 1993), el cual como puede observarse en la Figura 7.4 posee cuatro cavidades: el retículo, el rumen, el omaso y el abomaso, los tres primeros son conocidos como pre-estómagos y poseen una mucosa aglandular (no excretan jugos gástricos), el abomaso es una estructura glandular (Redondo, 2003), el retículo y el abomaso se encuentran unidos por un pliegue denominado retículo-ruminal, que conforma una cuba de fermentación (Krause *et al.*, 2013).

El intestino de los rumiantes es caracterizado por su longitud y por su disposición de una cámara distal de fermentación; el intestino delgado posee una mucosa con presencia de vellosidades a diferencia del intestino grueso el cual carece de estos (Hofman, 1993), las funciones homeostáticas del intestino grueso incluyen el mantenimiento del equilibrio entre los electrolitos y los fluidos, así como un alojamiento para microorganismos (razón por la que aquí se lleve a cabo la absorción de ácidos grasos volátiles), además de ser el almacén temporal de las heces hasta su eliminación (Ruckebusch, 1993).

Figura 7.4 Estómago de rumiantes, donde se observan sus 4 compartimientos característicos.



Fuente: Modificado de Redondo, 2003

Para alimentarse los rumiantes mastican la comida liberando los componentes solubles y dañando los tejidos vegetales para la digestión microbiana (Krehbiel, 2014); experimentan movimientos ordenados del retículo-rumen (motilidad) que les permiten mezclar los alimentos recién ingeridos y los existentes en el estómago. La motilidad, interviene en la regurgitación y eructación de los gases generados, así como en la retención del alimento para una adecuada y lenta digestión microbiana (Ruckebusch, 1993).

Los rumiantes también rumian, es decir tragan los alimentos, los regurgitan, mastican y vuelven a tragar los alimentos regurgitados (Krehbiel, 2014), la nueva masticación proporciona una re-insalivación y deglución adicional del bolo alimenticio (Ruckebusch, 1993); la rumia tiene funciones importantes dentro de las que destacan:

- Contribución a la degradación del tamaño de partículas.
- Rompe las cubiertas impenetrables de los tejidos vegetales lo que aumenta la superficie accesible para los microorganismos (Welch y Hooper, 1993).

La eficacia de la masticación y rumia dependen tanto del animal como de la composición del forraje, así la masticación influye en la digestión bacteriana ya que ésta será más rápida cuanto más reducido sea el tamaño de las partículas del alimento (Welch y Hooper, 1993).

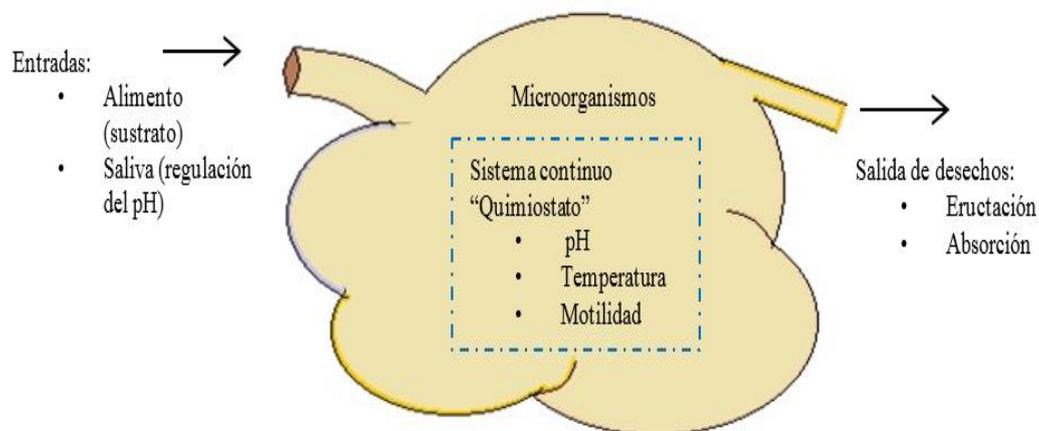
El eructo, es un mecanismo por medio del cual los rumiantes arrojan al exterior gran parte de los gases producidos durante la fermentación microbiana y se manifiesta en mayor proporción entre los 30 minutos a 2 horas posteriores a la ingestión de los alimentos, se estimula por la presión del gas en el rumen, a diferencia de la rumia la cual es estimulada por mecanismos táctiles y químicos (Ruckebusch, 1993).

Por las características del sistema digestivo, los rumiantes son capaces de aprovechar polisacáridos de vegetales por la acción enzimática de bacterias, protozoos y hongos que viven dentro del rumen, que mediante fermentación anaeróbica proporcionan energía metabolizable al animal, aminoácidos y vitaminas del complejo B, en contraparte las proteínas son de bajo valor biológico (Krehbiel, 2014); además, también como parte de la digestión ruminal se producen ácidos grasos volátiles (AVG) y proteína microbiana (Krehbiel, 2014).

Ecosistema Ruminal y fermentación microbiana

El rumen es un hábitat ideal con las condiciones necesarias para la supervivencia y crecimiento de microorganismos, donde la temperatura permanece relativamente constante entre los 36° y los 40°C, el agua y la saliva proporcionan el ambiente húmedo requerido y los alimentos proveen la energía para el crecimiento y actividad microbiana; la motilidad permite el contacto entre los alimentos ingeridos y los microorganismos, y por último los productos finales de la fermentación son eliminados por absorción sanguínea o a través de la eructación; de acuerdo con lo anterior, el rumen funciona como un fermentador en un sistema continuo “quimiostato” (Figura 7.5), (Nagaraja, 2016).

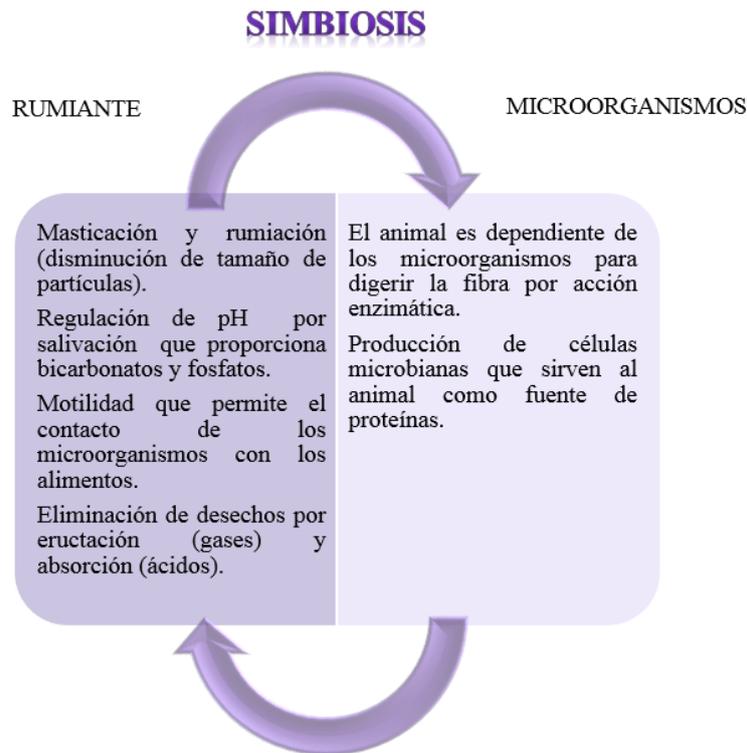
Figura 7.5 El estómago de un rumiante funciona como un sistema de fermentación continuo (quimiostato)



Fuente: Modificado de Nagaraja, 2016

Los microorganismos y el animal viven en una estrecha relación simbiótica (Figura 7.6), donde el huésped proporciona a los microorganismos el ambiente para que puedan desarrollarse contribuyendo entre otras cosas a la digestión de los alimentos ingeridos (Nagaraja, 2016), la fermentación en el rumen es el resultado de interacciones entre los microorganismos que habitan este ecosistema como, mutualismo (beneficio para ambas especies), comensalismo (interacción beneficiosa para uno sin influir en el otro), parasitismo (interacción en que un microorganismo se beneficia del otro influyendo negativamente en este) (Yokoyama y Johnson, 1993).

Figura 7.6 El animal (Huésped) y los microorganismos conviven en una armoniosa relación simbiótica donde uno depende del otro para subsistir.



El ecosistema del rumen está poblado por bacterias, protozoos, hongos y bacteriófagos (Nagaraja, 2016), y a pesar de que en el rumen penetran constantemente microorganismos extraños por medio de los alimentos, agua y tierra no ejercen influencia significativa sobre los microorganismos del rumen ya que no son capaces de adaptarse a las condiciones ambientales (Yokoyama y Johnson, 1993).

Las bacterias del rumen oscilan entre 10^{10} y 10^{11} , en su mayoría son anaerobias obligadas y en menor proporción anaerobias facultativas; pueden encontrarse adheridas a los alimentos o flotantes en el líquido ruminal. Las bacterias del rumen de acuerdo a sus formas pueden ser cocos, bacilos y espirilos; y por los sustratos que fermentan se agrupan como se muestra en la Tabla 7.1 (Yokoyama y Johnson, 1993).

Tabla 7.1 Clasificación de las bacterias que habitan el rumen de acuerdo con el sustrato que fermentan

Clasificación	Sustrato	Ejemplos
Bacterias celulolíticas	Celulosa. Degradación escalonada de celulosa a glucosa	<i>Bacteroides succinogenes</i> , <i>Ruminococcus flavefaciens</i> <i>R. albus</i>
Bacterias hemicelulolíticas	Hemicelulosa	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Ruminococcus spp.</i>
Bacterias pectinolíticas	Pectina	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> <i>Lachnospira mutiparus</i>
Bacterias amilolíticas,	Almidón. Su degradación es por la intervención de α -amilasa extracelular que rompe al azar la cadena del almidón.	<i>Bacteroides amylophilus</i> , <i>Streptococcus bovis</i> , <i>Bacteroides ruminicola</i>

Bacterias que utilizan azúcares simples	Azúcares simples	<i>Treponema bryantii</i> <i>Lactobacillus vitulinus</i>
Bacterias que usan ácidos intermedios. Estas bacterias fermentan los productos finales de otras bacterias.	Lactato, Acetato, propionato o ácidos grasos. Succinato, Propionato, CO ₂ , Metanoato, Metano	<i>Megasphaera elsdenii</i> y <i>Selenomonas ruminantium</i> <i>Selenomonas ruminantium</i> , <i>Veilonella alcalescens</i> <i>Methanobrevibacter ruminantium</i>
Bacterias proteolíticas	Proteínas	<i>Bacteroides ruminicola</i> , <i>B. amylophilus</i> .
Bacterias productoras de amoníaco. Producción de amoníaco mediante la desaminación de aminoácidos.	Aminoácidos	<i>Bacteroides ruminicola</i> , <i>Megasphaera elsdenii</i> , <i>Selenomonas ruminantium</i> .
Bacterias lipolíticas	Lípidos	<i>Anaerovibrio lipolytica</i> hidroliza triglicéridos y fosfolípidos a glicerina y 3 ácidos grasos. <i>Butyrivibrio</i> spp. hidrólisis de galactolípidos, fosfolípidos y sulfolípidos.
Bacterias productoras de metano. Papel en la regulación de la fermentación total al eliminar H ₂ gaseoso, al mantenerse bajo este mediante la formación de CH ₄ se promueve el crecimiento de otras bacterias que permiten una fermentación más eficaz.	Reducción de CO ₂ con H ₂ para producir metano.	Bacterias metanogénicas como: <i>Methanobrevibacter ruminantium</i> , <i>Methanobrevibacterium formicicum</i> , <i>Methanomicrobium mobile</i> .
Bacterias ureolíticas	Urea	<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> , <i>Selenomonas</i> sp, <i>Treponema</i> sp.

Fuente: Modificada de Yokoyama y Johnson, 1993

Los protozoarios del rumen se encuentran en una proporción de unos 10⁵ a 10⁶ cel/ml del contenido ruminal, todos son anaerobios estrictos (Yokoyama y Johnson, 1993); y pueden ser flagelados y ciliados; participan activamente en la digestión ruminal por acción de enzimas hidrolíticas que actúan sobre los componentes principales de los piensos (Nagaraja, 2016).

Los hongos del rumen contribuyen a la fermentación de los carbohidratos mediante la producción de enzimas hidrolíticas (celulasas, hemicelulasas, pectinasas, liasas, amilasas y proteasas), y son capaces de utilizar glucosa, celobiosa y lactosa, e incluso algunos hongos pueden utilizar la maltosa, galactosa, ribosa y ramnosa.

En el caso de los bacteriófagos son virus que infectan a las bacterias y han sido encontrados en el líquido ruminal (Nagaraja, 2016). Durante la fermentación en el rumen los componentes de la dieta son transformados en productos útiles como ácidos grasos volátiles, proteína microbiana y vitaminas del grupo B, también se producen productos inútiles como son CH₄ y CO₂, así como productos nocivos como amoníaco y nitrato (Owens y Goetsch, 1993). Los carbohidratos, lípidos y proteínas ingeridos en los alimentos suelen ser polímeros que son convertidos en monómeros para su fermentación o absorción; los productos finales de la fermentación son eliminados continuamente e incluyen ácidos grasos volátiles, CH₄, CO₂, N amoniacal como se muestra en la Tabla 7.2.

Tabla 7.2 Conversión de componentes inmediatos de los alimentos y su producto final en la digestión ruminal

Componente del alimento	Polímero	Monómero	Producto de la fermentación ruminal
Extracto libre de nitrógeno	Carbohidratos (hexosas)	Glucosa	Acetato, propionato y butirato
Fibra Bruta	Pentosana	Pentosas	Acetato, propionato y butirato
Proteína Bruta	N no proteico	Aminoácidos	Acetato, propionato, butirato, isobutirato, isovalerato y amoniaco
Grasa Bruta	Triglicéridos Galactósidos	Glicerina y ácidos grasos	Propionato y ácidos grasos saturados
Ceniza Bruta	Minerales	Elementos	Elementos reducidos+células microbianas+CO ₂ y CH ₄

Fuente: Tomado y modificado de Owens y Goetsch, 1993

Nutrición y Requerimientos Nutricionales

Una nutrición adecuada para todos los animales es fundamental para su bienestar y productividad y no solo se refiere a proveer sus necesidades inmediatas. Los ovinos son animales rumiantes que se relacionan con bacterias, protozoos y hongos del rumen para la digestión de los alimentos fibrosos que consumen, por lo tanto, son necesarias formulaciones adecuadas para el mantenimiento del cuerpo, actividad física, crecimiento y reproducción (Hybu Cig Cymru / Meat Promotion Wales, 2006). Los requerimientos nutritivos de los ovinos dependen de la etapa de vida del animal (Giménez, 1994) y se refieren a la demanda diaria de agua, energía y proteínas además de algunas vitaminas y minerales (SENACSA, 2014).

Agua

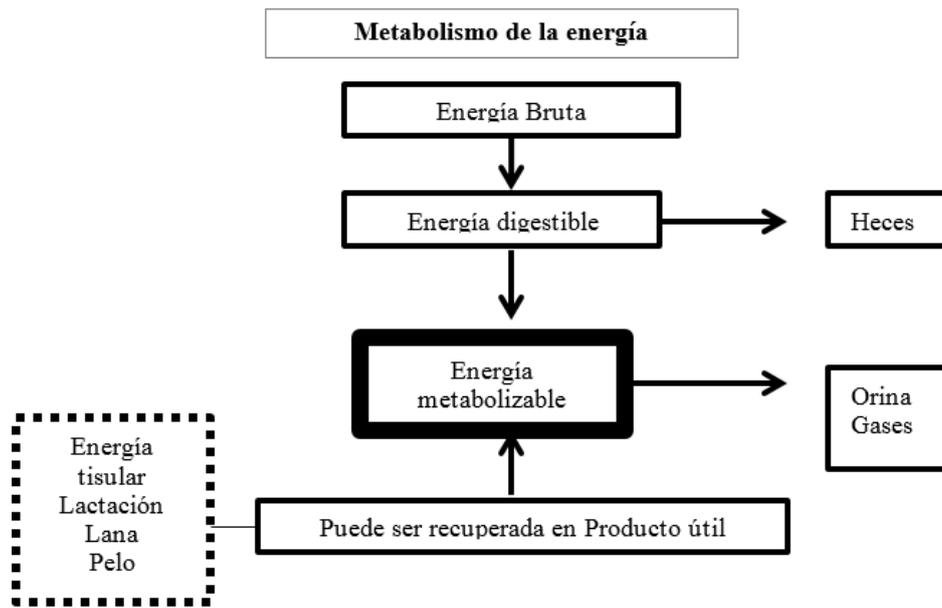
El agua es un componente esencial de los organismos, y representa del 60 al 70% del peso corporal (INATEC, 2016), se obtiene a través del agua de bebida, la contenida en los forrajes y el agua metabólica formada por la oxidación de los nutrientes; se pierde, a través de las heces, orina, al respirar y en forma de sudor. El agua cumple funciones en el metabolismo intermedio, es decir, todas las reacciones bioquímicas que tienen lugar en el animal necesitan agua, también desempeña un papel fundamental en el transporte y eliminación de residuos (Squires, 1993) y mantención de la temperatura corporal del animal (INATEC, 2016).

Energía

La energía, es el factor limitante en la alimentación de los rumiantes, una escasez de ésta se traducirá en una disminución de la producción, falla reproductiva, aumento de la mortalidad, mayor susceptibilidad a enfermedades y parásitos (Giménez, 1994). La energía que obtiene el ganado de los alimentos, antes de ser aprovechada para el crecimiento y producción pasa por diversas pérdidas, por lo que podemos distinguir en la nutrición animal los siguientes tipos de energía (Figura 7.7).

La energía bruta o calor de combustión, es la total contenida en los alimentos, y es la energía liberada en forma de calor cuando la sustancia orgánica se oxida hasta dióxido de carbono y agua. La energía digestible, es la que el ganado es capaz de digerir, mientras que las porciones no digeridas son desechadas a través de las heces, la energía metabolizable es el resto de la energía perdida a través de la orina y gases; esta puede ser recuperada en forma de un producto útil como leche, lana o pelo (INATEC, 2016; Ferrell, 1993).

Figura 7.7 Energía en la nutrición animal



Fuente: Modificado de Ferrell, 1993

Proteína

La proteína es necesaria para proporcionar energía, construcción y reparación de tejidos (Giménez, 1994); en el caso de los animales rumiantes, los microorganismos del rumen tienen la capacidad de utilizar nitrógeno no proteico (NNP) sintetizándose una proteína microbiana y los aminoácidos esenciales no son necesarios (INATEC, 2016). La proteína suministrada a través de la dieta es sometida a una degradación progresiva en el rumen y solo una porción de ésta llegará al intestino donde podrá ser absorbida y aprovechada por el animal (Owens y Zinn, 1993); por esta razón, para la alimentación de los rumiantes es necesario conocer y estimar la degradación de la proteína en su sistema digestivo mediante un fraccionamiento en base a su solubilidad y degradabilidad (Figura 7.8) en fracción A, fracción B que a su vez se divide en B1, B2, B3 y la fracción C (Sniffen *et al.*; 1992; Krishnamoorthy *et al.*, 1982; Van Soest *et al.*, 1983; NCR, 2001).

Figura 7.8 Fracciones de las proteínas en base a su solubilidad y degradabilidad

FRACCION A Nitrógeno no proteico (NNP)		
Degradación rápida en el rumen y soluble.		
FRACCION B		
B1 Rápidamente degradada en el rumen.	B2 Degradada parcialmente en rumen e intestino delgado.	B3 (Proteína de sobrepaso) Degradada lentamente en el rumen. Asociada a la pared celular Se degrada en el intestino delgado.
FRACCION C Proteína insoluble		
Asociada a la lignina No se degrada en el rumen ni el intestino delgado Proteína no utilizable		

Carbohidratos y fibra

Los carbohidratos son compuestos que químicamente pueden ser hidroxialdehídos o hidroxiacetonas, se dividen en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (estructurales y no estructurales). Los carbohidratos, son indispensables para la producción de energía (INATEC, 2016), su metabolismo por los microorganismos del rumen determina la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) responsables de proveer del 70 al 80% de necesidades calóricas al animal (Fahey y Berger, 1993); los carbohidratos también se degradan en el intestino delgado generando monosacáridos donde son absorbidos y aprovechados (Hall y Eastridget, 2014). La fermentación de los carbohidratos se lleva a cabo por diferentes bacterias como *Bacteroides amylophilus*, *Streptococcus bovis*, *Succinimonas amylolytica*, *Bacteroides ruminicola*, entre otras. La fermentación de la glucosa y otros monosacáridos se lleva a cabo por el ciclo de Embden-Meyerhof, donde existe una conversión de una hexosa en 2 moles de piruvato, 2 ATP y 2 NADH₂. El piruvato, es el compuesto intermedio por el que pasan los carbohidratos para producir AGV, CO₂ y CH₄ (Fahey y Berger, 1993).

Los carbohidratos estructurales cobran gran importancia debido a que estos influyen directamente en la digestibilidad del alimento y la cantidad de pienso que será consumida por el animal, por lo que para su determinación se utilizan métodos como la microscopía electrónica de barrido, refractancia de infrarojos y otros como el sistema propuesto por Van Soest que permite conocer el contenido de fibra detergente neutro (FDN) que hace referencia al potencial de consumo de en forraje, y fibra detergente ácido (FDA), considerada como indicador de la digestibilidad relativa (Figura 7.9) (Fahey y Berger, 1993).

Figura 7.9 Características de las fracciones de la fibra detergente ácido y fibra detergente neutro

Fibra detergente neutro (FDN)	Comprende componentes de la pared celular (celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice)
	A medida que aumenta FDN la tasa de digestión es más lenta.
	Corresponde a la parte insoluble de la fibra.
	Su degradabilidad media es del 60%, el 50% se degrada en el rumen y el 10% en el intestino grueso.
Fibra detergente ácido (FDA)	Comprende la celulosa, lignina ácido detergente, cutina ácido detergente.

Lípidos

Los rumiantes al ser animales herbívoros consumen solo una reducida porción de lípidos, por lo que suele adicionarse semillas oleaginosas o suplementos. En las raciones comerciales se pueden agregar de 1-2% para mejorar sus características (Byers y Schelling, 1993), sin embargo, dentro del rumen pueden producirse los AGV. Microorganismos como bacterias y protozoos cumplen un papel fundamental en la hidrogenación de los lípidos, además realizan la síntesis del novo de ácidos grasos de cadena larga. La digestibilidad del extracto etéreo es menor en los rumiantes comparado con los no rumiantes debido a la fracción del material no lipídico (Byers y Schelling, 1993).

Vitaminas y minerales

Las vitaminas son necesarias ya que participan en el metabolismo como componentes de coenzimas y enzimas (INATEC, 2016), los microorganismos del rumen poseen la capacidad de sintetizar las vitaminas del grupo B y la vitamina K; sin embargo, las vitaminas A, D y E deben ser ingeridas de los alimentos por lo que se denominan vitaminas esenciales (Huber, 1993). Los animales requieren además ciertos minerales que de acuerdo con los requerimientos son agrupados como macrominerales (Ca, P, K, Na, Cl, Mg, S) y minerales traza (Co, Cu, I, Fe, Mn, Mo, Se, Zn), (INATEC, 2016). El calcio es un componente esencial para los huesos, y participa en la acción regular del corazón y actividad muscular. El fósforo forma parte de la sangre y células del cuerpo; estos dos minerales se encuentran interrelacionados por lo que se requiere un adecuado suministro de cada uno (Giménez, 1994).

Tipos de Alimentos

Los ovinos son más productivos cuando son alimentados apropiadamente con raciones de acuerdo con sus necesidades nutricionales y preferentemente a un bajo costo (Hamito, 2008), sin embargo, los piensos ya sean comprados o producidos constituyen una parte importante en los gastos de producción (Giménez, 1994). Los ingredientes para la elaboración de alimentos para ovinos deben incluir proteínas, energía, calcio y fósforo (Hamito, 2008). Los nutrientes de los alimentos se encuentran concentrados en base seca y son liberados para que el animal pueda aprovecharlos; para la alimentación de ovinos existen diversos criterios para clasificar los alimentos, uno de ellos es con respecto al contenido de agua el cual los divide en voluminosos y concentrados. Los voluminosos son conocidos así porque ocupan mucho volumen en relación a su valor nutritivo y pueden ser los forrajes como pajas de algunos cereales y los concentrados los cuales poseen un elevado valor nutritivo en relación a su peso e incluye a todos los granos de cereales como el maíz, cebada trigo, sorgo (Figura 7.10A, 7.10B). También para su alimentación existen suplementos minerales y vitamínicos, así como aditivos, los cuales en sí no aportan nutrientes a los animales, pero son utilizadas para mejorarlos, algunos son agentes colorantes, antibióticos, anabólicos, modificadores de la fermentación ruminal, aglomerantes o sustancias que realzan sabores y la palatabilidad (Castellano *et al.*, 2015).

Por otro lado, los alimentos concentrados y suplementos comerciales a menudo son utilizados para complementar pastos, heno y/u otros forrajes. Típicamente las mezclas que componen los concentrados (Figura 7.10C) contienen una fuente de proteína que puede ser por ejemplo la harina de soya, la sal y vitaminas como A, D y E (NRC, 2001), y en el caso de que el nivel de energía y proteínas sea el adecuado de acuerdo con las especificaciones de fabricante puede ser suministrado desde las 2 a 3 semanas de edad (Delano *et al.*, 2002).

Figura 7.10 Los alimentos concentrados naturales son de elevado valor nutritivo e incluyen a los granos de cereales como, a) maíz, b) cebada



Aplicaciones biotecnológicas para la producción de piensos

En la actualidad para garantizar la seguridad alimentaria, la elaboración de alimentos balanceados para ganado no debe competir con la alimentación humana (Chaturvedi y Verma, 2013), por lo que la industria dedicada a la producción de piensos está buscando nuevos sustratos que generen mayores beneficios nutricionales a menor costo, mediante la implementación de tecnologías durante la evaluación, procesamiento y uso de nuevos ingredientes. Generalmente un alimento balanceado es producido a partir de productos o subproductos agrícolas como granos, cereales y residuos; además de la adición de micro-ingredientes para elevar los niveles de aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales; así como aditivos para aumentar el crecimiento, evitar enfermedades e incluso la incorporación de probióticos (Villas- Boâs *et al.*, 2002).

Una alternativa podría ser el uso de materiales degradados biológicamente por hongos, antes conocidos como “sustrato gastado”, los cuales son el residuo que queda tras el cultivo de un hongo, y que durante este proceso ha experimentado cambios en su composición. El micelio degrada y/o absorbe los nutrientes del sustrato generando cambios en sus características iniciales como reducción de la lignina, carbohidratos estructurales e incremento de la mineralización (Postemsky *et al.*, 2016). Estos cambios se deben principalmente a que los hongos poseen un sistema enzimático extracelular altamente eficiente; produciendo hidrolasas responsables de la degradación de polisacáridos y otro oxidativo que degrada la lignina (Sánchez, 2009), mejorando así el valor nutricional de estos materiales para la alimentación rumiante (Van Kuijk *et al.*, 2015). Por ejemplo, *Pleurotus ostreatus*, es un hongo de pudrición blanca capaz de colonizar materiales lignocelulósicos (Figura 7.11) (Van Kuijk *et al.*, 2015), su particular desarrollo y crecimiento provoca la acumulación de metabolitos secundarios en general con actividades biológicas importantes que pueden ser aplicados en diversas áreas de la biotecnología (Gomes-Correa *et al.*, 2016); así como para la elaboración de alimentos ya que posee propiedades importantes como: elevado valor nutricional, alta digestibilidad, sabor y propiedades fisiológicas (Smiderle *et al.*, 2012, Lindenfelser *et al.*, 1979), convirtiéndolo en una opción eficaz para este fin ya que de acuerdo con Villas- Boâs *et al.*, (2002) durante los procesos microbianos de conversión de los materiales lignocelulósicos a alimentos, se debe cumplir con por lo menos uno de los siguientes objetivos:

- Aumentar el nivel de proteína.
- Aumentar la digestibilidad.
- Mejorar la palatabilidad del producto seco generalmente combinándolo con otros alimentos con sabor más agradable.

Figura 7.11 *Pleurotus ostreatus* colonizando paja de cebada (material lignocelulósico)

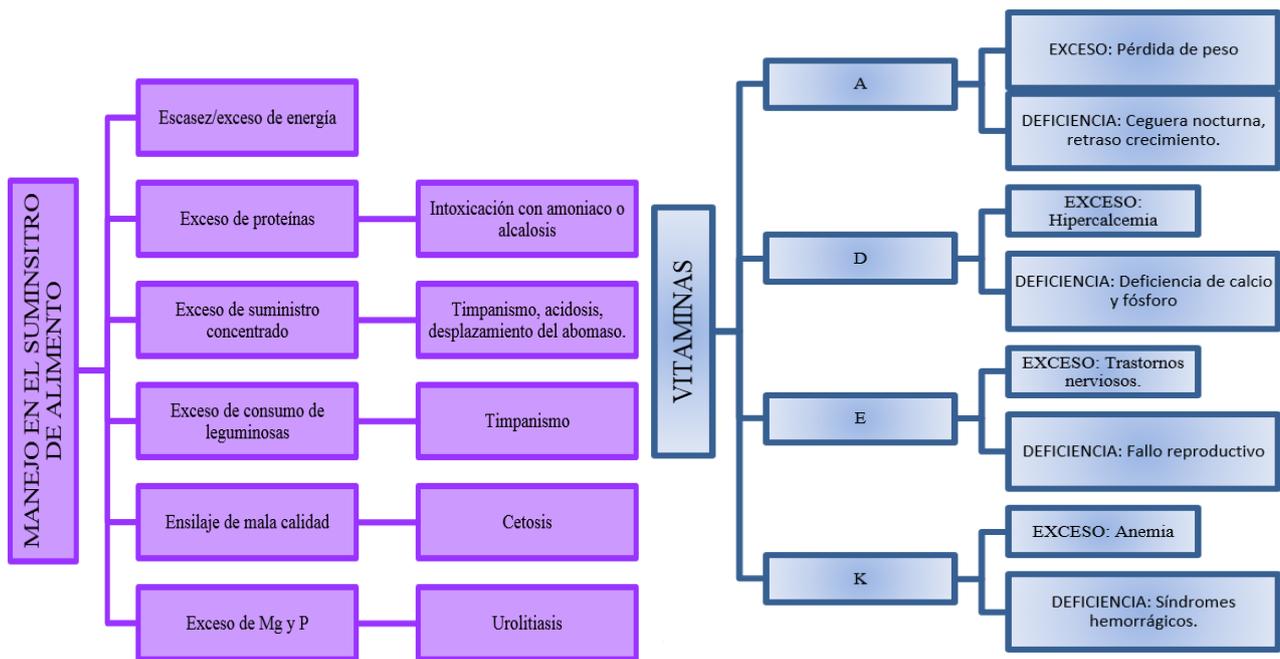


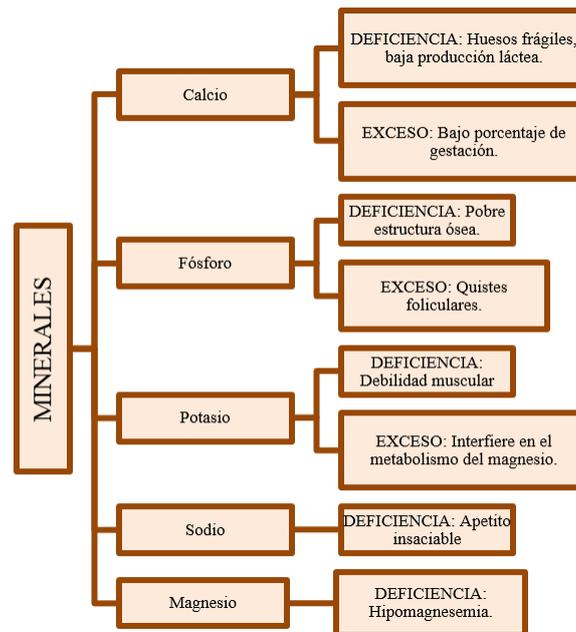
Además de *Pleurotus ostreatus*, se ha reportado el uso de materiales lignocelulósicos pretratados con hongos como *Bjerkandera adusta*, *Ceriporiopsis subvermispota*, *Corprinus fimetarius*, *Dichomitus squalens*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium clathroides*, *Inonotus andersonii*, *Inonotus dryophylus*, *Inonotus obliquus*, *Lentinus tigrinus*, *Phellinus laevigatus*, *Polyporus brumalis*, *Polyporus ciliates*, *Trametes gibbosa*, *Lentinus tigrinus*, *Polyporus ciliates*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phlebia floridensis*, *Phlebia fascicularia*, *Phlebia radiata*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus cornucopiae*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus sapidus*, *Daedalea guercina*, cultivados sobre trigo, arroz, maíz, palma de aceite, cacao, bambú, caña de azúcar, cedro, abedul y abeto, los cuales se han utilizado para la nutrición de rumiantes (Van Kuijk *et al.*, 2015).

Enfermedades por alimentación animal

Los animales pueden experimentar enfermedades ocasionadas por la sobredosis o deficiencia en los nutrientes de las raciones que consumen, incluyendo también las vitaminas y minerales, por lo que el déficit de nutrientes en los alimentos provocará en el ganado: ausencia o disminución del celo, pérdida de peso, disminución del crecimiento, nacimiento de crías débiles e índices elevados de enfermedad y muerte, además de pérdidas económicas (SENACSA, 2014) en la Figura 2.12 se resumen algunos de estos trastornos (INATEC, 2016).

Figura 7.12 Enfermedades en ovinos por una inadecuada alimentación.





Fuente: Modificado de INATEC, 2016

Conclusión

Los ovinos, son animales rumiantes y herbívoros capaces de aprovechar los carbohidratos estructurales de pastos y forrajes gracias a una relación simbiótica con bacterias, protozoos y hongos, esta particularidad le demanda una alimentación completa y balanceada que le permite mantener la relación con los microorganismos y al mismo tiempo le proporciona la energía suficiente para sus necesidades fisiológicas. El conocimiento del ganado ovino, su alimentación y producción, así como los avances tecnológicos en el uso de nuevos ingredientes para la elaboración de piensos permitirá el aprovechamiento de residuos como los sustratos degradados por hongos, para obtener mejoras en la nutrición de rumiantes, por los beneficios que estos sustratos presentan.

Agradecimiento

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada 605069, a la alumna I.I.A. Brianda Susana Velázquez de Lucio para el desarrollo de estudios de Maestría en Biotecnología en la Universidad Politécnica de Pachuca (UPPachuca).

Referencias

Arteaga C.J.D. (2012). Mensaje institucional en el acto inaugural del VII. Foro Ovino del Estado de México. INIFAP. ICAMEX.

Bores Q.R.F., Vega C.A. (2003). La investigación pecuaria ante los retos y desafíos de la ovinocultura en México. Memorias del Premier Simposium Internacional de Ovinos de Carne. Desafíos y oportunidades para la ovinocultura en México ante los nuevos esquemas de mercado abierto. 17-19 noviembre. Pachuca de Soto, Hgo; 80-95.

Byers F.M., Schelling G.T. (1993). Los lípidos en la nutrición de los rumiantes. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 339-356.

Castellano G.G., Orellana M.C., Escamilla C.J.P. (2015). Manual básico de nutrición y alimentación de ganado ovino. Facultad de ciencias agronómicas. Universidad de Chile pp. 10-13.

- Chaturvedi V., Verma P. (2013). An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value-added products. *Biotechnol* 3:415–431. DOI: 10.1007/s13205-013-0167-8
- Church D.C. (1993). Función y producción de saliva. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp.127-135.
- Delano M.L., Mischler S.A., Underwood W.J. (2002). Biology and diseases of ruminants: Sheep, goats, and cattle. *Laboratory animal medicine*. 519-614.
- Fahey G.C. Berger L.L. (1993). Carbohidratos en la nutrición de los rumiantes. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 305-337.
- Ferrell C.L. (1993). Metabolismo de la energía. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 283-303.
- Giménez-Jr DM. (1994). Nutrient Requirements of Sheep and Goats. Alabama A&M and Auburn Universities. Extension Animal Scientis. Obtenido desde: <http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-0812/ANR-0812.pdf> en Febrero de 2017
- Gomes Correa R.C., Brugnari T., Bracht A., Peralta R.M., Isabel C.F.R. Ferreira. (2016). Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends Food Sci Tech*. 50:103-117 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.012>
- Hall M.B. y Eastridget M.L. (2014). Invited Review: Carbohydrate and fat: Considerations for energy and more. *The Professional Animal Scientist* 30:140–149. DOI: [http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30101-7](http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30101-7)
- Hamito D. (2008). Formulation of rations for sheep and goats. Technical Bulletin No. 6. Ethiopia sheep and goat productivity improvement program (ESGPIP). Obtenido desde: <http://www.esgPIP.org/PDF/Technical%20bulletin%20No.%2016.pdf>, Febrero de 2017.
- Hofman R.R. (1993). Anatomía del conducto gastro-intestinal. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp.15-46.
- Huber J.T. (1993). Las vitaminas en la nutrición de los rumiantes. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 357-371.
- Hybu Cig Cymru / Meat Promotion Wales. (2006). Practical sheep nutrition. Obtenido desde:http://hccmpw.org.uk/medialibrary/publications/Practical%20sheep%20nutrition_1.pdf, Febrero de 2017.
- INATEC (Instituto Nacional Tecnológico). (2016). Manual del protagonista. Nutrición Animal. Dirección General de Formación Profesional. Nicaragua.
- Krause D.O., Nagaraja T.G., Wright A.D.G., Callaway T.R. (2013). Rumen microbiology: Leading the way in microbial ecology. *J. Anim. Sci*. 91:331–341. DOI: 10.2527/jas.2012-5567.
- Krehbiel C.R., P.A.S. (2014). Invited Review: Applied nutrition of ruminants: Fermentation and digestive physiology. *The Professional Animal Scientist* 30:129–139 DOI: [http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30100-5](http://dx.doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30100-5)

Krishnamoorthy U., Muscato T.V., Sniffen C.J., Van Soest P.J. (1982). Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 65:217-225.

Lindenfelser, L.A., Detroy, R.W., Ramstack, J.M. and Worden, K.A. (1979). Biological modification of the lignin and cellulose components of wheat straw by *Pleurotus ostreatus*. *Dev. Ind. Microbiol.* 20:541-551.

Nagaraja T.G. (2016). Microbiology of the Rumen. Chapter 2. Rumenology. *Springer International Publishing Switzerland*. 39-61. DOI: 10.1007/978-3-319-30533-2_2.

National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Seventh Revised Edition USA.

Owens F.N., Goetsch A.L. (1993). Fermentación ruminal. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 159-189.

Partida de la Peña J.A., Braña V.D., Jiménez S.H., Ríos R.F.G., Buendía R.G. (2013). Producción de carne ovina. Libro Técnico No. 5. SAGARPA. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Ajuchitlán, Qro. Obtenido desde: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MANUALES%20INIFAP/Manual%20Produccion%20de%20Carne%20Ovina.pdf> en Febrero de 2017.

Postemsky P.D., López-Castro R.I. (2016). Aplicaciones de sustrato residual del cultivo de hongos en la producción hortícola. *Horticultura Argentina* 35: 44-63

Redondo Cardeña P.A. (2003). Anatomía del aparato digestivo del rumiante. Área de Zootecnia y Producción Animal. INEA (Escuela Universitaria Ingeniería Técnica Agrícola. Obtenido desde http://lan.inea.org:8010/web/zootecnia/Zootecnia/Anatomia_dig_rum.htm, Febrero del 2017.

Relling A.E. y Mattioli G.A. (2003). Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Facultad de Ciencias Veterinarias-U.N.L.P. pp 5-6.

Ruckebusch Y. (1993). Motilidad del conducto gastro-intestinal. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 69-115.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2015). Obtenido desde <https://www.gob.mx/sagarpa> en Julio 2017.

Sánchez C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol Adv.* 27:185–194. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.001>

SENACSA (Servicio Nacional de Calidad y Salud Animal). (2014). Manual de Producción Ovina. Dirección General de Calidad Animal (DIGECAL). Departamento de ovinocultura. Obtenido desde http://www.mag.gov.py/dgp/Publicaciones%20recomendadas%20sector%20agrario/Manual_ovinos%20Senacsa%202014.pdf en Febrero 2017.

SIAP (Sistema de información agropecuaria y pesquera). (2014). Cierre de la producción pecuaria por Estado 2012. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.siap.gob.mx/ganaderia-produccion-anual> en Julio 2017.

Smiderle F.R., Olsen L.M., Ruthes A.C., Czelusniak P.A., Santana-Filho A.P., Sasaki G.L., Gorin P.A.J., Iacomini M. (2012). Exopolysaccharides, proteins and lipids in *Pleurotus pulmonarius* submerged culture using different carbon sources. *Carbohydr Polym.* 87:368-376. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.063>

Sniffen C.J., O'Connor J.D., Van Soest P.J., Russell J.B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70:3562-3577.

Squires V.R. (1993). Agua y sus funciones, regulación y empleo comparativo por los rumiantes. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 243-253.

Van Kuijk S.J.A., Sonnenberg A.S.M., Baars J.J.P., Hendriks W.H., Cone J.W. (2015). Fungal treated lignocellulosic biomass as ruminant feed ingredient: A review. *Biotechnol Adv.* 33: 191–202. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.014>

Van Soest P.J. (1983). Nutritional Ecology of the Ruminant. USA, Oregon: Cornell University. pp. 230-248.

Vega-Pérez C.A. y García-Barrera D.R. (2011). Guía práctica para pequeños productores ovinos. Proyecto Alianza Ovina con la Asociación de Productores Ovinos del Tundama y Sugamuxi "ASOPROVINOS". Fundación Social de Holcim Colombia. Editorial Jotamar Itda. Tunja. Obtenido desde: http://www.fundacionsocialholcimcolombia.org/OVINOS_Guia-Practica.pdf en Febrero 2017

Villas-Boâs S.G., Esposito E., Mitchell D.A. (2002). Review. Microbial conversion of lignocellulosic residues for production of animal feeds. *Anim Feed Sci Tech.* 98:1-12. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401\(02\)00017-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00017-2).

Welch J.G., Hooper A.P. (1993). Ingestión de alimentos y agua. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 117-126.

Yokoyama M.T., Johnson K.A. (1993). Microbiología del rumen e intestino. El rumiante, Fisiología digestiva y Nutrición. Editorial Acribia. España. pp. 137-157.

Apéndice A . Consejo Editor Universidad Politécnica de Pachuca

CORTÉS-MÁRQUEZ, Sandra Kristal. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

MARTÍNEZ-MACÍAS, Gerardo. MsC.
Universidad Autónoma de Guadalajara, México

OLAYA-ESCALONA, Yadira. MsC.
Instituto de Capacitación Educativa Especializada, México

VÁZQUEZ-CHACÓN, Verónica. MsC.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

OLIVEIRA, Carlos André. PhD.
Instituto MORFT, España

AHUMADA-MEDINA, Albino. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

CALLEJA-ARRIAGA, Wilfrido. PhD.
Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica, México

NIÑO DE RIVERA Y OYARZABAL, Luis. PhD.
Instituto Politécnico Nacional, ESIME Culhuacán, México

ROBLES-CAMARILLO, Daniel. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

BERBER-SOLANO, Tania Paloma. PhD.
Universidad Autónoma de Nuevo León, México

GALLARDO-HERNÁNDEZ, Ezequiel Alberto. PhD.
Instituto Politécnico Nacional, ESIME Zacatenco, México

VERA-CÁRDENAS, Edgar Ernesto. PhD.
Instituto Tecnológico de Pachuca, México

LUIS-RAYA, Gilgamesh. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

FALCÓN-LÉON, Martha Patricia. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

MARTÍNEZ-PÉREZ, Armando Irvin. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

TORRES-GALLEGOS, Edgar Augusto. PhD.
Instituto Tecnológico de Monterrey campus Edo. de México

VÁZQUEZ-GARCÍA, Rosa Ángeles. PhD.
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México

REYES-VALDERRAMA, María Isabel. PhD.
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México

ZAVALA-DE PAZ, Jonny Paul. PhD.
Universidad Politécnica de Querétaro, México

ISAZA-BOHORQUEZ César Augusto. PhD.
Universidad Politécnica de Querétaro, México

ANAYA-RIVERA, Ely Karina. PhD.
Universidad Politécnica de Querétaro, México

CASTILLO-VELÁSQUEZ, Francisco Antonio. PhD.
Universidad Politécnica de Querétaro, México

GARCÍA-VÁZQUEZ, Juan Pablo. PhD.
Universidad Autónoma de Baja California, Campus Mexicali, México

MARTÍNEZ-VARGAS, Anabel. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

CRUZ-LEÓN, Jorge Stefan. MsC.
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México

HERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, Carmin. MsC.
Instituto Tecnológico Superior del Oriente del Estado de Hidalgo, México

RODRÍGUEZ-FLORES, Jazmín. MsC.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

VARELA-CALOS, Enrique. PhD.
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México

MIRANDA-ROMAGNOLI, Pedro. PhD.
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México

CASTRO-ESPINOZA, Félix Agustín. PhD.
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México

SANTOS-SÁNCHEZ, Omar Jacobo. PhD.
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México

ROBLES-CAMARILLO, Daniel. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

LIZAMA-PÉREZ, Luis Adrián. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

SALGADO-RAMÍREZ, Julio César. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

FLORES-ABAD, Ángel. PhD.
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México

RIVERO-JUÁREZ, Joaquín. PhD.
Universidad Tecnológica de Ciudad Juárez, México

ORTIZ-VERDIN, Alondra Anahi. PhD.
Universidad Politécnica de Querétaro, México

FUENTES-SILVA, Carlos. PhD.
Universidad Politécnica de Querétaro, México

ESPINOZA-QUESADA, Eduardo Steed. PhD.
CONACYT - LAFMIA CINVESTAV, México

ABUNDIS-FONG, Hugo Francisco. PhD.
CONACYT - Universidad del Istmo, México

CAMPOS-MERCADO, Eduardo. PhD.
CONACYT - Universidad del Istmo, México

BENÍTEZ-MORALES, José Gerardo. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

MUÑOZ-PALACIOS , Filiberto. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

RAMOS-FERNÁNDEZ, Julio César. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

TREJO-MACOTELA, Francisco Rafael. PhD.
Universidad Politécnica de Pachuca, México

LÓPEZ-TORRES, María del Rosario. PhD.
Universidad Politécnica de Tulancingo, México

LOERA-CORRAL, Octavio. PhD.
Universidad Autónoma Metropolitana, México

Apéndice B . Consejo Editor ECORFAN

Berenjeii –Bidisha. PhD.
Amity University, India

Peralta Ferriz- Cecilia. PhD.
Washington University, E.U.A

Yan Tsai- Jeng. PhD.
Tamkang University, Taiwan

Miranda Torrado- Fernando. PhD.
Universidad de Santiago de Compostela, España

Palacio- Juan. PhD.
University of St. Gallen, Suiza

David Feldman- German. PhD.
Johann Wolfgang Goethe Universität, Alemania

Guzmán Sala- Andrés. PhD.
Université de Perpignan, Francia

Vargas Hernández- José. PhD.
Keele University, Inglaterra

Aziz-Poswal , Bilal. PhD.
University of the Punjab, Pakistan

Hira- Anil , PhD.
Simon Fraser University, Canada

Villasante – Sebastian, PhD.
Royal Swedish Academy of Sciences, Suecia

Navarro Frómeta -Enrique, PhD.
Instituto Azerbaidzhan de Petróleo y Química Azizbekov, Rusia

Beltrán Morales -Luis Felipe, PhD.
Universidad de Concepción, Chile

Araujo Burgos -Tania, PhD.
Universita Degli Studi Di Napoli Federico II, Italia

Pires Ferreira Maranhão- José , PhD.
Federal University of Maranhão, Brasil

Raúl Chaparro- Germán , PhD.
Universidad Central, Colombia

Gandica de Roa- Elizabeth, PhD.
Universidad Católica del Uruguay, Montevideo

Quintanilla Cóndor- Cerapio, PhD.
Universidad Nacional de Huancavelica, Peru

García Espinosa- Cecilia, PhD.
Universidad Península de Santa Elena, Ecuador

Alvarez Echeverría -Francisco, PhD.
University José Matías Delgado, El Salvador.

Guzmán Hurtado- Juan, PhD.
Universidad Real y Pontifica de San Francisco Xavier, Bolivia

Tutor Sánchez -Joaquín PhD.
Universidad de la Habana, Cuba.

Núñez Selles- Alberto, PhD.
Universidad Evangelica Nacional, Republica Dominicana

Escobedo Bonilla- Cesar Marcial, PhD.
Universidad de Gante, Belgica

Armado Matute- Arnaldo José, PhD.
Universidad de Carabobo, Venezuela

