

ISSN 2444-4928

Volumen I, Número 1 — Julio — Septiembre - 2015

# Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales

**ECORFAN®**

## Bases de datos



Google Scholar.

## **ECORFAN-Spain**

### **Directorio**

#### **Principal**

RAMOS ESCAMILLA- María, PhD.

#### **Director Regional**

MIRANDA GARCÍA- Marta, PhD.

#### **Director de la Revista**

ESPINOZA GÓMEZ- Éric, MsC

#### **Relaciones Institucionales**

IGLESIAS SUAREZ- Fernando, BsC

Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, Volumen 1, Número 1, de Julio a Septiembre - 2015, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Spain. . Calle Matacerquillas 38, CP: 28411. Moralarzal -Madrid. WEB: [www.ecorfan.org/spain](http://www.ecorfan.org/spain), [revista@ecorfan.org](mailto:revista@ecorfan.org). Editora en Jefe: Ramos Escamilla- María, Co-Editor: Miranda García- Marta, PhD. ISSN-2444-4936. Responsables de la última actualización de este número de la Unidad de Informática ECORFAN. Escamilla Bouchán- Imelda, Luna Soto-Vladimir, actualizado al 30 de Septiembre 2015.

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

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Centro Español de Ciencia y Tecnología.

## **Consejo Editorial**

ALIAGA LORDEMANN, PhD.  
*Universidad de Zaragoza, España*

CHAVEZ BECKER Carlos, PhD.  
*Universidad Autónoma Metropolitana,  
México*

GARCIA DE SOTERO Dora PhD.  
*Universidad de Sao Paulo, Brasil*

SANTILLANO CAZARES Jesús, PhD.  
*Oklahoma State University, USA*

José- VARGAS HERNÁNDEZ, PhD.  
*(Keele University), England*

CASTRO ESPINOZA Jobani, MsC.  
*Universidad del Valle, Colombia*

MARTINEZ MADRID Miguel, PhD.  
*University of Cambridge, Inglaterra.*

MENDEZ MEDINA Ruben, PhD.  
*University of Bristol, Inglaterra.*

ESCAMILLA GARCIA Erandi, PhD.  
*University of Burgundy, Francia*

FERNADEZ PALACIN Fernando, PhD.  
*Universidad de Cadiz, España*

CARVAJAL DE LA TORRE Georgina,  
PhD.  
*Université des Sciences de Lille 1,  
Francia*

## **Consejo Arbitral**

CORTES SANCHEZ Alejandro, PhD  
*Secretaría de Salud, México*

DE LEON FLORES Aned, PhD  
*Universidad de Sonora, México*

ARMANDO MATUTE Arnaldo, PhD  
*Universidad de Carabobo, Venezuela*

LUNA PALOMERA, Carlos, BsC  
*Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México*

SOLORZANO MATA Carlos, PhD  
*Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, México*

MARQUEZ RIQUEL María, MsC  
*Universidad Nacional Experimental Politécnica de la Fuerza Armada Bolivariana,  
Venezuela*

ALEMON MEDINA Francisco, PhD  
*Instituto Nacional de Pediatría, México*

VALENZUELA Miguel, PhD  
*ESIQIE-IPN, México*

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

RUIZ AGUILAR Graciela, PhD  
*Universidad de Guanajuato, México*

RANGEL VILLALOBOS Hector, PhD  
*Universidad de Guadalajara, México*

SOTERO SOLIS Victor, PhD  
*Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Perú*

## Presentación

ECORFAN, es una revista de investigación que publica artículos en el área de: Ciencias Ambientales y Recursos Naturales

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

El artículo *Compuestos antimicrobianos de origen natural contra mohos de interés en los alimentos: Estado del arte* por CORTES-CORTES, Gerardo, CHOA-VELSCO, Carlos, NAVARRO-CRUZ, Addí y AVILA-SOSA, Raúl con adscripción en la Universidad Autónoma de Puebla, como siguiente artículo está *Efecto del clorhidrato de clenbuterol sobre el funcionamiento hepático en modelo conejo* por VALLADARES-CARRANZA, Benjamin, BAÑUELOS-VALENZUELA, Rómulo, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ECHAVARRIA-CHAIREZ, Francisco y MURO-REYES, Alberto con adscripción en la Autónoma del Estado de México Universidad Autónoma de Zacatecas, Universidad Autónoma Metropolitana, respectivamente, como siguiente artículo está *Evaluación de la concentración hepática de plomo en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Toluca, México* por VALLADARES-CARRANZA, Benjamín, ORTEGA-SANTANA, César, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, ROSILES-MARTÍNEZ, René y MAYA-SCHUSTER, Edgar con adscripción en la Universidad Autónoma del Estado de México, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Área de Toxicología. FMVZ-UNAM, Clínica Privada, Toluca, respectivamente, como siguiente artículo está *Establecimiento del cultivo in vitro de *Cyrtopodium macrobulbon* (orquidácea). Bases para su micropropagación* por CARRANZA-ALVAREZ, Candy, MALDONADO-MIRANDA, Juan, CARRILLO-INUNGARAY, María y HERNANDEZ-MORALES, Alejandro con adscripción en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, como siguiente artículo está *Catálogo conductual del tepezcuintle *Cuniculus paca* (Rodentia:Cuniculidae) en cautiverio y su relación con el ciclo estral* por KOYOC-CRUZ, Manuel, MONTES-PEREZ, Ruben y CENTURION-CASTRO, Fernando con adscripción en la Universidad Autónoma de Yucatán, como siguiente artículo está *Busqueda de Nematodos entomopatógenos (*Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*) en cultivos agrícolas* por HUESO-Eva, FALLAD-Jalil, MANCILLA-Oscar y SEPULVEDA-José con adscripción en la Universidad de Guadalajara, como siguiente artículo está *Aprendizaje y talentos de los administradores de granjas avícolas para la innovación* por QUEZADA-MORENO, Maribel, NERI-VEGA, Jovita, PEREZ-BRAVO, Julia y OYOA-GARFIAS, Jessica

## Contenido

Artículo	Página
<b>Compuestos antimicrobianos de origen natural contra mohos de interés en los alimentos: Estado del arte</b> <i>CORTES-CORTES, Gerardo, OCHOA-VELSCO, Carlos, NAVARRO-CRUZ, Addí y AVILA-SOSA, Raúl</i>	1-15
<b>Efecto del clorhidrato de clenbuterol sobre el funcionamiento hepático en modelo conejo</b> <i>VALLADARES-CARRANZA, Benjamín, BAÑUELOS-VALENZUELA, Rómulo, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ECHAVARRIA-CHAIRES, Francisco y MURO-REYES, Alberto</i>	16-23
<b>Evaluación de la concentración hepática de plomo en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Toluca, México</b> <i>VALLADARES-CARRANZA, Benjamín, ORTEGA-SANTANA, César, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, ROSILES-MARTÍNEZ, René y MAYA-SCHUSTER, Edgar</i>	24-28
<b>Establecimiento del cultivo <i>in vitro</i> de <i>Cyrtopodium macrobulbon</i> (orquidácea). Bases para su micropropagación</b> <i>CARRANZA-ALVAREZ, Candy, MALDONADO-MIRANDA, Juan, CARRILLO-INUNGARAY, María y HERNANDEZ-MORALES, Alejandro</i>	29-42
<b>Catálogo conductual del tepezcuintle <i>Cuniculus paca</i> (Rodentia:Cuniculidae) en cautiverio y su relación con el ciclo estral</b> <i>KOYOC-CRUZ, Manuel, MONTES-PEREZ, Ruben y CENTURION-CASTRO, Fernando</i>	43-67
<b>Búsqueda de Nematodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae) en cultivos agrícolas</b> <i>HUESO-Eva, FALLAD-Jalil, MANCILLA-Oscar y SEPULVEDA-José</i>	68-74
<b>Aprendizaje y talentos de los administradores de granjas avícolas para la innovación</b> <i>QUEZADA-MORENO, Maribel, NERI-VEGA, Jovita, PEREZ-BRAVO, Julia y OYOGARFIAS, Jessica</i>	75-89
<i>Instrucciones para Autores</i>	
<i>Formato de Originalidad</i>	
<i>Formato de Autorización</i>	

## Compuestos antimicrobianos de origen natural contra mohos de interés en los alimentos: Estado del arte

CORTES-CORTES, Gerardo†\*, OCHOA-VELSCO, Carlos, NAVARRO-CRUZ, Addí y AVILA-SOSA, Raúl

*Departamento de Bioquímica-Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y Av. San Claudio, Ciudad Universitaria, 72420 Puebla, Pue., Mexico.*

Recibido Enero 9, 2015; Aceptado Junio 22, 2015

### Resumen

Las plantas como parte de su metabolismo generan una gran cantidad de compuestos que pueden ser obtenidos a través de extractos o aceites esenciales. A lo largo de la historia del hombre, algunas plantas se han utilizado con fines medicinales debido a sus propiedades terapéuticas, además la presencia de sustancias como alcaloides, derivados oxigenados y compuestos derivados de terpenos que han demostrado tener acción antimicrobiana. En ese sentido, los compuestos extraídos de plantas pueden ser considerados como alternativas para la conservación de alimentos. El objetivo de esta revisión es analizar una selección de reportes que documentan el estado del arte en esta área, la revisión se realizó a partir de 2008 hasta mediados de 2014. La investigación se enfocó en estudios de actividad antimicrobiana de extractos y aceites esenciales de más de cincuenta especies de plantas ampliamente distribuidas alrededor del mundo, frente a mohos de interés en la industria alimentaria.

**Conservación de alimentos, antimicrobianos de origen natural, mohos.**

### Abstract

Plants and herbs as part of their metabolism generate a large amount of compounds that can be obtained as extracts or essential oils. Throughout human history, some plants have been used for medicinal purposes because of its therapeutic properties, besides the presence of substances such as alkaloids, oxygenated derivatives and terpenes that have antimicrobial action. Compounds extracted from plants can be considered as an alternative to food preservation.

The aim of this review was to analyze a selection of reports documenting the state of the art in this area. The review was conducted from 2008 to mid of 2014, and focuses in studies of extracts and essential oils with antimicrobial activity of near fifty species of plants widely distributed around the world, against molds of interest in food industry.

**Food preservation, natural antimicrobials, molds.**

**Citación:** CORTES-CORTES, Gerardo, OCHOA-VELSCO, Carlos, NAVARRO-CRUZ, Addí y AVILA-SOSA, Raúl. Compuestos antimicrobianos de origen natural contra mohos de interés en los alimentos: Estado del arte. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales 2015, 1-1: 1-15

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: dorarger1020@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.



## Introducción

La actividad microbiana es un modo primario de deterioro en muchos alimentos y es en la mayoría de las veces, responsable de la pérdida en calidad y seguridad de los mismos (Mayachiew, Devahastin, Mackey y Niranján, 2010; Akthar, Degaga y Azam, 2014). La preocupación por los microorganismos patógenos y deterioradores se ha incrementado debido al desarrollo de brotes y enfermedades transmitidas por los alimentos (Al-Zoreky, 2009). Bacterias Gram positivas, Gram negativas y mohos son los principales microorganismos responsables de enfermedades e intoxicaciones causadas por el consumo de alimentos contaminados, generando serias repercusiones económicas tanto en la industria alimentaria como en el sector salud (Bajpai, Rahman y Kang, 2008; Al-Zoreky, 2009; Rahman y Kang, 2009; Sago et al., 2009; Cui, Gabriel y Nakano, 2010; Midelet-Bourdin, Copin, Leleu y Malle, 2010; Yossa, Patel, Miller y Lo, 2010).

Los conservadores químicos o sintéticos aplicados a alimentos han generado que los microorganismos tengan cierta resistencia o bien se han encontrado diferentes enfermedades relacionadas a su uso irracional en alimentos (Inagaki et al., 2008; Lou et al., 2010; Palaniappan y Holley, 2010; Abubacker y Ramanathan, 2012). En ese sentido, los extractos de hierbas y especias han sido usado desde la antigüedad para diferentes propósitos (Weerakkody, Caffin, Turner y Dykes, 2010), tales como evitar el crecimiento microbiano en alimentos o para tratar diferentes padecimientos generados por los microorganismos.

En los últimos años los investigadores han enfocado gran parte de su esfuerzo en el desarrollo de nuevas alternativas para la conservación de alimentos; siendo los aceites esenciales y extractos de hierbas y plantas de gran interés debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios que poseen que les confieren un fuente de antimicrobianos naturales. (Bajpai et al., 2008; Mayachiew y Devahastin, 2008; Zhang, Zhang, Ni, Yang y Wang, 2011).

Los hongos son microorganismos que tienen gran capacidad de adaptación y síntesis bioquímica, así como un potencial enzimático importante en la industria alimentaria (Favilla et al., 2008). Sin embargo, algunas modificaciones producidas por estos microorganismos en los alimentos se pueden traducir en alteraciones de las características físicas, nutricionales y sensoriales que derivan en pérdidas económicas (Kim, Cadwallader, Kido y Watanabe, 2013). Aunque existen investigaciones y revisiones bibliográficas acerca del efecto de sustancias naturales sobre microorganismos patógenos, no existen trabajos acerca del papel de éstas sobre hongos deterioradores en alimentos, por lo que el objetivo de esta revisión es evaluar el estado del arte de este tipo de compuestos.

## Compuestos extraídos de plantas con actividad anti fúngica

Los aceites esenciales obtenidos de plantas son un complejo de compuestos bioactivos tales como monoterpenos, sesquiterpenos y derivados oxigenados (Arif et al., 2009). De manera general, la composición de los aceites es un balance de varias sustancias, aunque en algunas especies un constituyente puede predominar en cantidad y actividad sobre los otros.

A continuación se describen los hallazgos de una selección de reportes sobre plantas y compuestos obtenidos a partir de ellas, que han demostrado de manera *in vitro* tener actividad inhibitoria hacia hongos deterioradores de alimentos y cuyo resumen se puede observar en la Tabla 1.

Una sería problemática de los hongos en los alimentos es la producción de toxinas (Rasooli et al., 2008; Nogueira et al., 2010). Bluma, Amaiden y Etcheverry (2008), evaluaron el efecto de 96 extractos provenientes de 41 especies vegetales nativas de Argentina frente al crecimiento de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* aislados de cultivos de maíz. Encontraron que los extractos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), tomillo de montaña (*Hedeoma multiflora*) y poleo (*Mentha piperita*) tuvieron mejor efecto antifúngico y redujeron la presencia de aflatoxina B1. Plantas comunes como *Fragaria virginiana* Duchesne, *Epilobium angustifolium* L., *Potentilla simplex* Michx., *Alnus viridis* DC., *Betula alleghaniensis* Britt., *Solidago gigantea* Ait., *Hyptis suaveolens* (L.), *Chamaemelum nobilis* L., *Crataegus monogyna* Jacq. y *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., también han demostrado buena actividad inhibitoria frente a hongos productores de toxinas (Webster, Taschereau, Belland, Sand y Rennie, 2008; Sharma y Tripathi, 2008; Yoo, Lee, Lee, Moon y Lee, 2008).

Por su parte Nguefack et al. (2009), evaluaron el efecto antifúngico de los extractos de *Ocimum gratissimum* L. frente a cepas de los hongos micotoxigénicos *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium expansum* y *P. Verrucosum* mostrando actividad inhibitoria. *Satureja hortensis* L. es otra planta que ha demostrado tener efecto inhibitorio frente a *A. flavus*, sugiriendo que su aceite esencial podría ser usado como parte de los fungicidas botánicos ecológicamente sostenibles (Dikbas, Kotan, Dadasoglu y Sahin, 2008; Razzaghi-Abyaneh et al., 2008). El mismo efecto se ha observado con la planta medicinal *Ageratum conyzoides*, cuyo extracto ocasiona cambios en la endomembrana de *A. flavus* (Nogueira et al., 2010). Prakash et al. (2010), argumentan que *Piper betle* L. también presenta inhibición del crecimiento en *Aspergillus* spp.

*A. conchigera* Griff. es una planta de la que se conocen alrededor de 50 compuestos con propiedades medicinales comprobadas; Ibrahim et al. (2009) reportan actividad antifúngica de sus componentes principales ( $\beta$ -bisaboleno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -sesquifellandreno, caviacol y  $\beta$ -elemeno) frente a *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* y *T. rubrum*.

La información respecto a la eficacia antimicrobiana de extractos de plantas sobre los hongos dematiáceos (hongos negros) es escasa. Mishra, Mishra, Kehri, Sharma y Pandey (2009), realizaron la caracterización fitoquímica y evaluaron el efecto antimicrobiano de diferentes extractos de *Cinnamomum zeylanicum*, frente *Alternaria solani* y *Curvularia lunata*, observando efecto antifúngico en diferentes concentraciones, siendo el extracto acuoso el más eficaz. El mismo efecto se ha reportado frente a *Candida* spp. (Unlu, Ergene, Unlu, Zeytinoglu y Vural, 2010).

Singh et al. (2010), determinaron el perfil químico y actividad antifúngica de *Citrus sinensis* L. frente a *Aspergillus flavus* (NKD-116, cepa toxigénica), *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium oryzae* y *Trichoderma viride*, de forma individual y combinada. Encontraron que el DL-limoneno es el componente mayoritario esta planta y que a este pudiera deberse la gran actividad antifúngica. Tserennadmid et al. (2011), evaluaron la actividad de *Citrus lemon* junto con otros extractos de otras plantas (*Salvia sclarea*, *Juniperus communis*, y *Origanum majorana*) frente a las levaduras *Geotrichum candidum*, *Pichia anomala*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizosaccharomyces pombe*. La levadura más sensible fue *S. pombe*, mientras que *G. candidum* fue la más resistente a cada uno de los aceites. La combinación de savia con enebro tuvo efecto inhibitorio aditivo para *S. cerevisiae* y *G. candidum*. En cuanto a las combinaciones de medios, el jugo de manzana claro con limón además de resultar en un nuevo sabor, puede lograr ampliar su tiempo de almacenaje. También se ha reportado inhibición de *S. cerevisiae* con especies del género *Plectranthus* spp. (Mota et al., 2014). Por su parte, Salas, Céliz, Geronazzo, Daz y Resnik (2011), coinciden en que flavonoides obtenidos de diferentes especies del género *Citrus*, como la naringina, hesperidina o neohesperidina, tienen buen efecto inhibitorio sobre *A. parasiticus*, *A. flavus*, *Fusarium semitectum* y *Penicillium expansum*.

Se sabe que el cilantro (*Coriandrum sativum*) posee actividad antimicrobiana, pero poco se sabe sobre los componentes que participan; Matasyoh, Maiyo, Ngure y Chepkorir (2009), evaluaron la actividad inhibitoria en *C. albicans*, detectando 24 componentes químicos en el aceite, en su mayoría aldehídos y alcoholes (2E-decenal, decanal, 2E-decen-1-ol y n-decanol). Encontraron buena actividad antifúngica. El perejil marino (*C. maritimum*) es una planta valorada por su sabor salado, picante, alto contenido de vitamina C y sales minerales. Glamoclija et al. (2009), evaluaron la actividad inhibitoria de esta planta frente a *Mycogone pernicioso*, agente patógeno en setas, mostrando buena actividad antifúngica.

Tavares et al. (2010), evaluaron la actividad antifúngica de *Distichoselinum tenuifolium*. Describieron que el mirceno es el componente principal, teniendo actividad inhibitoria hacia *Cryptococcus neoformans* y dermatofitos (*Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum canis*). Tyagi y Malik (2011a, 2011b), evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y menta (*Mentha piperita*) frente a *P. digitatum*, *A. flavus*, *A. niger*, *Mucor* spp. y *F. oxysporum*, concluyendo que los principales componentes de ambos extractos (1,8-cineol, limoneno, p-cimeno,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -pineno y  $\alpha$ -terpineol) son los que otorgan las propiedades antiúngicas.

El género *Ficus* está bien documentado de poseer propiedades antioxidantes y antimicrobianas; sin embargo, poco se sabe sobre la actividad biológica de la especie *F. ovata* Vahl. Kuete et al. (2009), evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de esta planta frente a *Candida albicans* y *Microsporum audouinii*, documentando el notable efecto inhibitorio, además de proponer a esta planta como fuente de compuestos viables para el desarrollo de nuevos antimicrobianos.

Por otro lado Ahmadi, Sadeghi, Modarresi, Abiri y Mikaeli (2010), analizaron la composición química y la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de *Hymenocrater longiflorus* Benth. Identificaron 87 compuestos volátiles que fueron principalmente hidrocarburos monoterpenos, sesquiterpenos, monoterpenos oxigenados y sesquiterpenos oxigenados. Los resultados demostraron que el aceite y la subfracción polar son más efectivos contra *A. niger* y *Candida*. Dzamic et al. (2009), investigaron la actividad antifúngica del anís de estrella (*Illicium verum*) y el clavo de olor (*Eugenia caryophyllata* Thun.), encontrando mejores resultados con *E. caryophyllata* Thun. aunque hongos como *Trichoderma viride*, *Penicillium* spp. y algunas especies de *Aspergillus* fueron resistentes. Este trabajo confirmó al anetol como el compuesto activo responsable de tal actividad en el anís y al eugenol en el clavo.

El nogal (*Juglans regia* L.) es un cultivo valioso y popular en gran parte del mundo. Oliveira et al. (2008), estudiaron los extractos de cinco variantes de nogal demostrando que el contenido de fenoles totales tiene actividad antimicrobiana frente *C. albicans* y *Cryptococcus neoformans*. Los resultados obtenidos indican que las cáscaras de nuez verde pueden llegar a ser importantes en la obtención de una fuente notable de compuestos bioactivos con potencial antimicrobiano.

Khoury et al. (2014), evaluaron la composición química del aceite de *Juniperus excelsa* M.BIEB y su actividad antifúngica. Se encontraron 28 constituyentes siendo los hidrocarburos monoterpenos y los sesquiterpenos ( $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -cedrol y d-car-3-eno) los mayoritarios. Los 3 compuestos identificados fueron evaluados de manera individual y en combinación, siendo el d-car-3-eno el que presentó mejor actividad inhibitoria frente a *Trichophyton rubrum*.

Por su parte Tirillini et al. (2009), evaluaron la actividad inhibitoria de *Laserpitium garganicum* subsp. *garganicum* (Ten.) Bertol. frente a *Trichoderma viride*, *P. pinophilum*, *P. chrisogenum*, *A. niger*, *A. terreus* y *Chaetosphaeridium globosum*. Identificaron a 56 compuestos, los principales fueron mirceno,  $\beta$ -felandreno, sabineno y  $\gamma$ -muroleno. El extracto mostró buena actividad antifúngica hacia los microorganismos evaluados, resaltando la alta sensibilidad de *A. niger*.

El aceite esencial de lavanda (*Lavandula bipinnata*) es un aditivo para muchos medicamentos de venta libre, productos cosméticos y aromaterapia. Hanamanthagouda et al. (2010), evaluaron la composición química y la actividad antimicrobiana de *L. bipinnata* encontrando al transcarveol, pulegona, alcanfor y mentol como los componentes principales, así como amplio espectro antimicrobiano frente a *A. niger*, *P. notatum* y *C. albicans*.

Otra planta muy utilizada es la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.), Tolouee et al. (2010), evaluaron el efecto del  $\alpha$ -bisabolol, trans-trans-farnesol, cis- $\beta$ -farneseno y guayazuleno, entre otros, frente a la ultraestructura de *A. niger*, observando cambios en la permeabilidad celular del hongo (ruptura de la membrana citoplasmática y organelos intracelulares, desprendimiento de la membrana plasmática y desorganización completa de compartimentos de las hifas).

En un trabajo relacionado Roby, Sarhan, Selim y Khalel (2013), demostraron poca actividad antifúngica de *M. chamomilla* L. y *Foeniculum vulgare* L. frente a *A. flavus* y *C. albicans*.

El aceite esencial de flores de *Melodorum fruticosum* L. se utiliza comúnmente en aromaterapia y medicina tradicional. Pripdeevech y Chukeatirote (2010), analizaron su composición química y propiedades antifúngicas, identificando a 88 compuestos volátiles, siendo la 1-fenilbutanona, linalol, alcohol bencílico,  $\alpha$ -cadinol, globulol y el viridiflorol los principales y que presentan actividad inhibitoria frente a *Collectotrichum* spp., *Trichoderma reesei* y *Lasiodiplodia theobromae*.

Los estudios *in vitro* realizados por du Plooy, Regnier y Combrinck (2009), indicaron que los aceites esenciales de hierbabuena (*Mentha spicata*) y algunos de sus componentes como los terpenoides, fueron activos contra *P. digitatum*. En una serie de ensayos subsiguientes, aceites esenciales de hierbabuena y *Lippia scaberrima*, así como (d)-limoneno y R-(-)-carvona, fueron incorporados a una amplia variedad de recubrimientos comerciales cítricos. Sin embargo, se deben tener en cuenta otros aspectos, como los organolépticos, ya que ciertas cubiertas pudieran modificar el sabor de los alimentos, siendo una desventaja para el consumidor (Gutiérrez, Escudero, Batlle y Nerín, 2009; Espina et al., 2011). Petretto et al. (2014), estudiaron la composición química y la actividad antimicrobiana de *Mentha suaveolens* ssp. *Insularis*. Identificaron a 34 compuestos oxigenados monoterpenos, entre ellos la pulegona, determinaron que el extracto de esta planta inhibe a *Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera apiculata*, *Candida zemplinina*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Tetrapisispora phaffii*.

Entre las más de 150 especies del género *Ocimum*, el aceite esencial de *O. basilicum* L. es el más utilizado comercialmente. Hussain, Anwar, Hussain Sherazi y Przybylski (2008), determinaron que el componente principal de este aceite es el linalol, seguido por epi- $\alpha$ -cadinol y  $\gamma$ -cadineno, con actividad antifúngica frente a *A. niger*, *Mucor mucedo*, *F. solani*, *Botryodiplodia theobromae* y *R. solani*. Este extracto ha sido evaluado en alimentos frescos listos para el consumo como salchichas, mostrando buena actividad inhibitoria sobre todo para hongos (Saggiorato et al., 2009).

El género *Origanum* posee especies con actividad antifúngica (Korukluoglu et al., 2008). Kordali et al. (2008), llevaron a cabo un estudio para determinar la actividad antifúngica *O. acutidens* aislado de Turquía. Los ensayos antifúngicos demostraron que el aceite de *O. acutidens* junto con el carvacrol y timol inhiben completamente el crecimiento micelial de 17 hongos fitopatógenos y que sus efectos son superiores al fungicida agrícola comercial benomil. El mismo efecto ha sido reportado con *O. onites* L. y *O. glandulosum* Desf. (Bendahou et al., 2008; Dzamic et al., 2008). Avila-Sosa et al. (2010), evaluaron la actividad inhibitoria del orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) adicionado a películas comestibles de amaranto, quitosano y almidón a diferentes concentraciones frente a *A. niger* y *Penicillium* spp. La mejor actividad antifúngica de las películas comestibles se observó con el almidón, seguido por el quitosano y el amaranto. En un trabajo posterior, Avila-Sosa et al. (2011a), también reportan buena actividad antimicrobiana de *Lippia berlandieri* var. *Scanner*, *Cinnamomum verum* y *Cymbopogon citratus*.

Este mismo grupo de trabajo evaluó el efecto inhibitorio de diferentes plantas mexicanas (*Baccharis salicifolia*, *Buddleia americana*, *Byrsonima cordata*, *Lantana cámara*, *Lippia berlandieri* var. Scanner y *Tagetes lucida*) frente al hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, asilado de una papaya infectada. Demostraron que los extractos con etanol de *B. salicifolia* y *L. berlandieri* var. Scanner y poseen efecto inhibitorio de la fase reproductiva de *C. gloeosporioides* (Avila-Sosa et al., 2011b). Castilho, Savluchinske-Feio, Weinhold y Gouveia (2012), concluyen que el extracto de *O. vulgare* subsp. *virens* es efectivo frente a levaduras. Lo mismo se ha visto en bacterias (de Souza, de Barros, de Oliveira y da Conceição, 2010).

Hajji et al. (2010), evaluaron la composición química y la actividad de *Periploca laevigata*. Identificaron 43 componentes en el aceite esencial (el principal, benzaldehído), mostrando actividad frente a *A. niger*, *A. clavatus*, *F. solani* y *F. oxysporum*. Xia, Wu, Shi, Yang y Zhang (2011), evaluaron el efecto antimicrobiano de los compuestos fenólicos de *Prunus mume* extraídos de las semillas de esta planta. Identificaron 3 isómeros del ácido clorogénico denominados ácido 3-O-cafeoilquínico, ácido 5-O-cafeoilquínico y ácido 4-O-cafeoilquínico, con actividad inhibitoria frente a *C. albicans*, *S. cerevisiae* y *A. niger*.

Kivrak et al. (2009), evaluaron la actividad antimicrobiana de *Salvia potentillifolia*. Detectaron 123 componentes en el aceite esencial, detectando actividad inhibitoria frente a *C. albicans* y *C. tropicalis*.

David, Elumalai, Sivakumar, Therasa y Thirumalai (2010), investigaron la actividad antifúngica de diversos extractos de semillas de *Solanum surattense*. Los extractos de semillas mostraron la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, proteínas, hidratos de carbono y taninos. Se evidenció una elevada actividad antifúngica frente a *C. albicans*, *C. tropicalis*, *A. niger*, *A. fumigatus* y *A. flavus* con los extractos etanólicos. *Stenoloma chusanum* (L.) se usa en la medicina china para mitigar algunas enfermedades. Se ha visto que extractos de esta planta presentan actividad antibacteriana y antifúngica y se conocen dos compuestos químicos que pudieran ser los responsables de tal efecto, la orientina y la vitexina. Ren, Xia, Li, Wu y Zhang (2009), además de describir los dos compuestos anteriormente mencionados, caracterizaron la estructura química y el efecto antifúngico de otros dos compuestos fenólicos, el ácido vanílico y el ácido gentísico. Los compuestos mostraron efecto inhibitorio frente a *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis*, *Epidermophyton floccosum*, y *A. niger*. Sin embargo, cuando estos compuestos forman glicósidos el efecto es menor.

Se ha visto que diferentes especies de tomillo como *Thymus vulgaris*, *T. zygis* subsp. *gracilis* y *T. hyemalis* Lange, presentan individualmente buena actividad antimicrobiana. Los componentes mayoritarios en las especies de tomillo son carvacrol, timol, p-cimeno y  $\gamma$ -terpineno, a los que se les atribuye las propiedades antimicrobianas de esta planta (Rota, Herrera, Martínez, Sotomayor y Jordán, 2008). Jia et al. (2010), caracterizaron la composición química, evaluaron la actividad antioxidante así como antimicrobiana de las especies *T. marschallianus* Will. y *T. proximus* Serg. Los componentes principales en las dos especies fueron timol, p-cimeno y  $\gamma$ -terpineno.

Las dos especies de tomillo mostraron buena actividad antimicrobiana frente a *Rhizopus* spp. y *Penicillium* spp. También se ha reportado efecto hacia algunas bacterias (El Abed et al., 2014).

Las uvas (*Vitis vinifera* L.) contienen altos niveles de conservadores naturales con actividad antimicrobiana. Wei, Wolf-Hall y Hall (2009), evaluaron la capacidad de inhibición del extracto etanólico de *V. vinifera* L. y de un jugo comercial de uvas frente a *A. flavus* y *P. chrysogenum* en un modelo líquido de pan. Observaron inhibición en el crecimiento de estos hongos contaminantes incluso a bajas concentraciones del extracto, atribuyendo este efecto al alto contenido de ácido propiónico.

En la medicina tradicional, los rizomas de jengibre (*Zingiber officinale*) son consumidos para aliviar las flatulencias, promover el apetito o lavar las heridas. Singh et al. (2008), evaluaron el efecto antimicrobiano de esta planta frente a diferentes hongos, encontrando un efecto inhibitorio notable contra *F. moniliforme*, patógeno asociado al maíz y arroz.

### **Mecanismos de acción**

La acción de los antimicrobianos presentes en los extractos ocasiona el debilitamiento de la pared celular y un incremento en la permeabilidad de la membrana (Soylu, Kurt y Soyly, 2010; Tolouee et al., 2010). Estos cambios de permeabilidad se asocian a la pérdida de iones y la reducción en el potencial de membrana, que colapsan la bomba de protones y los niveles de ATP (Tiwari et al., 2009; Wong et al., 2010).

Los aceites esenciales pasan a través de la pared celular y la membrana citoplasmática de los mohos, desorganizando los arreglos estructurales de diferentes polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos, dañando así las capas de lípidos y proteínas (Arif et al., 2009; Okoh, Sadimenko y Afolayan, 2010).

Los componentes de los aceites esenciales disminuyen el potencial de membrana, afectando los niveles de Ca<sup>2+</sup> y otros canales iónicos, reducen el pH y desestabilizan las bombas de protones y los niveles de ATP. Los cambios en la fluidez de la membrana ocasiona la fuga de radicales, citocromo C, iones de calcio y proteínas. De esta manera la permeabilización de la membrana mitocondrial conduce a la muerte celular por apoptosis y/o necrosis (Tajkarimi, Ibrahim y Cliver, 2010; Chua, 2013).

### **Conclusiones**

Es innegable el potencial biológico de los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales. Sin embargo, queda por abordar una parte fundamental para poder aplicarlos como conservadores de alimentos y es que en todos los reportes aquí abordados, la experimentación es *in vitro*, por lo cual no pueden conocerse efectos secundarios, interacciones, niveles de gradación o incluso grados de toxicidad si estos fueran adicionados a algún alimento.

Si bien los aceites esenciales pudieran ser utilizados como antimicrobianos, debe considerarse también el impacto en las características sensoriales que estos pudieran ejercer sobre el alimento, ya que podrían alterar el sabor y olor generando el rechazo por los consumidores.

Por otro lado, muchos autores coinciden en que saber si el extracto de una planta tiene efecto antimicrobiano es sólo el primer paso, ya que también se debe conocer al compuesto responsable de tal acción o si bien es un efecto sinérgico entre dos o más sustancias.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Vicerrectoría de Docencia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo para la realización de este trabajo.

Planta	Compuesto químico	Hongo inhibido	Referencia
<i>Samolus bartramia</i> L.	Carvacrol, timol	<i>Aspergillus</i> spp.	Dikhan, Kotan, Dadaoglu y Sahin, 2008; Fazaghi-Abyanah et al., 2008.
<i>Hibiscus rusculeus</i> (L.) Poit., <i>Phlogothrypsidina</i> Duchassa, <i>Epilobium angustifolium</i> L., <i>Potentilla simplex</i> Michx., <i>Achillea virens</i> DC., <i>Bemisia algibarbata</i> Benth., <i>Solidago gigantea</i> Ait., <i>Climacium rubicidum</i> L., <i>Crotalaria monogyna</i> Jacq.	1,8-cineol (44.4%), β-pineno	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>F. oxysporum</i>	Sharma & Tzipethi, 2008; Webster, Tancham, Belland, Sand y Ramia, 2008; Yoo Yoo, Lee, Lee, Moon y Lee, 2008
<i>Vitis vinifera</i> L.	Acido propionico	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>	Wei, WolfHall y Hall, 2009
<i>Origanum heracleoticum</i> L., <i>Illitium verum</i> , <i>Eugenia caryophyllata</i>	Carvacrol, timol, β-bisandreno, trans-anetol, estragal, β-cariofileno	<i>Cladosporium fulvum</i> , <i>C. cladosporioides</i> , <i>Phanerochaete chlamydosporia</i> , <i>Phoma nagasakiensis</i> , <i>Trichophyton meneghinii</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Fusarium sporotrichoides</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.	Dzanic et al., 2008; Dzanic et al., 2009
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Linalol, epi-o-cadinol, o-beganoateno	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Mucor mucedo</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>Botryodiplodia theobromae</i> , <i>Rhizopus solani</i>	Hussain, Amran, Hussain Sheen y Przybylski, 2008
<i>Origanum onites</i> L.	Alcoholes, ésteres, terpenos	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>Fusarium semitectum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Mucor racemosus</i> , <i>Penicillium roqueforti</i>	Koraloglu et al., 2008
<i>Zingiber officinale</i> , <i>Citrus maxima</i> Benth., <i>Citrus</i>	Eugenol, Zingerona, limoneno,	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Cladosporium</i>	Singh et al., 2008; Singh et al., 2010
<i>Zinnia</i> (L.) Orsbach	α-pineno, β-pineno	<i>Rhizopus</i> , <i>Camarosporium</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>Heliobolusporium oryzae</i> , <i>Trichoderma viride</i>	
<i>Cymbopogon citratus</i> , <i>Ocimum gratissimum</i> , <i>Thymus vulgaris</i>	Fenoles	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium expansum</i> y <i>F. verticillium</i>	Nguetack et al., 2009
<i>Cinnamomum Zeylanicum</i>	Fenoles, flavonoides, terpenoides, taninos, acetoloides, saponinas	<i>Alternaria solani</i> , <i>Camarosporium</i>	Mishra, Mishra, Khatu, Sharma y Prasad, 2009
<i>Stenoloma chalcidum</i> (L.)	Acido vanílico, ácido geránico	<i>Cyrtosporium seeformans</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>F. monoglyphes</i> , <i>Monoglyphum casu</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Ran et al., 2009
<i>Laserpitium galbanum</i> subsp. <i>garganicum</i> (Ten.) Bertol.	miceno, β-bisandreno, sabineno	<i>Trichoderma viride</i> , <i>Penicillium pinophilum</i> , <i>F. chrysogenum</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Chaetophthalium globosum</i>	Tielliti et al., 2009
<i>Lippia berlandieri</i> Schauer, <i>Baccharis calycifolia</i> , <i>Rhodia americana</i> , <i>Byrsonima cordata</i> , <i>Luzania ciliata</i> , <i>Lippia berlandieri</i> var. <i>Scamoni</i> , <i>Tapeze lucida</i> , <i>Cinnamomum verum</i> , <i>Cymbopogon citratus</i>	Carvacrol, timol, p-cimeno, 1, 8-cineol, γ-terpineno, eugenol, cumarilalido, acetovanilol, geraniol	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Penicillium digitatum</i>	Avila-sosa et al., 2010; Avila-sosa et al., 2011a; Avila-sosa et al., 2011b
<i>Agaveum coropido</i>	preoceno I, preoceno II, cumatona, trans-cariofileno	<i>Aspergillus flavus</i>	Nogaina et al., 2010
<i>Piper betle</i> L.	Eugenol, acetilengol	<i>Aspergillus</i> spp.	Prabhu et al., 2010
<i>Solanum surratense</i>	Alcaloides, flavonoides	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i>	David, Elhamali, Sivakumar, Thesany y Thirumalai, 2010
<i>Periploca lanigera</i>	Benzaldehido, carvacrol, salicilaldehido, 1, 8-cineol	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. cinereus</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>F. oxysporum</i>	Haji et al., 2010
<i>Lamandula nigricans</i>	Trans-cervol, pulgona, anisofol, mentol	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium notatum</i>	Hanamaathagouda et al., 2010
<i>Mentha spicata</i> , <i>Lippia czechowiana</i> , <i>Melolonthum</i>	Limoneno, 1, 8-cineol,	<i>Penicillium digitatum</i> , <i>Colletotrichum</i>	du Plooy, Ragnay y Combrinck, 2009;
<i>Phytococcus</i> L.	fenilbutanona, linalol, o-cadinol	spp., <i>Trichoderma reesei</i>	Popdewech y Chakravorty, 2010
<i>Dactyloctenium aegyptium</i>	Mirceno	<i>Cyrtosporium seeformans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Trichophyton meneghinii</i> , <i>Monoglyphum casu</i>	Tarawa et al., 2010
<i>Prunus mume</i>	Acido 3-O-cafeoilquinico, ácido 4-O-cafeoilquinico, ácido 3-O-cabofilquinico	<i>Aspergillus niger</i>	Xia, Wu, Shi, Yang y Zhang, 2011
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>viridum</i>	Timol, carvacrol, metil carvacrol, p-cimeno	<i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Rhodotorula rubra</i>	Camillo, Seravichaino-Faino, Wiescholdy Osoyá, 2012
<i>Marrubium recutita</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> L.	Trans-anetol, estragal, fenchona, limoneno	<i>Aspergillus flavus</i>	Koby, Sahan, Seim y Khadi, 2013
<i>Antiparus eretica</i> M.BIBB	α-pineno, α-cedrol, β-3-cario	<i>Trichophyton rubrum</i>	Khoury et al., 2014
<i>Plectranthus korhata</i> , <i>P. neocilius</i> , <i>P. ornatus</i> , <i>Mentha suaveolens</i> spp. <i>incana</i>	α-pineno, 1-Octen-3-ol, β-pineno, β-cariofileno, 1, 8-cineol, pulgona, pipertona	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Mora et al., 2014; Peretto et al., 2014

**Tabla 1** Compuestos extraídos de plantas con actividad anti fúngica abordados en esta revisión

**Referencias**

Abubacker, M.N. & Ramanathan, R. (2012). Antibacterial activities of *Argemone mexicana* L. (*Papaveraceae*) leaf extract on pathogenic bacterial strains. *Drug Invention Today*, 4(6), 385-387.

Ahmadi, F., Sadeghi, S., Modarresi, M., Abiri, R., & Mikaeli, A. (2010). Chemical composition, *in vitro* antimicrobial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanolic extract of *Hymenocrater longiflorus* Benth., of Iran. *Food and Chemical Toxicology* 48, 1137-1144.

Akthar, M. S., Degaga, B., & Azam, T. (2014). Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(1), 1-7.

Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134, 244-248.

Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, G. S., & Dabur, R. (2009). Natural products-antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Products research*, 11(7), 621-638.

Avila-Sosa, R., Hernández-Zamoran, E., López-Mendoza, I., Palou, E., Jiménez Munguía, M. T., Nevárez-Moorillón, G. V., & López-Malo, A. (2010). Fungal inactivation by Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Journal of Food Science*, 75(3), 127-133.

Avila-Sosa, R., Gastélum-Reynoso, G., García-Juárez, M., de la Cruz Meneses-Sánchez, M., Navarro-Cruz, A. R., & Dávila-Márquez, R. M. (2011a). Evaluation of different Mexican plant extracts to control anthracnose. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 655-659.

Avila-Sosa, R., Palou, E., Jiménez Munguía, M. T., Nevárez-Moorillón, G. V., Navarro Cruz, A. R., & López-Malo, A. (2011b). Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 66-72.



- Bajpai, V. K., Rahman, A., & Kang, S. C. (2008). Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 117-122.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J.-M., Bernardini, A.-F., & Costa, J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106, 132-139.
- Bluma, R., Amaiden, M. R., & Etcheverry, M. (2008). Screening of Argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B1 accumulation by *Aspergillus* section *Flavi*. *International Journal of Food Microbiology*, 122, 114-125.
- Castilho, P. C., Savluchinske-Feio, S., Weinhold, T. S., & Gouveia, S. C. (2012). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. *Food Control*, 23, 552-558.
- Chua, L. S. (2013). A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 805-817.
- Cui, H., Gabriel, A. a., & Nakano, H. (2010). Antimicrobial efficacies of plant extracts and sodium nitrite against *Clostridium botulinum*. *Food Control*, 21, 1030-1036.
- David, E., Elumalai, E. K., Sivakumar, C., Therasa, S. V., & Thirumalai, T. (2010). Evaluation of antifungal activity and phytochemical screening of *Solanum surattense* seeds. *Journal of Pharmacy Research*, 3(4), 684-687.
- de Souza, E. L., de Barros, J. C., de Oliveira, C. E. V., & da Conceição, M. L. (2010). Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 308-311.
- Dikbas, N., Kotan, R., Dadasoglu, F., & Sahin, F. (2008). Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 179-182.
- du Plooy, W., Regnier, T., & Combrinck, S. (2009). Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. *Postharvest Biology and Technology*, 53, 117-122.
- Dzamic, A., Sokovic, M., Ristic, M. S., Grujic-Jovanovic, S., Vukojevic, J., & Marin, P. D. (2008). Chemical composition and antifungal activity of *Origanum heracleoticum* essential oil. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(5), 659-660.
- Dzamic, A., Sokovic, M., Ristic, M. S., Grijic-Jovanovic, S., Vukojevic, J., & Marin, P. D. (2009). Chemical composition and antifungal activity of *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(2), 259-261.
- El Abed, N., Kaabi, B., Smaali, M. I., Chabbouh, M., Habibi, K., Mejri, M., Ben Hadj Ahmed, S. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Thymus capitata* essential oil with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 1-11.

- Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., & Pagán, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, 22, 896-902.
- Favilla, M., Pascale, M., Ricelli, A., Evidente, A., Amalfitano, C., & Altomare, C. (2008). Inhibition of species of the *Aspergillus* section Nigri and ochratoxin a production in grapes by fusapyrone. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 2248-2253.
- Glamoclija, J., Sokovic, M., Grubisic, D., Vukojevic, J., Milinekovic, I., & Ristic, M. (2009). Antifungal activity of *Critimum maritimum* essential oil and its components against mushroom pathogen *Mycogone pernicioso*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(1), 96-97.
- Khoury, M., El Beyrouthy, M., Ouaini, N., Iriti, M., Eparvier, V., & Stien, D. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Juniperus excelsa* M.Bieb. growing wild in Lebanon. *Chemistry & Biodiversity*, 11, 825-830.
- Gutiérrez, L., Escudero, A., Batlle, R., & Nerín, C. (2009). Effect of mixed antimicrobial agents and flavors in active packaging films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8564-8571.
- Hajji, M., Masmoudi, O., Souissi, N., Triki, Y., Kammoun, S., & Nasri, M. (2010). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Periploca laevigata* root barks. *Food Chemistry*, 121, 724-731.
- Hanamanthagouda, M. S., Kakkalameli, S. B., Naik, P. M., Nagella, P., Seetharamareddy, H. R., & Murthy, H. N. (2010). Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 118, 836-839.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S. T., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108, 986-995.
- Ibrahim, H., Aziz, A. N., Syamsir, D. R., Ali, N. A. M., Mohtar, M., Ali, R. M., & Awang, K. (2009). Essential oils of *Alpinia conchigera* Griff. and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 113, 575-577.
- Inagaki, H., Yamaguchi, A., Kato, K., Kageyama, C., Iyozumi, H., & Oki, Y. (2008). Screening of weed extracts for antifungal properties against *Colletotrichum lagenarium*, the causal agent of anthracnose in cucumber. *Weed Biology and Management*, 8, 276-283.
- Jia, H. L., Ji, Q. L., Xing, S. L., Zhang, P. H., Zhu, G. L., & Wang, X. H. (2010). Chemical composition and antioxidant, antimicrobial activities of the essential oils of *Thymus marschallianus* Will. and *Thymus proximus* Serg. *Journal of food science*, 75(1), 59-65.
- Kim, H., Cadwallader, K. R., Kido, H., & Watanabe, Y. (2013). Effect of addition of commercial rosemary extracts on potent odorants in cooked beef. *Meat Science*, 94, 170-176.
- Kivrak, İ., Duru, M. E., Öztürk, M., Mercan, N., Harmandar, M., & Topçu, G. (2009). Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food Chemistry*, 116, 470-479.

- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99, 8788-8795.
- Korukluoglu, M., Gurbuz, O., Sahan, Y., Yigit, A., Kacar, O. Y. A., & Rouseff, R. (2008). Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum onites* L. essential oils and extracts. *Journal of Food Safety*, 29, 144-161.
- Kuete, V., Nana, F., Ngameni, B., Mbaveng, A. T., Keumedjio, F., & Ngadjui, B. T. (2009). Antimicrobial activity of the crude extract, fractions and compounds from stem bark of *Ficus ovata* (Moraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 556-561.
- Lou, Z., Wang, H., Lv, W., Ma, C., Wang, Z., & Chen, S. (2010). Assessment of antibacterial activity of fractions from burdock leaf against food-related bacteria. *Food Control*, 21, 1272-1278.
- Matasyoh, J. C., Maiyo, Z. C., Ngure, R. M., & Chepkorir, R. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. *Food Chemistry*, 113, 526-529.
- Mayachiew, P., & Devahastin, S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *LWT—Food Science and Technology*, 41, 1153-1159.
- Mayachiew, P., Devahastin, S., Mackey, B. M., & Niranjana, K. (2010). Effects of drying methods and conditions on antimicrobial activity of edible chitosan films enriched with galangal extract. *Food Research International*, 43, 125-132.
- Midelet-Bourdin, G., Copin, S., Leleu, G. & Malle, P. (2010). Determination of *Listeria monocytogenes* growth potential on new fresh salmon preparations. *Food Control*, 21, 1415-1418.
- Mishra, A. K., Mishra, A., Kehri, H. K., Sharma, B., & Pandey, A. K. (2009). Inhibitory activity of Indian spice plant *Cinnamomum zeylanicum* extracts against *Alternaria solani* and *Curvularia lunata*, the pathogenic dematiaceous moulds. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 8(9), 1-7.
- Mota, L., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Barroso, J.G., Miguel, M.G., Faleiro, M.L., & Ascensão, L. (2014). Volatile-oils composition, and bioactivity of the essential oils of *Plectranthus barbatus*, *P. neochilus*, and *P. ornatus* grown in Portugal. *Chemistry & Biodiversity*, 11, 719-732.
- Nguefack, J., Dongmo, J. B. L., Dakole, C. D., Leth, V., Vismar, H. F., Torp, J., ... Nkengfack, A. E. (2009). Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 151-156.
- Nogueira, J. H. C., González, E., Galletti, S. R., Facanali, R., Marques, M. O. M., & Felício, J. D. (2010). *Ageratum conyzoides* essential oil as aflatoxin suppressor of *Aspergillus flavus*. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 55-60.
- Okoh, O. O., Sadimenko, a. P., & Afolayan, a. J. (2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, 120, 308-312.

- Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C. F. R., Bento, A., Estevinho, L., & Pereira, J. A. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2326-2331.
- Palaniappan, K., & Holley, R. A. (2010). Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 140, 164-168.
- Petretto, G. L., Fancello, F., Zara, S., Foddai, M., Mangia, N. P., Sanna, M. L., Pintore, G. (2014). Antimicrobial activity against beneficial microorganisms and chemical composition of essential oil of *Mentha suaveolens* ssp. *insularis* grown in Sardinia. *Journal of Food Science*, 79(3), 369-377.
- Prakash, B., Shukla, R., Singh, P., Kumar, A., Mishra, P. K., & Dubey, N. K. (2010). Efficacy of chemically characterized *Piper betle* L. essential oil against fungal and aflatoxin contamination of some edible commodities and its antioxidant activity. *International Journal of Food Microbiology*, 142, 114-119.
- Pripdeevech, P., & Chukeatirote, E. (2010). Chemical compositions, antifungal and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Melodorum fruticosum* L. flowers. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2754-2758.
- Rahman, A., & Kang, S. C. (2009). *In vitro* control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of *Lonicera japonica* Thunb. *Food Chemistry*, 116, 670-675.
- Rasooli, I., Fakoor, M. H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., & Rezaei, M. B. (2008). Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 122, 135-139.
- Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Yoshinari, T., Rezaee, M.-B., Jaimand, K., Nagasawa, H., & Sakuda, S. (2008). Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 123, 228-233.
- Ren, B., Xia, B., Li, W., Wu, J., & Zhang, H. (2009). Two novel phenolic compounds from *Stenoloma chusanum* and their antifungal activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(2), 182-186.
- Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A.-H., & Khalel, K. I. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Industrial Crops and Products*, 44, 437-445.
- Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. a., & Jordán, M. J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19, 681-687.
- Saggiorato, A. G., Gaio, I., Treichel, H., Oliveira, D., Cichoski, A. J., & Cansian, R. L. (2009). Antifungal activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.): evaluation *in vitro* and on an Italian-type sausage surface. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 378-384.
- Sagoo, S. K., Little, C. L., Greenwood, M., Mithani, V., Grant, K. A., McLauchlin, J., Threlfall, E. J. (2009). Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. *Food Microbiology*, 26, 39-43.
- Salas, M. P., Céliz, G., Geronazzo, H., Daz, M., & Resnik, S. L. (2011). Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. *Food Chemistry*, 124, 1411-1415.

- Sharma, N., & Tripathi, A. (2008). Integrated management of postharvest *Fusarium* rot of gladiolus corms using hot water, UV-C and *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. essential oil. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 246-254.
- Singh, G., Kapoor, I. P. S., Singh, P., de Heluani, C. S., de Lampasona, M. P., & Catalan, C. N. (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3295-3302.
- Singh, P., Shukla, R., Prakash, B., Kumar, A., Singh, S., Mishra, P. K., & Dubey, N. K. (2010). Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1734-1740.
- Soylu, E. M., Kurt, S., & Soyly, S. (2010). *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology*, 143, 183-189.
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. a., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21, 1199-1218.
- Tavares, A. C., Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Cavaleiro, C., Lopes, M. C., Canhoto, J., & Salgueiro, L. R. (2010). Essential oils from *Distichoselinum tenuifolium*: chemical composition, cytotoxicity, antifungal and anti-inflammatory properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 130, 593-598.
- Tirillini, B., Pagiotti, R., Angelini, P., Pintore, G., Chessa, M., & Menghini, L. (2009). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Laserpitium garganicum* from Italy. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(1), 103-105.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 5987-6000.
- Tolouee, M., Alinezhad, S., Saberi, R., Eslamifar, A., Zad, S. J., Jaimand, K., Razzaghi-Abyaneh, M. (2010). Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. *International Journal of Food Microbiology*, 139, 127-133.
- Tserennadmid, R., Takó, M., Galgóczy, L., Papp, T., Pesti, M., Vágvölgyi, C., Krisch, J. (2011). Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 480-486.
- Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011a). Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry*, 126, 228-235.
- Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011b). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22, 1707-1714.
- Unlu, M., Ergene, E., Unlu, G. V., Zeytinoglu, H. S., & Vural, N. (2010). Composition, antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Lauraceae*). *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3274-3280.
- Webster, D., Taschereau, P., Belland, R. J., Sand, C., & Rennie, R. P. (2008). Antifungal activity of medicinal plant extracts; preliminary screening studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 115, 140-146.

Weerakkody, N. S., Caffin, N., Turner, M. S., & Dykes, G. a. (2010). *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, 21, 1408-1414.

Wei, Q., Wolf-Hall, C., & Hall, C. a. (2009). Application of raisin extracts as preservatives in liquid bread and bread systems. *Journal of Food Science*, 74(4), 177-184.

Wong, R. W. K., Hägg, U., Samaranayake, L., Yuen, M. K. Z., Seneviratne, C. J., & Kao, R. (2010). Antimicrobial activity of Chinese medicine herbs against common bacteria in oral biofilm. A pilot study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 39, 599-605.

Xia, D., Wu, X., Shi, J., Yang, Q., & Zhang, Y. (2011). Phenolic compounds from the edible seeds extract of Chinese Mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) and their antimicrobial activity. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 347-349.

Yoo, K. M., Lee, C. H., Lee, H., Moon, B., & Lee, C. Y. (2008). Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, 106, 929-936.

Yossa, N., Patel, J., Miller, P., & Lo, Y. M. (2010). Antimicrobial activity of essential oils against *Escherichia coli* O157:H7 in organic soil. *Food Control*, 21, 1458-1465.

Zhang, L.-G., Zhang, C., Ni, L.-J., Yang, Y.-J., & Wang, C.-M. (2011). Rectification extraction of Chinese herbs' volatile oils and comparison with conventional steam distillation. *Separation and Purification Technology*, 77, 261-268.

**Efecto del clorhidrato de clenbuterol sobre el funcionamiento hepático en modelo conejo**

VALLADARES-CARRANZA, Benjamin\*†, BAÑUELOS-VALENZUELA, Rómulo', PEÑA-BETANCOURT, Silvia'', VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ECHAVARRIA-CHAIREZ, Francisco' y MURO-REYES, Alberto'

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. C.P. 50200 Toluca, México.*

*Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.*

*Departamento de Producción Agrícola y Animal, Laboratorio de Toxicología. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, México, Distrito Federal*

Recibido Enero 21, 2015; Aceptado Junio 30, 2015

**Resumen**

El clorhidrato de clenbuterol (CCL), es un anabólico utilizado de manera ilegal en la alimentación animal, y a su vez esta situación se asocia a problemas en salud pública. Como órgano de biotransformación, el hígado tiene múltiples funciones, se ha referido que en este tejido el CCL permanece por un mayor periodo de tiempo y en mayor cantidad, provocando citotoxicidad hepática.

**Clorhidrato de clenbuterol, Enzimología clínica, hepatotoxicidad.**

**Abstract**

Clenbuterol hydrochloride (CCL) is an anabolic illegally used in animal feed, and in turn this situation is associated with problems in public health. As biotransformation organ, the liver has many functions, referred to in this tissue the CCL remains for a longer period of time and in greater quantity, causing hepatic cytotoxicity. The objective was to evaluate the effect of CCL, through the liver function by enzymology clinic in rabbit model.

**Clenbuterol hydrochloride, clinical enzymology, hepatotoxicity.**

**Citación:** VALLADARES-CARRANZA, Benjamin, BAÑUELOS-VALENZUELA, Rómulo, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ECHAVARRIA-CHAIREZ, Francisco y MURO-REYES, Alberto. Efecto del clorhidrato de clenbuterol sobre el funcionamiento hepático en modelo conejo. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales 2015, 1-1: 16-23

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: benvac2004@yahoo.com.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

**Introducción**

El clorhidrato de clenbuterol (4-amino-3,5-dicloroalfa 1,1-dimetiletil amino benceno metanol) es una sustancia  $\beta$ -agonista del grupo de los  $\beta$ -adrenérgicos. Su uso como agente anabólico en la engorda de ganado genera un incremento importante en las masas musculares, pero desde antes del año 2000 se prohibió su uso como aditivo en la alimentación y producción animal debido a su efecto residual y contaminación de los productos alimenticios (carne e hígado), que ha producido procesos de intoxicación en los consumidores, el efecto tóxico en los humanos provoca: cefalea, nerviosismo y taquicardia entre otros signos clínicos (Ramos et al., 2009; Valladares et al., 2015).

Su efecto anabólico y lipolítico del CCL se genera con al suministrarlo en la dieta, ya que es absorbido fácilmente vía digestiva, alcanzando una concentración importante media hora a seis horas pos ingestión; como órgano de biotransformación, el hígado tiene múltiples funciones; se ha referido que en este tejido el CCL permanece por un mayor periodo de tiempo y en mayor cantidad, cuando es suministrado en la alimentación animal; y provoca citotoxicidad hepática (Daubert et al., 2007).

El hígado como órgano en donde se desarrollan las reacciones metabólicas, puede ser un indicador de las alteraciones de funcionalidad orgánica. El incremento de su peso relativo se produce como respuesta a un incremento de su funcionalidad o por efecto de reguladores endocrinos (hormonas tiroideas o glucocorticoides), lo cual suele ser simultáneo o consecuente con hipertrofia e hiperplasia de origen tóxico (Repetto, 2002; Ramesh, 2007).

En la afección tóxica aguda del hígado pueden distinguirse las formas citotóxica y colagénica; esta última, consiste en la detección de la bilis en los canalículos intra o extrahepáticos. La forma citotóxica tiene tres formas de presentación, que pueden ser secuenciales o no: esteatosis, degeneración y necrosis. La esteatosis consiste en la acumulación citoplasmática de gotitas grasas; pueden originarse por numerosas sustancias capaces de alterar los mecanismos de degradación de los triglicéridos o de la síntesis de las lipoproteínas encargadas de sacar las grasas del hepatocito, originando lo que se conoce como hígado graso (Repetto, 2002; Doxey, 1987).

La degeneración estriba en una inflamación o balonización del hepatocito con hialinización (transparencia), de su contenido y aparición de cuerpos acidófilos. La necrosis supone la muerte celular y se puede producir por mecanismos de lipoperoxidación, alquilación, arilación o uniones covalentes de las macromoléculas biológicas (membrana plasmática y retículo endoplásmico), por el tóxico a sus metabolitos, o bien por reacciones inmunitarias. Cuando estas lesiones suceden en forma crónica, el tejido colágeno se transforma en fibrótico no funcional, que distorsiona la arquitectura hepática con posible obliteración de vasos y producción de edema y varices, conocido el proceso como cirrosis (Repetto, 2002).

El hígado responde a estímulos tóxicos con proliferación del REL (retículo endoplásmico liso), para incrementar la actividad de las enzimas metabolizantes de xenobióticos.

Esta proliferación puede progresar hasta alcanzar un grado patológico (manifestación de hepatotoxicidad), y entonces se produce una regresión en el nivel funcional adquirido, coincidiendo con la afectación de las mitocondrias (Repetto, 2002).



La mayoría de las enzimas son intracelulares, se localizan en mitocondrias, citoplasma o ambos, a partir de estas estructuras la liberación de enzimas, con consecuente incremento en concentraciones séricas aumentarán cuando las células son dañadas o destruidas (Doxey, 1987; Repetto, 2002; Meyer y Harvey, 2004).

La reacción L-aspartato↔oxalacetato ocurre en muchos tejidos, la mayor concentración de AST (aspartato amino transferasa) existe en músculo cardiaco y en proporciones o niveles iguales en el hígado, mucosa intestinal, músculo esquelético, riñón y páncreas. En consecuencia, el daño en células de una amplia variedad de órganos provoca un aumento en la concentración de AST circulante. Sin embargo puede ser una prueba diagnóstica de daño hepático (Manning et al., 1994). La enzima AST tiene una vida media de 5-12 horas en perros, de 1-2 horas en gatos y de 50 horas en equinos (Thrall et al., 2006; Meyer y Harvey, 2004).

La reacción L-alanina↔piruvato con participación de la ALT (alanin amino transferasa), ocurre principalmente en el hígado y en menor medida en cerebro, músculo y riñón. En los conejos las concentraciones de ALT en musculo cardiaco también son altas (Manning et al., 1994). En el hígado de rumiantes y caballos su valor es bajo (Meyer y Harvey, 2004), por lo que la prueba solo es válida en animales como primates, perros, gatos, conejos y ratas quienes presentan concentraciones más altas (Kaneko et al., 1997).

Cuando existe alteración hepatocelular la actividad de la enzima ALT se ve incrementada a las 12 horas aproximadamente, teniendo picos a los 1 y 2 días de daño agudo. En perros y gatos esta reportada una vida media de 60 horas (Thrall et al., 2006; Meyer y Harvey, 2004; Kaneko et al., 1997).

A pesar de que el uso de CCL en la producción animal (especies para abasto, principalmente bovinos) está prohibido, su uso clandestino e irracional se sigue dando en las diferentes unidades de producción propiciando problemas de salud pública, en México no existe un estudio sobre el daño que pudiera ocasionar el CCL a nivel hepático, considerando que es un órgano de importancia en la cinética (metabolismo y eliminación) de esta sustancia. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del CCL, a través del funcionamiento hepático por enzimología clínica en un modelo conejo, y dar un panorama de lo que puede estar ocasionando el CCL en salud pública.

### **Materiales y Métodos.**

Se realizó un modelo biológico con 10 conejos Nueva Zelanda, de 8 semanas de edad. Se identificaron, pesaron y alojaron individualmente en jaulas comerciales, distribuyéndose al azar en 2 tratamientos (T1 y T2, de 5 animales cada uno). Al T1 se le administro 0.8 µg/Kg de CCL en el agua de bebida, y al T2 (control) 0.5 gr de azúcar; el suministro de los tratamiento fue a diario, por un periodo de 28 días. Al día 1 (inicio), 7, 14, 21 y 28 se tomaron 3 mL de sangre de la vena marginal auricular para colectar el suero de cada muestra, conservándose en congelación a -8°C hasta su procesamiento.

En las determinaciones de Alanino amino transferasa (ALT) y Aspartato amino transferasa (AST), se utilizaron 50 µL de suero y 560 µL de ALT<sup>®</sup> o AST<sup>®</sup>, a través del método modificado sin piridoxal fosfato, midiendo la absorbancia a 340 nm (IFCC, 2002).

La concentración de CCL en suero se realizó a través de ELISA utilizando el kit Ridascreen Clenbuterol Fast<sup>®</sup>.

Los datos obtenidos se evaluaron a través de análisis de medidas repetidas y ANDEVA ( $P < 0.0001$ ), con el paquete estadístico SAS, versión 6.0.

### Resultados y Discusión.

El uso del CCL en la producción animal ha demostrado efectos tóxicos en los organismos que consumen dicha sustancia, se distribuye en casi todos tejidos, con un periodo de vida largo en el organismo (Ramos et al., 2009). El CCL al ser absorbido eficazmente en el tracto gastrointestinal pasa a la circulación y a su vez puede depositarse en hígado, ocasionando cambios estructurales y funcionales debido a las propiedades de la sustancia (Valladares et al., 2014).

En los conejos del T1, al día 1 no se detectaron niveles positivos de CCL; al día 7 se obtuvo un nivel de  $3068 \pm 401$  ppt, condición que se incrementó paulatinamente con  $4013 \pm 263$  y  $8100 \pm 100$  ppt para los días 14, 21, 28 respectivamente; y para el T2 en los mismos periodos los valores obtenidos fueron de cero residuos ( $P < 0.0001$ ).

De acuerdo con el periodo de detección de CCL, Sumano *et al.*, (2002), al evaluar la vida media del CCL en conejos, refieren que es factible encontrar cantidades importantes a las 9 horas; a diferencia de lo encontrado en este estudio, en el que una vez iniciado la adición de CCL, se encontraron niveles desde el día 7 y hasta el final del estudio.

Para los agonistas  $\beta$  adrenergicos las sustituciones en el anillo aromático son importantes para obtener una actividad biológica definida. Cuando los OH son sustituidos por un halógeno como en el caso del clorhidrato de clenbuterol (cloro), se evita la biotransformación por las enzimas COMT (catecol-O-metil-transferasas) a nivel tisular y se hace lenta la biotransformación hepática. Al mismo tiempo, la presencia de cloro en el CCL lo hace más liposoluble que sus análogos, y, por ende, tiende a difundir más en los tejidos y en la grasa animal.

El CCL se metaboliza por medio de reacciones de N-oxidación en hidroxyclenbuterol y conjugados glucorónicos, principalmente. Sin embargo se han detectado concentraciones séricas importantes, ácido 4-amino-3,5-diclorobenzoico y ácido 4-amino-3,5-diclorohipúrico, sustancias tóxicas que pueden ser afectar a diversos tejidos como el hígado, en donde se produce un almacenamiento importante de esta sustancia (Baillie et al., 1980; Hawkins et al., 1993).

En las enfermedades hepáticas es importante la determinación de diferentes metabolitos (bilirrubina libre y conjugada) en circulación. Se sabe que los pigmentos biliares son productos de excreción formados a partir de la hemoglobina liberada por el desdoblamiento de los eritrocitos en el sistema reticuloendotelial (Meyer y Harvey, 2004; Doxey, 1987). Cuando existe daño hepatocelular, el mejor diagnóstico se realiza en la fase aguda. Las determinaciones más frecuentes en la sospecha de daño hepático agudo o crónico son AST, ALT y GGT (Cebra et al., 1997).

En enzimología clínica los valores obtenidos hubo un incremento gradual en los conejos del T1, sobrepasando los valores normales desde el 7° día pos exposición con valores promedio al final del estudio de  $81,27 \pm 2,8$  y  $94,84 \pm 1,9$  U/L para AST y ALT respectivamente (Cuadro 1).

Se considera que los agentes inductores de los procesos enzimáticos originan la proliferación del REL, con el incremento de las enzimas metabolizadoras y citocromo P-450, junto con el incremento de los fosfolípidos microsómicos. De forma contraria, otros hepatotóxicos producen dilatación y fragmentación de las membranas rugosas y lisas, junto con un descenso en la síntesis de enzimas y fosfolípidos, y liberación de fosfatasa (Konnie, 2004; Ramesh, 2007).

Por tanto, cuando un tóxico comienza a llegar en pequeñas dosis al hígado, este puede llegar a incrementar su capacidad metabolizante por respuesta del REL y estimulación de los sistemas enzimáticos apropiados, y se inicia un aumento de peso relativo del órgano (hepatomegalia). Cuando la capacidad destoxicante del hígado queda superada, comienza a fallar la glucosa-6-fosfatasa hepática (índice de lesión microsómica), produciendo cambios histopatológicos importantes. Un incremento, aunque sea reversible de los niveles séricos de transaminasas indica afectación hepática y muscular con rotura celular (Repetto, 2002; Meyer y Harvey, 2004).

	Hora		Días				Promedio
	0	3	7	14	21	28	
T1	47,44	48,72	90,45	107,7	103,5	89,7 <sup>a</sup>	81,27 <sup>a</sup> ±
AST	<sup>a</sup> ± 1,3	<sup>a</sup> ±	<sup>a</sup> ±	<sup>a</sup> ±	<sup>a</sup> ± 4,4	± 9,4	2,8
		2,4	18,	6,7			
T2	47,81	49,72	49,66	69,63	68,87	69,17	59,14 <sup>b</sup> ±
AST	<sup>a</sup> ± 1,0	<sup>a</sup> ±	<sup>b</sup> ±	<sup>b</sup> ±	<sup>b</sup> ± 2,1	<sup>b</sup> ± 1,3	0,4
		0,2	0,2	0,4			
T1	76,80	77,02	99,36	104,	105,86	105,86	94,84 <sup>a</sup> ±
ALT	<sup>a</sup> ± 2,1	<sup>a</sup> ± 0	<sup>a</sup> ± 0	91 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> ± 0,8	<sup>a</sup> ± 0,5	1,9
				± 1,1			
T2	77,07	78,15	78,44	77,57	77,26	78,53	77,84 <sup>b</sup> ±
ALT	<sup>a</sup> ± 0	<sup>a</sup> ±	<sup>b</sup> ±	<sup>b</sup> ±	<sup>b</sup> ± 2,2	<sup>b</sup> ± 0	0,4
		1,1	0,3	2,2			

Literales diferentes por columna, muestran diferencia estadística (ANDEVA,  $P < 0,0001$ ). Valores normales (Kaneco, 2008), para Alanino amino transferasa (ALT) y Aspartato amino transferasa (AST): 47 y 79 U/L respectivamente

**Tabla 1** Concentraciones de AST y ALT (U/L) en diferentes periodos con y sin la administración de CCL en conejos.

La ALT es una enzima ubicada en el citosol de varias células, y resulta un indicador de lesión hepática, que puede liberarse al ocurrir lesión o necrosis subletal; el aumento en su concentración en alteración hepática es proporcional al número de células con necrosis o lesión; asimismo, altos niveles de AST pueden indicar lesión hepatocelular o muscular (Shelly, 2011).

En casos de extenso daño hepatocelular agudo, se detectan niveles muy elevados de estas enzimas. Mientras que en casos crónicos, tienden a disminuir después de un periodo, por tal razón el mejor diagnóstico se realiza en la fase aguda del daño celular. En conejos tratados con  $17\alpha$ -metiltestosterona por 15 días a dosis de 10 mg/Kg/ día se incrementaron los niveles séricos de AST y ALT con picos máximos a los 7 días; también se observó un incremento de la enzima GGT a los días 7, 10 y 15 de tratamiento (Hild et al., 2010).

En datos previos publicados, las alteraciones observadas histológicamente a efecto del CCL en tejidos parenquimatosos como el hígado y el riñón; Valladares et al., (2014), observaron lesiones importantes en hígado de conejos expuestos a esta sustancia, denotando: áreas de congestión de leve a moderada, degeneración hidrópica de hepatocitos, picnosis y cariorexis, áreas de necrosis focal; en 2 de los 5 conejos del T1 se observó lesión franca inflamatoria con necrosis rodeada de fibroblastos, neutrófilos, y macrófagos.

Otros datos de importancia a considerar son el reporte de Gojmerac et al., (2002), al estudio realizado en cerdos tratados con 10  $\mu$ g de CCL/Kg de peso, dos veces al día por vía intravenosa por 25 días antes del sacrificio, en hígado, fueron observadas lesiones histopatológicas, como: ligera hiperplasia de ductos biliares, inflamación intersticial, degeneración hidrópica y vacuolar del hepatocito.

Spencer y Oliver (1996), al suministrar a ovejas 400  $\mu$ g/Kg de CCL por día, ocasionó una supresión en la respuesta inmune humoral, predisponiendo a los animales tratados con este  $\beta$ -agonista a infecciones y alterar la salud y bienestar animal; de la misma forma, Malinowski (2004) refieren que el CCL puede afectar la función inmune de los animales, al alterar la funcionalidad de varios órganos.

El CCL tiene un efecto negativo en la función reproductiva de hembras y machos. Biolatti y colaboradores (1994), reportan que cerdas tratadas con CCL a una dosis de 1 ppm/día/40 días, presentaron lesiones a lo largo del tracto reproductivo, las lesiones macroscópicas observadas fueron: ovarios microcísticos y atrofia uterina; y las lesiones histopatológicas incluyen degeneración atrésica de algunos folículos ováricos, completa ausencia de función del cuerpo lúteo, una reducción en el número de glándulas endometriales, y un decremento en el volumen del citoplasma de células epiteliales del endometrio y de glándulas. Estas lesiones pueden tener un impacto negativo en la eficiencia reproductiva de las hembras. Por otro lado, en cerdos machos tratados con CCL a una dosis de 1 ppm mezclado en el alimento por 3 meses, también se observó un impacto negativo en la función reproductiva, debido a una modificación de la estructura testicular (morfología) y cuantitativos de las células de Leydig (Blanco et al., 2002).

### Conclusiones.

El efecto hepatotóxico del clorhidrato de clenbuterol en el modelo conejo produjo incremento de AST y ALT. Utilizar el CCL en especies para abasto puede ser un riesgo para el consumidor como ocurrió en el modelo biológico con conejos.

## Referencias

Baillie, H. W., Cameron, B. D., Draffan, G. H., Schmid, J. (1980). Investigations of the placental transfer of <sup>14</sup>C-N-AB 365 CL in the cow. No. 111674 de la base de datos de la OMS. 35

Biolatti, B., Castagnaro, M., Bollo E., Appino, S., Re G. (1994). Genital lesions following long-term administration of clenbuterol in female pigs. *Vet Pathol.*, 31, 82-92.

Blanco, A., Flores-Acuña, F., Roldán-Villalobos, R., Monterde, J.G. (2002). Testicular damage from anabolic treatments with the beta (2)-adrenergic agonist clenbuterol in pigs: a light and electron microscope study. *Vet J.*, 163, 292-298.

Cebra, C.K., Gerry, F.B., Getzy, M.J., Fettman M.J. (1997). Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: retrospective study of serum biochemical abnormalities. *J. Vet. Int. Med.*, 4:231-237.

Daubert, G.P., Mabasa, V.H., Leung, V.W., Aaron. C. (2007). Acute clenbuterol overdose resulting in supraventricular tachycardia and atrial fibrillation. *J. of Med Toxicol.* 3: 56-60.

Doxey, D.L. (1987). Patología clínica y procedimientos de diagnóstico en veterinaria. Manual Moderno. México, D.F. pp. 49-68.

Gojmerac, T., Pleadin, J., Zoric, M., Mirko, L., Stipica, C. (2002). Effects of repeated growth-promoting doses of clenbuterol on the hepatic function of female pigs (abstract). *Vet Hum Toxicol.*, 44(5):269-71.

Hawkins, D.R., Elsom, L.F., Dighton, M.H., Kaur, A., Cameron, D. M. (1993). The pharmacokinetics, metabolism and residues of <sup>14</sup>C-clenbuterol (<sup>14</sup>C-N-AB 365 CL) following intramuscular administration to calves. No. HRC/BOI 140/921418 de la base de datos de la OMS.

[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_876\\_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_876_spa.pdf). (6 Abril 2015).

IFCC. (2002). Primary reference procedures for the measurements of catalytic activity concentration of enzymes. *Clin Chem Lab Med*.

Kaneco, J. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Blood Analyte Reference Values in Small and some Laboratory Animals*. 6a ed. Academic Press. USA.

Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (1997). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Kaneko, 5th Ed., Academic Press, San Diego, pp. 829-843.

Konnie, H. Plumlee. (2004) *Clinical Veterinary Toxicology*. Mosby. St. Luis Missouri pp. 8-12.

Malinowski, K., Kearns, C.F., Guirnalda, P.D., Roegner, V., McKeever, K.H. (2004). Effect of chronic clenbuterol administration and exercise training on immune function in horses. *J Anim Sci.*, 82:3500-3507.

Manning, J.P., Ringler, H.D., Newcomer, E.C. (1994). *The Biology of the laboratory rabbit*. 2a ed. Academic Press. San Diego California. USA. pp. 459-460.

Meyer, D.J., Harvey, J. (2004). *Veterinary Laboratory Medicine*. 3a ed, Saunders, U.S.A. pp. 169-189.

Ramesh, C.G (2007). *Veterinary toxicology*. Academic Press. San Diego California. pp. 25-41.

Ramos, F., Baeta, M.L., Reis, J., Silveira, M.I.N. (2009). Evaluation of the illegal use of clenbuterol in portuguese cattle farms from drinking water, urine, hair and feed samples. *Food Addit Contam.* 26 (6): 814-820.

Repetto, M. (2002). *Toxicología fundamental*. 3a ed., Díaz de Santos. pp.195-203.

Shelly, L. (2011). Pruebas de laboratorio y procedimientos de diagnóstico en pequeños animales. Intermedica, Argentina.

Spencer, G.S., Oliver, M.H. (1996). Suppression of immune response in lambs during treatment with the beta-adrenergic agonist clenbuterol. *J Anim Sci.*, 74:151-153.

Sumano, L.H., Ocampo, C.L., Gutiérrez, L. (2002). Clenbuterol y otros b-agonistas. ¿Una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública?. *Vet Mex.* 33:137-159.

Thrall, M.A., Baker, D.C., Campbell, T.W., DeNicola, D., Fettman, M.J. (2006). *Veterinary hematology and clinical chemistry.* Blackwell, USA.

Valladares, C.B., Bañuelos, V.R., Peña, B.S.D., Velázquez, O.V., Zamora, E.J.L. (2014). Biocinética y lesiones histológicas del clorhidrato de clenbuterol en modelo conejo. *In: M. Ramos, V. Aguilera. (ed). Ciencias Agropecuarias, Handbook - ©ECORFAN-Valle de Santiago, Guanajuato. pp. 61-69.* [http://www.ecorfan.org/handbooks\\_agro2.php](http://www.ecorfan.org/handbooks_agro2.php)

Valladares, C.B., Bañuelos, V.R., Peña, B.S.D., Velázquez, O.V., Echavarría, Ch.F.G., Muro, R.A., Zaragoza, B.A., Ortega, S.C., Zamora, E.J.L., Gutiérrez, C.A. (2015). Implications of the use of clenbuterol hydrochloride in livestock production. *Rev Electrón Vet.* 16 (2): 1-13.

## Evaluación de la concentración hepática de plomo en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Toluca, México

VALLADARES-CARRANZA, Benjamín\*†, ORTEGA-SANTANA, César, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, ROSILES-MARTÍNEZ, René y MAYA-SCHUSTER, Edgar\*\*

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. C.P. 50200 Toluca, México.*

*Departamento de Producción Agrícola y Animal. UAM-Xochimilco. México, D.F.*

*Área de Toxicología. FMVZ-UNAM. México, D.F.*

*Clínica Privada, Toluca, México.*

Recibido Enero 14, 2015; Aceptado Mayo 14, 2015

### Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar la concentración hepática de plomo (Pb) en hígado de bovinos para abasto, obteniendo 183 muestras en el rastro municipal de Toluca, México. La concentración de Pb se obtuvo por espectrofotometría de absorción atómica. Los resultados promedio obtenidos fueron evaluados mediante el procedimiento de comparación múltiple de Tukey ( $P < 0.05$ ). El promedio general de concentración hepática de plomo fue de  $0.5029 \pm 0.4396$  ppm.

En base a los rangos de concentración establecidos, con concentraciones menores a 0.49 ppm, se ubicaron 93 de las muestras obtenidas (50.81%), con un promedio de  $0.4122 \pm 0.1280$ ; en el rango de 0.50 a 0.99, hubo 77 muestras (42.02%), con un promedio de  $0.7587 \pm 0.0347$ ; y con un valor mayor a 1 ppm, 13 muestras (7.10%), con un promedio de  $1.5008 \pm 0.2921$  ( $P < 0.05$ ).

**Plomo, hígado, bovinos.**

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the hepatic concentration of lead (Pb) in liver of cattle for slaughter, obtaining 183 samples in the municipal slaughterhouse in Toluca, Mexico. The concentration of Pb was obtained by atomic absorption spectrophotometry. The average results were evaluated by the method of multiple comparison Tukey ( $P < 0.05$ ). The overall average liver concentration of Pb was  $0.5029 \pm 0.4396$ .

Based upon the concentration ranges set, with concentrations less than 0.49 ppm, were placed 93 samples obtained (50.81%), with an average of  $0.4122 \pm 0.1280$ ; in the range of from 0.50 to 0.99, there were 77 samples (42.02%), with an average of  $0.7587 \pm 0.0347$ ; and a value greater than 1 ppm, 13 samples (7.10%), with an average of  $1.5008 \pm 0.2921$  ( $P < 0.05$ ).

**Lead, liver, cattle.**

**Citación:** VALLADARES-CARRANZA, Benjamín, ORTEGA-SANTANA, César, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, ROSILES-MARTÍNEZ, René y MAYA-SCHUSTER, Edgar. Evaluación de la concentración hepática de plomo en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Toluca, México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales* 2015, 1-1: 24-28

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: benvac2004@yahoo.com.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

El plomo (Pb) es uno de los metales considerado desde la antigüedad como “nocivo y pestilente”, ampliamente empleado para elaborar utensilios domésticos como ollas, copas y jarras entre otros. Sus principales efectos tóxicos fueron caracterizados desde hace unos 2000 años en la cultura grecorromana, a la enfermedad causada por la ingestión de este metal, en el cual se presenta: pigmentación y retraso en la maduración de glóbulos rojos e inhibición de la síntesis de hemoglobina debido a la insuficiencia del ácido &-aminolevulínico y de coproporfirina III. Por lo que hoy en día, es de preocupación la exposición alimentaria a este metal (González *et al.*, 200; Halliwell *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2001).

Debido a que el plomo se distribuye a varios órganos y tejidos se le considera como un metal tóxico sistémico; las fuentes más importantes de este metal son: pinturas (que son la principal fuente de intoxicación infantil), suelos (contaminados por este elemento, que exceden de 200 ppm; caracterizado por zonas próximas a minas de Pb), industrias (que emplean este metal) y las fundidoras (que pueden tener niveles superiores de contaminación en suelo de 60000 ppm), instalaciones hidráulicas domésticas (que pueden contener concentraciones de Pb superiores a el estándar de los 20 g/dL, además se ha asociado al agua contaminada con Pb a la intoxicación de niños alimentados con leche formulada); además se sabe que contamina los alimentos a través de la absorción de raíces de vegetales y en la atmósfera puede caer en las hojas de los mismo; y a nivel industrial puede contaminar los alimentos durante su procesamiento (Cuadrado *et al.*, 2000; Llobet *et al.*, 1998).

El empleo de aguas procedentes de cuerpos contaminados eleva considerablemente los requerimientos y costos de tratamientos, así mismo los riesgos de la salud pública cuando es usado en la agricultura, la ganadería y en núcleos de población humana. Los animales que habitan en áreas cercanas a zonas industriales están más expuestos a contaminantes como metales y metaloides (caso del plomo, cadmio, arsénico y mercurio entre otros) produciendo padecimientos agudos o crónicos, dependiendo del grado de exposición y consumo tanto para humanos, animales y vegetales (Valladares-Carranza *et al.*, 2014).

El plomo por su ubicuidad e importancia desde el punto de vista de salud pública merece especial atención, ya que tiende a acumularse en vegetales, granos productos y subproductos de animales destinados para el consumo humano, como es la carne (tejido muscular y vísceras)(Llobet *et al.*, 1998).

Considerando que en México, el consumo per cápita de carne de bovino es alrededor de 5.0 Kg al año, está expuesto a consumir determinada cantidad de plomo en su alimentación (Rodríguez *et al.*, 2001), al consumir cierta cantidad de este metal como contaminante, y en base a su cinética e incorporación durante el proceso de producción bovina, puede llegar al humano produciéndole diferentes trastornos o patologías; por lo que el presente estudio tuvo la finalidad de realizar un monitoreo pilotó a partir de muestras de hígado de bovinos para abasto, evaluando las concentraciones de plomo, por el posible riesgo a corto y mediano plazo que pueda presentarse en el humano.



## Material y Método

Se colectaron 183 muestras de hígado (150 g) de bovinos sacrificados en el rastro municipal de Toluca, Estado de México, considerando como representativo al 10% de la población. Las muestras de hígado fueron colectadas en forma aleatoria, transportadas en bolsas de plástico al laboratorio y procesadas a través de digestión ácida (ácido nítrico y perclórico concentrados), obteniendo la concentración de plomo por medio de espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer Co., 1982).

Para el reporte de resultados, se empleó el método descriptivo, a los resultados promedio obtenidos se les aplicó el procedimiento de comparación múltiple de Tukey ( $P < 0.05$ ), y se compararon con los valores de referencia o reportados en la literatura.

## Resultados y Discusión.

Para determinar las concentraciones de plomo en hígado de bovinos procedentes del rastro municipal de Toluca, México; se evaluaron 183 muestras. La concentración máxima de Pb obtenida, fue de 1.9983 ppm en el total de muestras analizadas, y el valor mínimo detectado fue de 0.3160 ppm. En los rangos de distribución realizados, se obtuvo que un 55.81% de las muestras presentó un valor menor a 0.49; en el rango de entre 0.50 a 0.99 ppm se ubicó al 42.07% de las muestras, y el 7.10% correspondieron a las que sobrepasaron la unidad (Cuadro 1).

	Rangos de concertación de plomo (ppm)			
	< 0.49	0.50 – 0.99	> 1.0	Promedio general
Frecuencia	93	77	13	
Porcentaje	7.10	36.61	7.10	
Prom y D.S.	0.4122 a ± 0.1280	0.7587 a ± 0.03471	1.5008 b ± 0.2921	0.5029 ± 0.4396

n = 183 muestras. ( $P < 0.05$ ) Literales diferentes por fila difieren estadísticamente (a y b).

Límite máximo (mg/Kg) para productos cárnicos o derivados: 1.0 ppm (NOM-004-ZOO-1994; NOM-117-SSA1-1994).

**Tabla 1** Concentraciones de plomo en hígado de bovinos de engorda sacrificados en el rastro municipal de Toluca, Estado de México.

Es importante destacar que los datos obtenidos son similares a lo encontrado por Herrera y col. (2003), al analizar al Pb, mediante la misma técnica en diferentes rastros de la ciudad de Mérida, Méx. Y en donde solo se realizan comparaciones entre los lugares de muestreo, sin realizar ningún otro comentario; ya que el estudio estuvo enfocado a valorar o diferenciar si durante el proceso analítico o bien en los sitios de obtención de las muestras existía alguna diferencia o datos que evidenciaran contaminación de los productos.

El promedio general de plomo, fue de  $0.5029 \pm 0.4396$  ppm, lo que de acuerdo con Gunter y col. (1999), el valor que puede indicarnos y orientar a saber del nivel en hígado es de 0.50 mg/Kg, incluso con un valor deseable menor a esta cantidad sería lo recomendable; por lo que con el valor promedio obtenido, aparentemente que es similar al dato de estos autores, puede que aún se encuentre en los límites permitidos.

El contenido de Pb en la mayoría de las especies vegetales es de 0.5 a 3 mg/Kg. Frecuentemente los forrajes tienden a asimilar cierta cantidad de plomo (2-12 mg/Kg). En evaluaciones realizadas, se han encontrado concentraciones mínimas de 86.19 y una máxima de 266.28 mg/Kg de Pb contenida en pastos; lo cual puede representar un grave problema para aquellos animales que se alimentan con pastos contaminados de áreas industriales (Palacios *et al.*, 2002). De acuerdo a los sistemas de producción y aún las condiciones ambientales de nuestro entorno, es importante el realizar este tipo de estudios valorando los posibles riesgos de la acumulación de este metal en bovinos y en otras especies productivas para abasto, ya que a través de la contaminación ambiental puede existir deposición importante a nivel de los mismos forrajes que consumen los animales.

Entre el rango mínimo en donde se ubicaron 93 de las muestras, con un valor de  $0.4122 \pm 0.1280$ , y el rango de más de 1.0 en donde se ubicaron 13 de las muestras obtenidas, con un promedio de  $1.5008 \pm 0.2921$  ppm de concentración de Pb contrastando las determinaciones obtenidas ( $P < 0.05$ )(Cuadro 1).

De acuerdo al promedio del rango más alto obtenido (1.5008 ppm) es un valor muy alto comparado al límite establecido como valor máximo en productos cárnicos y derivados que es de 1.0 ppm, referido en la NOM-004-ZOO-1994 y la NOM-117-SSA1-1994.

El límite de concentración fijado sin efectos biológicos es de 35  $\mu$ /dL de plomo y altas concentraciones de este metal han sido asociadas a diferentes problemas de salud en el hombre incluyendo disfunciones del SNC en fetos y niños, y en adultos hematoxicidad, disfunción reproductiva y enfermedad de Alzheimer.

Las manifestaciones clínicas de intoxicación aguda son dolor, cólico, anemia hemolítica, elevación de enzimas hepáticas, encefalopatía aguda y neuropatía (Rosen y Morri, 1998; Valladares-Carranza *et al.*, 2014).

En el agua natural, la concentración media de plomo ronda los 0.005 mg/ Pb/L en forma de sales o disuelto por el CO<sub>2</sub> actualmente el contenido de Pb en las aguas destinadas al consumo humano está regulado y se establece el límite máximo en 10  $\mu$ g/L. Es también muy importante la cesión de Pb por parte de las tuberías de las redes de distribución de agua urbana. Actualmente, está prohibido por las normas de urbanismo modernas el empleo de este tipo de tuberías. Se aconseja el uso de tuberías galvanizadas y plásticas. En aguas duras las tuberías quedan protegidas por una costra de carbonato cálcico que impide que se disuelva el Pb de las mismas (Laws, 1993).

Diferentes alimentos son una fuente importante de exposición al plomo; un adulto sano no expuesto al Pb ingiere diariamente 0.3 a 0.5 mg de este metal, y el 80% es eliminado por el riñón. Si la ingesta es superior a 0.6 mg/día el plomo se acumula y puede producir una intoxicación (Cuadrado *et al.*, 2000). El contenido promedio de Pb en los productos alimenticios parecería no ser causa de alarma, sin embargo, es imperante determinar las posibles fuentes de contaminación y precisar medidas precautorias o de control para minimizar el contenido de plomo en productos y subproductos cárnicos consumibles para salvaguardar la salud pública.

## Conclusión

La concentración de plomo en hígado de bovinos obtenida en el estudio muestra a un alto número de animales con una concentración superior a 1.0 ppm (13/183); nivel que sobrepasa a lo establecido como límite máximo en productos cárnicos y derivados.

## Referencias

- Cuadrado, C., Kumpuleinen, J., Carvajal, A., Moreiras, O. (2000). Cereals contribution to the total dietary intake of heavy metals in Madrid, Spain. *J. of Food Composition and Analysis.*, 13: 495-501.
- Erzen, I., Usic, S., Bosnjak, K. (2002). Assessment of dietary intake of cadmium, lead and mercury via foods of the plant and animal origin in Slovenia. *Med. Arch.*, 56: 105-109.
- González, S.E., González, R.V., López, S.C., Castro, R.J.M., Fernández, S. J. (2000). Migration of lead and cadmium from ceramic materials used in food preparation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65: 598-603.
- Günter, V., Josst, D., Wolfgang, S., Vreden, N. (1999). Elementos de Bromatología descriptiva. Acribia, Zaragoza, España.
- Halliwell, D., Turoczy, N., Stagnitti, F. (2000). Lead concentrations in Eucalyptus sp. In a small coastal town. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65: 583-590.
- Herrera, C.F.G., Alcocer, V.V.M., Castellanos, R.A.F. (2003). Detección de metales pesados, DDT y metabolitos en tejidos bovinos en Yucatán. XXXIX Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. UNAM. México Distrito Federal.
- Laws, E.A. (1993). Aquatic Pollution. An introductory text. Second edition. John Wiley and Sons, Inc.
- Llobet, J.M., Granero, S., Schuhmancher, M. (1998). Biological monitoring of environmental pollution and human exposure to metals in Tarragona, Spain. IV. Estimation of the dietary intake. *Trace Elem. Electroly.*, 15: 136-141.
- NOM-004-ZOO-1994: Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos. Límites máximos permisibles y procedimientos de muestreo.
- NOM-117-SSA1-1994: Bienes y servicios. Métodos de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, hierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrofotometría de absorción atómica.
- Palacios, H., Iribarren, I., Olalla, M.J., Cala, V. (2002). Lead poisoning of horses in the vicinity of a battery recycling plant. *Science of the Total Environ.*, 90: 81- 89.
- Perkin Elmer Co. (1982). Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry. Perkin Elmer Co. Connecticut, USA.
- Rodríguez, L.M.A., Navarro, M., Cabrera, C., López, M.C. (2001). Elementos tóxicos en alimentos, bebidas y envases. *Alimentaria*, 21:23-31.
- Rosen, J.F., Morri, M.E. (1998). Trends in the management of child hood lead poisonings. *Neurotoxicology*. 14: 211-218.
- Valladares-Carranza, B., Peña-Betancourt, S.D., Zamora-Espinosa, J.L., Velázquez-Ordóñez, V., Ortega-Santana, C., Zaragoza-Bastida, A., Rivero-Pérez, N., García-Morales, O. (2014). Determinación de plomo en sangre de perros de la ciudad de Toluca, México. *Rev. Electron. Vet.* 15 (4):1-10. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040414/041404.pdf>

## Establecimiento del cultivo *in vitro* de *Cyrtopodium macrobulbon* (orquídea). Bases para su micropropagación

CARRANZA-ALVAREZ, Candy\*†, MALDONADO-MIRANDA, Juan, CARRILLO-INUNGARAY, María y HERNANDEZ-MORALES, Alejandro

Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Romualdo del Campo 501, Fracc. Rafael Curiel, Cd. Valles, S.L.P.,

Recibido Enero 27, 2015; Aceptado Junio 10, 2015

### Resumen

*Cyrtopodium macrobulbon*, es una orquídea tropical que alcanza hasta 1.3 metros de altura, con pseudobulbos en grupos y con más de 100 inflorescencias de coloración naranja (Salazar, 2006; Romero y Carnevali, 1999).

*C. macrobulbon* es una orquídea continuamente expuesta al saqueo, y a la destrucción de su hábitat natural, además de presenta una multiplicación vegetativa difícil y es de valor comercial. Por ello, fue necesario implementar métodos biotecnológicos para su propagación como es el cultivo de tejidos vegetales (CTV). El CTV, es un conjunto de técnicas que permite la reproducción de una célula, órganos o tejidos en medios de cultivos sintéticos bajo condiciones asépticas y fotoperiodos. El objetivo de esta investigación fue establecer el cultivo *in vitro* de *Cyrtopodium macrobulbon*, y evaluar el efecto del explante y la adición de sustratos naturales al medio de cultivo sobre su propagación. Los resultados mostraron que el explante más eficaz fueron las semillas, con las que se obtuvo un 95% de respuesta. Además, el medio que contenía carbón activado y agua de coco (MD1) fue el más eficiente para la formación de brotes a partir de protocormos, ya que se formaron hasta  $9.0 \pm 1.5$  brotes a los 60 días de cultivo *in vitro*.

**Cultivo de Tejidos Vegetales, orquídea, *Cyrtopodium macrobulbon***

### Abstract

*Cyrtopodium macrobulbon*, is a tropical orchid up to 1.3 meters high, with pseudobulbs in groups and with over 100 inflorescences orange color (Salazar, 2006; Romero and Carnevali, 1999).

*C. macrobulbon* is an orchid exposed to illegal trafficking, and the destruction of their natural habitat, has a difficult vegetative propagation, and commercial value. Therefore, it was necessary to implement propagation biotechnological methods such as plant tissue culture (PTC).

The PTC allows multiplication of a cell, organ or tissue cultures in synthetic media and photoperiod under aseptic conditions.

The aim of this research was to establish the *in vitro* culture of *Cyrtopodium macrobulbon*, and evaluate the effect of explant and adding natural substrates to the culture medium of propagation.

The results suggested that the most effective was the seed explant, in which a 95% response observed. In addition, the medium containing charcoal and coconut water (MD1) was the most efficient for the formation of shoots from protocorms as formed up to  $9.0 \pm 1.5$  after 60 days of culture *in vitro*.

**Plant Tissue Culture, orchid, *Cyrtopodium macrobulbon***

**Citación:** CARRANZA-ALVAREZ, Candy, MALDONADO-MIRANDA, Juan, CARRILLO-INUNGARAY, María y HERNANDEZ-MORALES, Alejandro. Establecimiento del cultivo *in vitro* de *Cyrtopodium macrobulbon* (orquídea). Bases para su micropropagación. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales 2015, 1-1: 29-42

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: candy.carranza@uaslp.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

**Introducción**

La familia Orchidaceae es una de las más diversas pero también una de las más vulnerables debido a la destrucción de su hábitat y a la gran extracción a la que están sujetas. En México se conocen más de 1200 orquídeas, de las cuales 181 se encuentran en alguna categoría de riesgo (Diario Oficial de la Federación, 2001).

Las orquídeas son apreciadas como plantas de ornato debido a su rareza, color, perfume y forma. La mayoría son especies originarias de regiones tropicales y templadas así como de las zonas montañosas (Navarro, Gil, Cruz y Bastida, 2001).

*Cyrtopodium macrobulbon* es una orquídea de amplia distribución que crece en climas tropicales sobre rocas. Esta especie alcanza hasta 1.3 m de alto, cuenta con pseudobulbos en grupos, y presenta flores numerosas de más de 100 inflorescencias y de coloración vistosa (Salazar, 2006; Romero y Carnevali, 1999).

Debido a que no existen métodos tradicionales de propagación descritos para *C. macrobulbon*, y además, esta especie está expuesta al saqueo y a la destrucción de su hábitat natural, presenta una multiplicación vegetativa difícil y es de valor comercial, resulta interesante implementar métodos biotecnológicos de propagación como lo es el cultivo de tejidos vegetales (CTV) o micropropagación.

El CTV, es un conjunto de técnicas que permite la reproducción de una célula, órganos o tejidos en medios de cultivos sintéticos bajo condiciones asépticas y fotoperiodos. Por medio de esta técnica se pueden obtener plantas libres de patógenos, en un menor tiempo y en espacios reducidos (Rivero, 2007).

El material vegetal se cultiva en medios que contienen macronutrientes, micronutrientes, una fuente de carbono y vitaminas, entre los cuales destaca el descrito por Murashige y Skoog, conocido como medio MS (Murashige y Skoog, 1962).

Dentro de los componentes del medio de cultivo que más afectan el crecimiento, desarrollo y diferenciación de los tejidos *in vitro* son los reguladores vegetales de crecimiento, fitoreguladores, sustancias u hormonas vegetales de crecimiento. Son mensajeros químicos que median la comunicación intercelular en las plantas superiores. Entre éstos se encuentran las auxinas y las citocininas (Dodds y Roberts, 1982; Hopkins, 1999). Sin embargo, el uso de sustratos naturales que funcionen de manera similar a estas hormonas de crecimiento es ideal para reducir los costos de la micropropagación, sobre todo, si la propagación de la especie vegetal se quiere llevar a gran escala, y con fines de comercialización.

**Revision de literatura****Generalidades de las orquídeas**

Desde la antigüedad las orquídeas se han apreciado como plantas de ornato debido a su rareza, color, perfume y forma. En su mayoría son especies originarias de las regiones tropicales y templadas así como de las zonas montañosas (Navarro et al., 2001).

Las orquídeas son plantas que se clasifican dentro de la familia de las Orchidaceae, son monocotiledóneas, herbáceas, perennes y fanerógamas que se distinguen por tener flores con características únicas. Cada flor tiene tres sépalos y tres pétalos, con un pétalo modificado en forma de labio llamado labelo. La familia Orchidaceae comprende cerca de 1,000 géneros y más de 30,000 especies, además de los híbridos que suman aproximadamente 45,000 (Sheehan y Marion, 1994).

Las orquídeas no son plantas parásitas, aunque en la naturaleza la mayoría viven sobre árboles, no los dañan, sus raíces se desarrollan solo en la superficie de la corteza sosteniéndose de ellos, absorbiendo humedad y alimento de la lluvia y el polvo que las rodean. De hecho, algunas pueden vivir directamente en el suelo, sobre rocas, en medios semiacuosos, o en materia en descomposición. Por lo general no son plantas delicadas y comparadas con otras, son incluso resistentes. Muchas orquídeas toleran la falta de agua de riego y es preferible que a una planta le falte agua a que la tenga en exceso (Navarro et al., 2001).

Las orquídeas pueden crecer erectas (monopódicas) o rastreras (simpódicas) y algunas son trepadoras. Aunque la mayoría de las orquídeas son llamadas “plantas verdes”, existen unas pocas que son saprofitas y sin hojas. Los tallos pueden tener uno o más entrenudos abultados (pseudobulbos) y tener una o muchas hojas. Las hojas son paralelinervias, ya sean gruesas y coriáceas o delgadas, suaves y frecuentemente plegadas en una variedad muy grande de formas, desde lineales a ovaladas o circulares y están formadas alternamente a lo largo del tallo (Sheehan y Marion, 1994).

Las semillas de orquídea son minúsculas, de 1-2 mm de largo y 0.05-1 mm de ancho, su peso varía de 0.31-24  $\mu\text{g}$ , se producen alrededor de 4,000,000 de semillas por cápsula; como el embrión es muy pequeño la semilla contiene una gran porción de aire lo cual permite que se disperse con gran facilidad por el aire y que recorra grandes distancias hasta encontrar las condiciones ideales para su germinación (Arditti y Ernest, 1993), así mismo contienen pocas reservas de alimento indispensables para que la semilla germine. Debido a esto el establecimiento de la simbiosis con un hongo micorriza es crucial para la supervivencia y desarrollo de la semilla pues este le abastecerá de nutrientes y azúcares hasta que la plántula sea capaz de generar su propio alimento, además de que acelerará el proceso de germinación pues dependiendo de la especie de orquídea el tiempo para que esto suceda varía de 4-8 meses dependiendo de la especie. Sin embargo, estudios actuales demuestran que algunas especies de orquídeas dependen enteramente del hongo durante toda su vida como fuente de carbono.

Las orquídeas son uno de los grupos botánicos que presentan problemas para su conservación y muchas de ellas se encuentran amenazadas de extinción por la reducción de su hábitat natural debido a la expansión de la agricultura y la deforestación, y por la extracción masiva del campo. Por las razones anteriores el cultivo de orquídeas a partir de semillas asimbióticas, requiere una inversión de tiempo muy importante, además de las complicaciones que se tienen durante este proceso dificultan su propagación (NOM-059-ECOL, 1994).

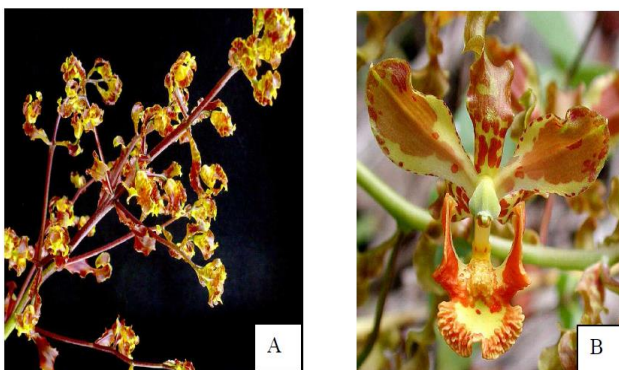
Dentro de las orquídeas que no se propagan tradicionalmente por la complejidad de su tamaño y características botánicas, se encuentra *Cyrtopodium macrobulbon*.

### Descripción de *Cyrtopodium macrobulbon* (Orquidacea)

*C. macrobulbon* es una orquídea de amplia distribución en América tropical.

Es una planta terrestre que crece sobre rocas y alcanza enormes dimensiones de hasta 1.3 metros de alto, presenta pseudobulbos en grupos, erectos, rígidos, elongados-fusiformes, con numerosas articulaciones foliosas y ocultas por vainas escariosas, imbricadas, de 15 a 40 cm de largo, raramente de mayor longitud y de 1.5 a 3.0 cm de diámetro. Tiene hojas lineares o linear-elípticas, agudas o muy acuminadas, dísticas, próximas, inicialmente recurvadas y en la madurez péndulas, flácidas. Inflorescencia lateral, paniculada, con un pedúnculo macizo con vainas escariosas muy conspicuas. Presenta flores numerosas de más de 100 inflorescencias, con ovarios pedicelados delgados y de coloración vistosa. Su cápsula es de hasta 10 cm de largo, oblongo-aovada. La apariencia de la vaina y de las flores de *C. macrobulbon*, se muestra en la Figura 1.

De los pseudobulbos triturados se obtiene una pasta gomosa usada antiguamente para empastar libros. A pesar de su espectacularidad es muy poco cultivada por el gran espacio que requiere (Salazar, 2006; Romero y Carnevali, 1999).



**Figura 1** A) Tallo con inflorescencias y B) Apariencia de la flor de *Cyrtopodium macrobulbon* en estado adulto.

El cultivo de orquídeas como *C. macrobulbon* es un campo que inicia, y la falta de estudios con estas especies ha limitado aún más su desarrollo. Algunas especies presentan problemas propios de reproducción, o muestran poca respuesta a los métodos convencionales de propagación vegetativa. Esto hace necesario tomar acciones inmediatas en la búsqueda de alternativas que mejoren sus sistemas de producción, y la calidad del material de siembra.

Una alternativa biotecnológica para evitar la reducción de especies es el Cultivo de Tejidos Vegetales (CTV). Por medio del CTV se pueden obtener cientos de ejemplares en condiciones controladas y a un bajo costo.

Las ventajas que ofrecen las técnicas *in vitro* contribuyen enormemente con un mayor conocimiento sobre las especies vegetales en condiciones controladas, contribuye con el incremento de sus tasas de reproducción en un menor tiempo y espacio. Además, en el futuro la propagación artificial puede convertirse en una actividad económicamente importante, además de que constituye una forma de conservación y rescate de especies en vías de extinción.

### Fundamentos del Cultivo de Tejidos Vegetales

El cultivo de tejidos vegetales o cultivo *in vitro* se refiere al cultivo de células, tejidos u órganos en condiciones asépticas, en medios de cultivo sintéticos y en condiciones ambientales controladas (Dodds y Roberts, 1982). El CTV se basa en la teoría de la totipotencia implícita en la teoría celular.

Esta teoría establece que la célula es una entidad autónoma y totipotente la cual, al ser separada de un organismo multicelular, puede llevar una vida independiente si se le coloca en un medio ambiente apropiado. En condiciones especiales de cultivo cada célula puede crecer, dividirse, diferenciarse y organizarse en tejidos, órganos y finalmente en una planta completa.

A este fenómeno se le conoce como totipotencia y ha sido la base para la aplicación de la tecnología del cultivo de tejidos como método de propagación y manipulación genética en plantas (Santos y Ochoa, 1992; Rubluo, 1990). A diferencia de las técnicas tradicionales de cultivo, el CTV permite la propagación de plantas en menor tiempo y su manejo en espacios reducidos. Esta metodología ha sido de gran utilidad en la obtención de plantas libres de patógenos, multiplicación de plantas en peligro de extinción, obtención de plantas transformadas por ingeniería genética, entre otras aplicaciones (Pérez, Ramírez, Nuñez y Ochoa, 1999).

El cultivo de tejidos vegetales se basa en las siguientes etapas principales: a) selección del explante, b) asepsia del explante, c) selección de los medios de cultivo, d) multiplicación del tejido, e) enraizamiento y d) aclimatación de las plántulas propagadas.

### **Germinación *in vitro* de orquídeas**

Las semillas de orquídeas son conocidas como semillas de polvo porque son minúsculas y contienen pocas reservas de alimento. Usualmente estas semillas no germinan en el medio natural a menos que sean infectadas por un hongo micorriza, el mismo que abastece a las plantas jóvenes con azúcares y nutrientes que necesitan hasta que sean suficientemente grandes para fabricar su propio alimento.

Cuando la semilla germina produce una masa indiferenciada de células llamada protocormo. Manteniendo las condiciones normales, el protocormo continuará su crecimiento por varias semanas, meses o incluso años dependiendo de la especie hasta que alcance la edad apropiada para producir raíces y hojas. En el caso de orquídeas terrestres, es de vital importancia que la relación orquídea hongo se conserve durante los estados tempranos del ciclo de vida de la planta ya que el protocormo enterrado no puede fabricar alimento por sí mismo. Por otro lado, los protocormos de las orquídeas epífitas son comúnmente verdes, lo que les posibilita producir parte de su alimento (McKendrick, 2000).

### **Medios cultivo para orquídeas**

Muchos medios de cultivo se han utilizado para la germinación axénica de las orquídeas terrestres y epífitas. Sin embargo, ninguno de estos medios es universal. Los medios con nutrientes comúnmente utilizados para el cultivo de semillas de orquídeas son las propuestas por Knudson (1946) (KC), Vacin y Went (VW) (1949), de Murashige y Skoog (MS) (1962), Raghavan y Torrey (RT) (1964), Nitsch (1969), medio (M), Mitra et al., (1976) y medio Dalla Rosa y Laneri (DR) (1977).

### **Reguladores de crecimiento**

La adición de fitohormonas al medio en diferentes proporciones puede estimular o detener el crecimiento o diferenciación de algunos órganos en la planta. Por ello, con la utilización de estos, en diferentes concentraciones y la mezcla de varios se pueden manipular algunos procesos morfogénicos de la planta (Rojas et al., 2004).



Las auxinas más utilizadas en los medios de cultivo de tejidos de orquídeas son la auxina natural, ácido indolacético (IAA) y los sintéticos naftalenoacético ácido (NAA), ácido indolbutírico (IBA), y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Otras auxinas y, ocasionalmente, conjugados de ácido auxina-amino también se utilizan en algunos medios de cultivo. La concentración y el tipo de auxina que se utiliza, son generalmente el resultado de ensayo y error. Las auxinas sintéticas son generalmente más estables y permanecen activas más tiempo que las sustancias de origen natural.

Las auxinas se encuentran en mayor concentración en las partes de la planta donde se presentan procesos activos de división celular, lo cual se relaciona con sus funciones fisiológicas asociadas con la elongación de tallos y coleótilos, formación de raíces adventicias, inducción de floración, diferenciación vascular, algunos tropismos y promoción de la dominancia apical (McSteen et al., 2008).

### **Multiplicación del tejido (organogénesis directa o indirecta)**

En cultivo de tejidos vegetales, la organogénesis es un proceso de diferenciación mediante el cual los órganos de la planta (raíces, hojas, flores, tallo, etc.) comienzan a formarse. La organogénesis *in vitro* depende de la concentración de auxina y citocininas, y de la capacidad de los tejidos para responder a los reguladores de crecimiento durante el cultivo. La organogénesis se lleva a cabo en tres fases. En la primera fase, las células totipotentes se multiplican, mientras que en la segunda fase se desdiferencian.

En la tercera fase comienza la morfogénesis, la cual es independiente de los reguladores de crecimiento exógenos (Sugiyama, 1999). La organogénesis *in vitro* puede llevarse a cabo por tres vías: i) Organogénesis directa, ii) Organogénesis indirecta, y iii) embriogénesis somática (directa o indirecta).

### **Enraizamiento**

Esta etapa se da cuando se tienen los subcultivos necesarios para garantizar una cantidad determinada de plántulas *in vitro* o vitroplantas. Los explantes ya propagados se dejan crecer, y forman hojas por un periodo de tiempo según sea la especie, y posteriormente son cambiados a un nuevo medio de cultivo en el cual el cambio en el balance hormonal se ve favorecido por las auxinas, con el fin de inducir, la formación y desarrollo de raíces. Generalmente, las citocininas se reducen o desaparecen en esta etapa, hay especies en las que se les suspende todo tipo de hormonas y se da la formación de raíces. Al final de esta etapa deberá quedar formada completamente la vitroplanta (Rojas et al., 2004).

### **Metodología**

#### **Material Vegetal**

Se realizaron visitas a viveros localizados en el municipio de Huichihuayan, S.L.P., y en las zonas de vegetación aledañas de Cd. Valles para la recolección de la especie *Cyrtopodium macrobulbon*, sin embargo, sólo se encontraron plantas pequeñas, pero no contaban con fruto (capsulas con semillas). Por lo que se solicitó el apoyo del Jardín Botánico del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), el cual donó cápsulas de *C. macrobulbon* en estado maduro antes de la dehiscencia

#### **Lavado y preparación de material.**

Para la preparación de medios de cultivo se utilizaron frascos medianos tipo Gerber los cuales se lavaron con detergente, se enjuagaron con abundante agua, se colocaron en una solución de ácido clorhídrico 1M durante 24 horas, se enjuagaron con agua potable y finalmente se esterilizaron.

La esterilización del material de vidrio y medios de cultivo se realizó en autoclave a 120°C y 15 libras durante 20 min.

### Preparación de soluciones desinfectantes

Para preparar 1 L de la solución de fungicidas, se pesaron 1 g de Captán, 1 g de Bavistin DF y 1 g de terramicina agrícola y se aforó con agua potable. Para preparar la solución de hipoclorito de calcio [Ca(ClO)<sub>2</sub>] al 10% y 8% se pesaron 50 y 40 g respectivamente para 500 ml de agua desionizada. Las soluciones se dejaron en reposo durante 24 h, hasta la disolución completa de la sal de cloro y finalmente se filtraron a través de papel filtro.

### Preparación de medios de cultivo

El medio de cultivo utilizado para la siembra del material vegetal, fue el medio comercial de Murashige y Skoog (MS) (Phytotechnology laboratorios). De las sales del medio MS se pesaron 4.43 g, 30 g de sacarosa y 5 g de carbón activado (CA). El pH se ajustó a 6.5 con NaOH 1 M y se aforó a 1 L con agua destilada, posteriormente se agregó el gelificante (phytagel) y se esterilizó durante 20 min. Antes de vaciar el medio de cultivo a los frascos, se adicionaron 5 ml de cloro comercial por cada litro de medio, este proceso se llevó a cabo en la campana de flujo laminar previo a la siembra del material vegetal, manteniendo agitación moderada para evitar la precipitación del CA.

Los medios de cultivo evaluados durante este estudio fueron diseñados con base al tipo de explante utilizado para la propagación de *C. macrobulbon*. Se diseñaron 5 medios de cultivo, cuyo contenido se describe en la Tabla 1.

CLAVE	MEDIO
M1	Medio basal: MS con 30 g de sacarosa, sin RC.
M2	Medio MS con 0.5% de CA, 30 g de sacarosa y sin RC.
MD1	Medio MS con 0.5% de CA, 30 g de sacarosa y 10 mL de agua de coco.
MD2	Medio MS con 0.5% de CA, 30 g de sacarosa, 40 g/L de extracto de manzana y 40 g/L de extracto de plátano.
MDK	Medio MS con 0.3% de CA, 30 g de sacarosa, 10 mL de agua de coco y 10 mL de KNO <sub>3</sub> al 1%.

**Tabla 1** Composición de los medios de cultivo utilizados para el cultivo *in vitro* de *C. macrobulbon*

El pH de los medios de cultivo se ajustó a 6.5 y se aforó a 1 L con agua destilada y se le agregó el gelificante (phytagel), posteriormente se fundió en la parrilla eléctrica durante 5 min y se esterilizó.

### Asepsia del material vegetal y selección del explante

Para iniciar el cultivo *in vitro* se seleccionaron como explantes hojas y cápsulas maduras de *C. macrobulbon*. Los tratamientos de asepsia probados dependieron del tipo de explante utilizado. Para ello, se utilizaron diferentes tratamientos con agentes químicos a distintas concentraciones y tiempos de exposición del explante (AgNO<sub>3</sub> al 10% durante 10 min., e Ca(ClO)<sub>2</sub> al 10% por 10 min y al 8% por 5 min, NaClO al 5% durante 10 min, jabón antibacterial al 20% por 10 minutos, etanol al 70% por 2 min, fungicidas y antibióticos por 45 min).

### Cultivo *in vitro* de semillas de *C. macrobulbon* provenientes de cápsulas

Después de la asepsia de las cápsulas, éstas se abrieron longitudinalmente con ayuda de un bisturí. Las cápsulas se tomaron con las pinzas y las semillas se esparcieron sobre los medios de cultivo M1 y M2. Los frascos de cultivo con las semillas sembradas, fueron cubiertos con tapa de aluminio y sellados con vitafilm. Se evaluó el porcentaje de germinación a los 15, 30, 45 y 60 días de cultivo.

Después de la germinación de las semillas, se evaluó la formación de callo tipo protocormo. Se separaron los protocormos por medio de un bisturí y se sembraron de tres a cinco protocormos en los medios experimentales con ayuda de un asa de micromel. En este experimento los parámetros que se evaluaron fueron el % de germinación, % de oxidación y la cantidad de protocormos obtenidos en un periodo de dos meses con observaciones cada 15 días.

### **Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño experimental al azar, los datos se analizaron con el programa de computación Graph Instat TM V2.02 (pruebas de t de Student y de Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

### **Resultados**

#### **Evaluación del mejor protocolo de asepsia**

El primer paso para establecer el cultivo *in vitro* es contar con un protocolo de asepsia eficaz. La selección de los agentes desinfectantes depende de la procedencia del explante.

Si la planta se recolecta del campo, el 100% de los explantes están contaminados por lo que el proceso de asepsia es más difícil. Los explantes de *C. macrobulbon* utilizados en este trabajo, fueron hojas y cápsulas maduras. Los diferentes explantes de *C. macrobulbon* se lavaron con jabón antibacterial y luego se sometieron al tratamiento de asepsia.

Para la asepsia de hojas se utilizó  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  e  $\text{NaClO}$  al 10% y se comparó la eficiencia de los dos agentes en la desinfección de las hojas. El  $\text{NaClO}$  se seleccionó porque es el desinfectante de primera elección más ampliamente utilizado en el CTV, debido a que ha permitido obtener explantes asépticos en diferentes especies de orquídeas. En cuanto al  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ , se ha descrito su eficiencia en la desinfección de algunas especies vegetales y en menor grado para orquídeas (Pérez et al., 1999).

En la desinfección de los explantes de hoja, se obtuvo una mejor eficiencia en la desinfección con el  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  (63%) en comparación a la eficiencia con la desinfección con  $\text{NaClO}$ , en donde se logró solamente un 37% de desinfección de los explantes. Los explantes que fueron desinfectados con  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  se mantuvieron verdes y turgentes y en general tuvieron una mejor apariencia que cuando fueron desinfectados con  $\text{NaClO}$ . Con el  $\text{NaClO}$ , los explantes fueron dañados y las hojas perdieron su coloración. Santos y Ochoa (1992), consideran que las sales de calcio son menos tóxicas para los tejidos que las sales de sodio, lo cual fue confirmado durante esta investigación.

A pesar de los beneficios del  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ , este reacciona con el dióxido de carbono de la atmósfera y además es químicamente inestable, por lo que se recomienda después del tratamiento de desinfección, eliminar todo el hipoclorito del tejido, porque cantidades trazas interfieren con el consumo de aminoácidos y el metabolismo del explante.

Para el tratamiento de las cápsulas, se probó solamente la desinfección con  $\text{NaClO}$  y se logró una eficiencia en la asepsia de los explantes de un 95%. Como la desinfección de las cápsulas fue superficial y estas se mantenían cerradas, las semillas no sufrieron ningún daño por el cloro, por lo que no fue necesario probar el otro tratamiento de asepsia con hipoclorito de calcio.

### Selección del mejor explante de *C. macrobulbon*

Una vez asépticas las hojas de *C. macrobulbon*, éstas se sembraron en los medios de cultivo M1 y M2, sin embargo, después de 30 días de cultivo *in vitro*, no mostraron ningún cambio morfológico y comenzaron a oxidarse hasta que se presentó la muerte del tejido, esto posiblemente a que el medio no presentaba las condiciones adecuadas, en cuanto a nutrientes para el desarrollo de este tejido.

Por otra parte, las semillas de *C. macrobulbon*, que se sembraron en los medios M1 y M2, se hidrataron a los 8 días y comenzaron a germinar a los 15 días del cultivo. Se ha descrito para diversas especies de orquídeas como las del género *Cymbidium*, que el mejor explante es la semilla, ya que la siembra de semillas *in vitro* permite germinar embriones inmaduros de orquídeas y como consecuencia se puede acortar el ciclo de mejora de estas especies, además la generación y el desarrollo de las semillas es más eficiente en el cultivo *in vitro*, ya que se realiza en un ambiente acondicionado y sin competencia con hongos y micorrizas (Nabila et al., 2003).

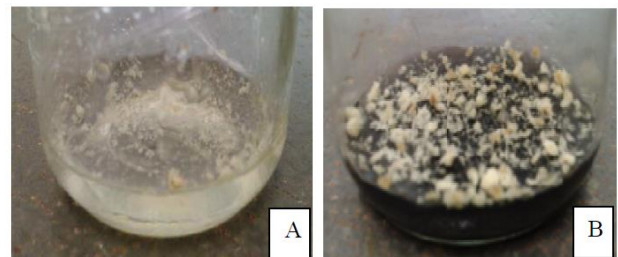
El porcentaje de crecimiento de los explantes se evaluó a los 30 días de cultivo, y se calculó tomando en cuenta el número de cultivos con crecimiento entre el número total de cultivos por 100. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tipo de explante	Crecimiento (%)
Hoja	0
Semillas	95

**Tabla 2** Porcentaje de crecimiento de los explantes de *C. macrobulbon*

### Evaluación del porcentaje de germinación

Se evaluó el medio MS más eficiente para la germinación de las semillas de *C. macrobulbon*, para esto se comparó la germinación en el medio M1 y M2, cada 15 días. Es importante señalar que en ambos medios de cultivo se logró la germinación de las semillas de manera asimbiótica, es decir, sin la presencia de un hongo o micorriza. En la Figura 2, se muestra la apariencia de las semillas de *C. macrobulbon* al inicio del cultivo en el medio M1 y M2.



**Figura 2** Aspecto de las semillas de *C. macrobulbon* al inicio del cultivo A) en medio M1 y B) en medio M2

La germinación de las semillas comenzó a los 15 días del cultivo con el cambio de color de las semillas de amarillo a verde, para los 30 días de cultivo se comenzaron a observar estructuras redondas de color verde y para los 60 días de cultivo se observó la formación de estructuras tipo protocormo.

El mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas sembradas en el medio suplementado con carbón activado (M2), esto debido probablemente a que el carbón activado favorece este proceso al proporcionar oscuridad al medio de cultivo, simulando las condiciones del suelo y permitiendo el buen desarrollo de la semilla. La morfología de las semillas se observa en la Figura 3.



**Figura 3** Morfología de la germinación de semillas de *C. macrobulbon* a los 60 días de cultivo

Los resultados del porcentaje de germinación se presentan en la Tabla 3 y en la Figura 4, donde se representa la media de cada una de uno de los tratamientos (n=50 muestras de cada medio).

Periodo de observación (Días)	Germinación en M1 (%)	Germinación en M2 (%)
15	0.0	0.0
30	5.3	29.0
45	11.4	61.6
60	15.9	87.4

**Tabla 3** Periodo de germinación de las semillas de *C. macrobulbon*

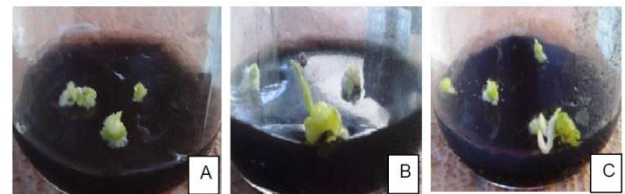
### Evaluación de la formación de protocormos de *C. macrobulbon*

Durante la germinación de *C. macrobulbon* se observaron diferentes etapas morfológicas en las cuales se visualizan cambios en la apariencia, en el desarrollo y en el tiempo de duración.

Estas etapas abarcaron desde la rehidratación de las semillas hasta la formación un color blanquecino de las semillas hasta los 30 días de cultivo, a partir de este tiempo se observó la formación de estructuras globulares denominadas protocormos, los cuales tienen una forma semejante a una elipse, cuyo mayor ancho se ubica en la parte superior.

A los 60 días del cultivo, los protocormos tenían una forma de campana con inicios de una yema apical. Estas etapas son características en especies de orquídeas terrestres (McKendrick, Leake, Taylor y Read, 2000; McKendrick, Leake, Taylor y Read, 2002).

La etapa inicial de la germinación de *C. macrobulbon*, duró aproximadamente 15 días, a partir de este tiempo se observó con forma de campana un brote en la parte superior y se observó también el crecimiento de un rizoma blanco (Figura 4).



**Figura 4** Etapas de la formación de protocormos. A) Formación y alargamiento de los protocormos, B) Crecimiento de un brote en la parte superior del protocormo y C) Formación de un rizoma blanco sobre el protocormo.

Finalmente, en la Tabla 4 se presenta el promedio de protocormos formados cada 15 días durante un periodo de 2 meses de cultivo.

Los resultados mostraron que en ambos medios de cultivo (M1 y M2) se logró la formación de protocormos, obteniéndose un mayor número de protocormos en los medios con carbón activado, esto como ya se mencionó antes, provocado probablemente por el efecto del carbón activado sobre la disminución de la oxidación y por la liberación de sustancias promotoras de crecimiento presentes en el medio o adsorbidas. Con base en estos resultados, todos los medios que se siguieron preparando para los siguientes experimentos, fueron suplementados con 0.5% de carbón activado.

Periodo de observación (Días)	Protocormos en M1 <sup>1</sup>	Protocormos en M2 <sup>2</sup>
15	0.0	0.0
30	0.4	6.5
45	1.5	13.6
60	1.8	20.7

**Tabla 4** Número de protocormos formados durante la germinación de semillas de *C. macrobulbon*.

### Efecto de los suplementos orgánicos sobre la formación de brotes a partir de protocormos de *C. macrobulbon*

Una vez establecidos los cultivos en fase de protocormos, estos se seleccionaron como explantes para lo cual se seccionaron por medio de un bisturí para inducir su multiplicación y se transfirieron a otros medios con suplementos orgánicos (agua de coco y extractos de manzana y plátano) para inducir su diferenciación en brotes.

En experimentos previos, se demostró que el carbón activado ejercía un efecto favorable sobre el desarrollo de los explantes (datos no presentados), se decidió utilizarlo en todos los experimentos subsiguientes. El efecto de la adición de sustratos naturales (agua de coco y puré de manzana y plátano) se evaluó cada 15 días, durante un periodo de 2 meses de cultivo.

Los resultados en cuanto a la formación de brotes a partir de los protocormos en los dos medios de cultivo MD1 y MD2, se presentan en la Tabla 5.

Medio de cultivo <sup>2</sup>	Periodo de observación (Días)	No. de brotes <sup>3</sup>
MD1	15	1 ± 0.5 c
	30	3 ± 1.5 b
	45	5 ± 1.5 b
	60	9 ± 1.5 a
MD2	15	0 ± 0 d
	30	1 ± 0.5 c
	45	2 ± 1.5 c
	60	4 ± 1.5 b

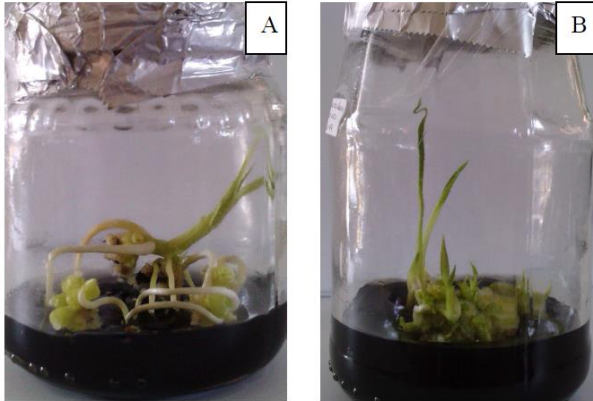
**Tabla 5** Formación de brotes a partir de protocormos de *C. macrobulbon*

Estos resultados demostraron que el medio MD1 que contenía agua de coco, fue el más eficiente para la producción de brotes lo cual indica que el agua de coco es un buen suplemento orgánico para esta especie. Los líquidos presentes en el saco embrionario de algunas frutas, tienen un fuerte efecto promotor del crecimiento de cultivos *in vitro*. El líquido de este tipo más ampliamente utilizado es el agua de coco el cual potencia la actividad de auxinas y citocininas. Cuando se agrega a medios con auxinas, induce la división celular y un crecimiento más rápido, y al ser agregado con citocininas, incrementa la respuesta morfogénica. Cuando el agua de coco se agrega en ausencia de reguladores de crecimiento induce el crecimiento de los explantes y promueve la morfogénesis pero solo al usar altas concentraciones (10-20% v/v) (Fonnesbech, 1972).

El mayor efecto del agua de coco observado en el cultivo *in vitro* de *C. macrobulbon*, fue el incremento de la formación de brotes a un menor tiempo en comparación con los medios con extractos de manzana y plátano, ya que a partir de los 15 días de haber sido cultivados los protocormos en los medios de cultivo suplementados con este compuesto orgánico natural, comenzó la formación de brotes.

Además, los homogenizados de frutas añadidos a los medios de cultivo promueven también el crecimiento, sobre todo en el caso de orquídeas. El efecto promotor de crecimiento de estos extractos no es claro, pero estabilizan el pH del medio, proporcionan minerales y actúan como auxinas o citocinas. El plátano y manzana son las frutas que más se agregan a los medios de cultivo en forma de purés. Entre los componentes de estas frutas se incluyen minerales (Al, Bo, Ca, Cl, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na, S, Zn) (López, 1999). Estos extractos favorecieron también el crecimiento de los brotes de *C. macrobulbon*, aunque en un menor grado que el agua de coco.

En ambos medios se observó la formación de hojas, el incremento de tamaño y la formación de rizomas (Figura 5).



**Figura 5** Desarrollo de los brotes de *C. macrobulbon* en medios de cultivo MD1 y MD2. A) Incremento en el número y formación de rizomas y B) formación de hojas.

Los métodos tradicionales de cultivo para la propagación de plantas con exigencias ambientales únicas y específicas para su reproducción y desarrollo natural o con dificultades de propagación y en peligro de extinción, no producen grandes beneficios o no permiten la producción a grande escala de estos cultivos. Debido a esto el CTV es un método adecuado para la propagación en un menor tiempo y más eficiente, libre de contaminantes y de gran calidad. Por tal razón es importante conocer el valor que tiene el método de CTV y llevarlo a cabo en nuestra región, de tal manera que por medio de esta técnica se produzcan especies vegetales de difícil propagación como es el caso de las orquídeas, y se reintroduzcan a su hábitat natural.

## Conclusiones

Dado el valor de la familia de orquídeas de la Huasteca Potosina, su importancia botánica y científica, y por constituir un componente de la biodiversidad se justifican los estudios encaminados a conservar esta familia de plantas y protegerla de las amenazas ambientales. A través de esta investigación, se establecieron las condiciones adecuadas para el cultivo *in vitro* de *C. macrobulbon*. Se encontró que el mejor explante para la propagación de *C. macrobulbon* fueron las semillas, ya que se logró la germinación *in vitro* sin la presencia de micorrizas y en un período de tiempo relativamente corto. De igual manera se logró establecer el protocolo de asepsia más eficiente para el explante utilizado. Se determinó que el mejor medio de cultivo para la germinación de las semillas y la formación de protocormos fue el MS con carbón activado, ya que evita la oxidación de los tejidos y permite su desarrollo.

En cuanto al desarrollo de brotes se determinó que el mejor medio fue utilizando carbón activado enriquecido con agua de coco. Esto permitió establecer las primeras etapas del proceso de regeneración *in vitro* de *C. macrobulbon*, lo cual permitirá la conservación de esta especie y su multiplicación masiva.

## Agradecimientos

Este proyecto fue realizado bajo el financiamiento del proyecto CONACYT 000205822 INFR-2013-01 y del Fondo de Apoyo a la Investigación 2014-2015 de la UASLP.

## Referencias

- Aguilar, G. (2006). Nutrición de Orquídeas con Énfasis en Cattleyas. Asociación Costarricense de Orquídeas. Costa Rica.
- Ardiiti, J. y Ernest, R. (1993). Micropropagation of orchids. Wiley-Interscience Publication (pp. 682). New York.

- Cabasson, C., Alvard, D., Dambie, D. y Teisson, C. (1997). Improvement of citrus somatic embryo development by temporary immersion. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 50(1):33-37.
- Casells, A.C. (1991). Problems in tissue culture: culture contamination. En Debergh P. y Zimmerman R.H. (Eds.), Kluwer Academic Publishers. The Netherland.
- Castro, D.C. y González, J.I. (2001). Control de condiciones ambientales y medio de cultivo para la propagación de *Eucalyptus grandis* en el sistema de inmersión temporal. *Actualidades Biolog* 23(75): 13-18.
- Debergh, P.C. y Zimmerman, R.H. (1991). Micropropagation: Technology and Application. Kluwer Academic Publishers. The Netherland.
- Debergh, P.C. y Read, P.E. (1991). Micropropagation. Kluwer Academic Publishers (pp. 484). The Netherlands.
- Debergh, P.C., Aitken, C.J., Cohen, D., Grout, B., Von, A.S., Zimmerman, R. y Ziv, M. (1992). Reconsideration of the term vitrification as used in micropropagation. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 30:140-165.
- Diario Oficial de la Federación. (2001). Listado de especies raras, amenazadas, en peligro de extinción o sujetas a protección especial y sus endemismos en la República Mexicana. Tomo CDLII. No.12.
- Dodds, J.H. y Roberts, L.W. (1982). *Experiments in Plant Tissue Culture*. Cambridge University Press (pp. 78-82). Cambridge.
- Eckardt, N.A. (2001). New insights into auxin biosynthesis. *Plant Cd* 13:1-3.
- El-Sayed, Jonojit R. y Nirmalya B. (2002). Rhizome and shoot development during in vitro propagation of *Geodorum densiflorum*. *Scientia horticulturae* vol. 94, No. 1-2:181-192.
- Joshi, A., Janarthnam, B. y Seshadri, S. (2006). Plantlet regeneration from leaf derived callus of *Vanilla planifolia*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 44(2):84-89.
- Kevers, C., Thierry, F., Stasser, R.J., Dommes, J. y Gaspar, T. (2004). Hyperhydricity of micropropagate shoots: a typically stress-induced change of physiological state. *Plant Cell Tissue and Organ culture* 77:181-191.
- López, P.C. (1999). Medios de Cultivo. En Cadmo H.H. (Eds), *Fundamentos Teóricos-Prácticos del Cultivo de Tejidos Vegetales* (pp. 15-19) Roma.
- Macdonald, H. (1997). Auxin perception and signal transduction. *Physiological Plantarum* 100:423-430.
- Marín, J.A. (1993). Micropropagación de especies frutales (pp.56-62).
- Massot, D., Decruse, W. y Gangaprasad, A. (2000). Micropropagation and ecorestoration of *Vanda spathulata*, an exquisite orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Volume 72, Number 2:199-202.
- McKendrick, S. (2000) Manual para la Germinación In Vitro de Orquídeas. Ceiba Foundation for Tropical Conservation.
- McKendrick, S., Leake, J., Taylor D. y Read, D. (2000). Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic plants in nature: ontogeny of *Corallorhiza trifida* and characterization of its mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 145:523-537.
- McKendrick, S., Leake, J., Taylor D. y Read, D. (2002). Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. *New Phytologist* 154(1):233-247.



- Mok, D.W.S. y Mok, M.C. (2001). Cytokinin metabolism and action. *Plant Physiology* 52:89-118.
- Murashige, T. y Skoog, E. (1962). A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiological Plantarum* 15: 473-479.
- Nabila, B., Chen, Y., Liu, X. y Liu, Y. (2003). In vitro plant regeneration from the immature seeds of *Cymbidium faberi*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Volume 81, Number 2. 247-251.
- Navarro, L.E.R., Gil, V.I., Cruz, S.P. y Bastida, T.A. (2001). Botánica e identificación de orquídeas. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994. Lista de especies y subespecies de flora y fauna silvestre terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a protección especial y especificaciones para su protección (pp. 71). México.
- Park, S.Y., Murthy, H.N. y Paek, K.Y. (2000). Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63 (1):67-72.
- Pérez, M.B., Ramírez, E.M., Nuñez, P.H. y Ochoa A.N. (1999). Introducción al Cultivo de Tejidos Vegetales (1er Ed.), Departamento de Procesos Gráficos de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (pp. 9-99). Aguascalientes.
- Pierick, R.L.M. (1990). Cultivo in vitro de las plantas superiores (pp. 324). Madrid. Rayen, P.H., Evert, R.F. y Eichorn, S.E. (1999). *Biology of Plants* (6a Ed.) W.H. Freeman and Company Worth Publishers (pp. 686-693).
- Rivero, M.M. (2007). Cultivo de células y tejidos vegetales. Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
- Romero, G.A. y Carnevali, F. (1999). A Synopsis of the Genus *Cyrtopodium*. *Harvard Papers in Botany*. 4:331.
- Rubluo, I.A. (1990). Aplicaciones biotecnológicas para el rescate de cactáceas en peligro de extinción. *BIOTAM* 14:13-19.
- Saher, S., Piqueras, A., Hellin, E. y Olmos, E. (2005). Prevention of hiperhydricity in micropropagated carnation shoots by bottom cooling: implications of oxidative stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 81: 149-158.
- Salazar, C.G. (2006). *C. macrobulbon*. Asociación Mexicana de orquideología, A.C.
- Salgado, G.R. (1998). Nutrición vegetal. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas
- Salgado, G.R., Díaz, D. y Espinoza, J.C. (1997). Las Técnicas de Cultivo de Tejidos Vegetales y su Aplicación Biotecnológica (pp. 11-14). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Santos, D.M.S. y Ochoa, A.N. (1992). Cultivos de tejidos Vegetales y Variación Somoclonal. Tecnología y Ciencias Agropecuarias (pp. 1-13).
- Sheehan, T. y Marion, M. (1994). An illustrated survey of orchid genera (pp. 421) Portland, Oregon. USA.

## Catálogo conductual del tepezcuintle *Cuniculus paca* (Rodentia:Cuniculidae) en cautiverio y su relación con el ciclo estral

KOYOC-CRUZ, Manuel\*†, MONTES-PEREZ, Ruben y CENTURION-CASTRO, Fernando

Universidad Autónoma de Yucatán, Calle 60 No. 491-A por 57, Centro, 97000 Mérida, Yuc, México

Recibido Enero 28, 2015; Aceptado Mayo 20, 2015

### Resumen

Objetivos, metodología. Los objetivos fueron elaborar el catálogo conductual del tepezcuintle *Cuniculus paca* hembra y macho en cautiverio, y cuantificar las categorías de conducta que se observaron en cada etapa del ciclo estral. Se aplicó la técnica de muestreo *Ad libitum* durante 186 horas a tres parejas, para elaborar el catálogo conductual. Se aplicaron a tres hembras la técnica de muestreo de barrido instantáneo durante 2003 horas y citología exfoliativa vaginal cada tres días durante tres meses, para cuantificar las categorías de conducta en cada una de las etapas del ciclo estral.

Contribución. Se describen 87 pautas de conducta, contenidas en las siguientes categorías: alimentación, locomoción, descanso, arreglo, eliminativo, manipulativo, comodidad, juego, agonístico, sexual e inducido. Se determinaron siete ciclos estrales completos en las tres hembras, cuyas duraciones aproximadas fueron de 36 a 51 días. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en la distribución de categorías de conducta entre las etapas de estro y diestro en todas las hembras y machos, también se observó que solamente en la etapa de estro aparecieron pautas de las categorías sexual y agonístico..

***Cuniculus paca*, catálogo conductual, cautiverio, ciclo estral.**

**Abstract**

Objectives, methodology. The objectives were develop behavioral catalog of male and female tepezcuintle *Cuniculus paca* in captivity, and quantify the categories of behaviour in each stage of the estrous cycle. *Ad libitum* sampling techniques was applied for 186 hours to three couples, to develop behavioural catalog. It was applied to three females Instant scanning technique in 2003 hours and vaginal exfoliative cytology every three days for three months in order to quantitate behavioural categories in each stages of the estrous cycle. Contribution. Feeding, locomotion, rest, arrangement, eliminative, manipulative, comfort, play, agonistic, sexual and induced 87 behavior patterns contained in the following categories are described. Seven full estrous cycles were determined in three females, whose durations were approximate 36-51 days. Significant differences ( $P < 0.05$ ) in the distribution of categories of conduct between the stages of estrus and skilled in all females and males were found, was also observed only at the stage of estrus were patterns of sexual and agonistic categories. Generally females and males behave similarly in terms of the manifestation of behavioral categories.

***Cuniculus paca*, behavioral catalog, captivity, estrous cycle.**

**Citación:** KOYOC-CRUZ, Manuel, MONTES-PEREZ, Ruben y CENTURION-CASTRO, Fernando. Catálogo conductual del tepezcuintle *Cuniculus paca* (Rodentia:Cuniculidae) en cautiverio y su relación con el ciclo estral. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales 2015, 1-1: 43-67

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: mperez@uady.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

El catálogo conductual del tepezcuintle (*Cuniculus paca*), se ha descrito de manera incompleta, y se han utilizado para ello diferentes métodos y categorías conductuales (Kraus *et al.*, 1970; Aguirre y Fey, 1981, Matamoros 1982), los trabajos de Cromberg *et al.*, 1997 y Sabatini *et al.*, 2001, describen las principales pautas de conducta de *C. paca* en cautiverio.

Kleiman (1974) hace referencia sobre pautas generales en los histricomorfos sin profundizar en el tepezcuintle, tampoco confecciona un catálogo conductual para esta especie. Sabatini *et al.* (2001) brinda información suficientemente completa del etograma del *C. paca*, pero ningún reporte existe actualmente sobre las pautas de conducta que se relacionen con la actividad reproductiva. En este sentido es útil reconocer las pautas relacionadas con la etapa de estro o diestro del ciclo estral, porque facilitaría la detección de ciclicidad ovárica de hembras reproductivamente activas de aquellas que presentan anestro (Hafez y Hafez, 2002).

Los objetivos de este trabajo fueron: describir el catálogo conductual de tepezcuintles en cautiverio, y determinar la frecuencia de las categorías de conducta en cada etapa del ciclo estral de la hembra.

## Metodología

El estudio se efectuó de marzo a septiembre en la Unidad para la conservación y manejo de la vida silvestre Xmatkuil de la Universidad Autónoma de Yucatán, localizada a 51° 20' Norte y 89° 36' 55" Oeste a 10 msnm.

El clima predominante en la región está clasificado como tropical subhúmedo (Awo), con una estación de lluvia que comprende los meses de Mayo a Octubre, la precipitación pluvial promedio es de 984 mm/año; la temperatura ambiental promedio es de 26.8 °C y la humedad relativa del 80% (Duch 1988).

Cuatro ejemplares en estudio fueron obtenidos desde hace un año de otro zocriadero, y otra pareja más nació en éste, de manera que todos los ejemplares estaban acostumbrados a permanecer en confinamiento.

Se efectuaron observaciones nocturnas en seis tepezcuintles dispuestos en parejas: las parejas uno y tres de animales adultos, tuvieron pesos que variaron entre 6 y 7 Kg y una de jóvenes con pesos entre 4.5 y 5 Kg (parejas dos). Los ejemplares se confinaron en corrales de 9 m<sup>2</sup>, contruidos con malla ciclónica, techo de lámina galvanizada, piso de cemento dotados cada uno de un comedero, un bebedero, una pileta para baño y una madriguera de 0.49 m<sup>2</sup> de superficie. Los animales recibieron una dieta a base de frutas frescas de la localidad (papaya, naranja, pepino, calabaza, camote) en cantidad de 1.5 Kg por animal, además del aporte diario de agua para beber. Los corrales fueron aseados diariamente y tanto el agua para beber como el alimento fueron cambiados diariamente.

Los tepezcuintles fueron sometidos a un periodo de adaptación a la luz (540 horas totales), durante un mes y medio (de enero a febrero) con focos encendidos de 12 voltios, los primeros quince días con baja intensidad luminosa y el resto con alta intensidad (focos de 60 watts). El periodo con iluminación artificial duró 12 horas diarias, de 18:00 pm a 6:00 am del siguiente día. En total se aplicaron 23 horas de iluminación (12 horas de luz artificial y 11 horas de luz natural).

Se confeccionó el catálogo conductual mediante observaciones nocturnas por el método *Ad libitum* (Martin y Bateson, 1986) cada dos días a las tres parejas al mismo tiempo durante 186 horas. En la segunda parte se efectuaron nuevamente observaciones y toma de registros para las mismas tres parejas, se utilizaron dos técnicas simultáneamente: muestreo de barrido instantáneo y citología exfoliativa vaginal.

El tiempo empleado para la pareja uno fue de 761 horas, para la pareja dos 690 horas y la pareja tres 552 horas. En total para la segunda parte del trabajo se emplearon 2003 horas. Las observaciones se realizaron por la misma persona y únicamente cuando los animales se encontraron fuera de su madriguera.

Las manifestaciones conductuales se describieron e incluyeron en alguna de las siguientes categorías, según su función de acuerdo a Vaz-Ferreira (1984): Alimentación, Locomoción, Sexual, Arreglo, Eliminativo, Manipulativo, Descanso, Comodidad, Juego, Agonístico e Inducido. Adicionalmente, se describieron pautas de conducta de tipo Inducidas, definidas como la reacción de los animales provocadas por la presencia del hombre dentro del corral.

Se tomaron muestras citológicas vaginales diurnas cada tres días, de cada una de las tres hembras, durante los meses de mayo a septiembre de 1998. Las células vaginales recolectadas fueron colocadas en laminillas portaobjetos, fijadas con alcohol absoluto y teñidas con colorante de Wright. Las laminillas fueron observadas al microscopio y se contaron 100 células, las cuales fueron identificadas y clasificadas en porcentajes según los criterios de Fierro y Morales (1995) para determinar las etapas de proestro, estro, metaestro y diestro.

En estos mismos meses se tomaron registros conductuales a las tres parejas de tepezcuintles, con el método de muestreo de barrido instantáneo a intervalos de 20 segundos, durante el horario de 17:30 pm a 00:30 am y de 2:00 a 5:30 am.

Los registros totales de las categorías de conducta (Alimentación, Locomoción, Sexual, Arreglo, Eliminativo, Manipulativo, Descanso, Comodidad, Juego y Agonístico) fueron agrupados por cada individuo del mismo sexo y por cada etapa del ciclo estral (estro, metaestro, diestro y proestro) para posteriormente efectuar los análisis estadísticos.

Se utilizó el contraste de Friedman para comparar los registros totales de las categorías de conducta en cada etapa del ciclo estral para machos y hembras, cuando se presentó diferencia significativa, se aplicó la comparación múltiple de Dunnett para contrastar las etapas de estro vs diestro. También se contrastaron los registros de conducta entre los tres machos y entre las hembras, mediante la misma prueba de Friedman y Tukey, cuando éste último procedió (Milton, 2001).

## Resultados

Se registraron 87 pautas de conducta, clasificadas en once categorías. En la tabla 1 se enlistan las pautas de conducta del *Cuniculus paca* en condiciones de cautiverio, están agrupadas de acuerdo a sus categorías correspondientes. En el anexo 1 se describen cada una de las pautas enlistadas.

La longitud del ciclo estral no pudo ser determinado con precisión debido a que no se realizó diariamente la toma de frotis vaginales; sin embargo, se determinó una variación entre 33 y 51 días, que también fue reportado por Montes y Cabrera (2006).

El estro mostró duraciones de 3 a 6 días, el metaestro de 6 días, el diestro de 21 a 33 días y el proestro de 3 a 6 días.

La pareja 1 presentó tres ciclos estrales y las parejas 2 y 3 dos ciclos cada una. La tabla 2 muestra la cantidad y porcentaje de registros totales para cada una de las categorías de conducta en cada una de las hembras. Se encontró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en las cantidades de registros entre las hembras, la comparación múltiple de Tukey mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las hembras adultas 1 y 3.

La tabla 3 muestra el total de registros y sus respectivos porcentajes, para cada una de las etapas del ciclo estral en las tres hembras. El contraste de Dunnett mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en los registros de conducta en las hembras entre las etapas de estro vs diestro.

La tabla 4 muestra los registros totales y sus respectivos porcentajes, para cada una de las categorías de conducta en cada macho, durante el periodo de observación. Se encontró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre los registros de los machos adultos 1 y 3.

La tabla 5 muestra el total de registros de los tres machos, para cada una de las etapas del ciclo estral de sus correspondientes hembras. Se encontró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en los registros de conducta en los machos entre las etapas de estro vs diestro. Se observa claramente que las pautas ubicadas en las categorías sexuales y agonísticas solo aparecen en la etapa de estro en las hembras, los machos no manifestaron pautas en la categoría agonístico.

Los rasgos generales del comportamiento del tepezcuintle en condiciones de cautiverio previamente documentado (Kraus *et al.*, 1970; Matamoros y Pashov, 1984; SanVicente, 1995; Smythe, 1987; Smyhte 1991; Matamoros, 1982; Viveros, 1991; Sabatini *et al.*, 2001), coincide con varias pautas de conducta observadas en este trabajo, tales como la forma de alimentarse, de arreglarse, descansar y cortejo; pero no se registraron conductas parentales, debido a que no se incorporaron crías con sus madres. En la categoría de alimentación se observó que los tepezcuintles comparten con sus compañeros de encierro el alimento disponible. Éste fue ingerido dentro o fuera de la pileta de los alimentos o dentro o fuera de la madriguera manifestándose siempre un orden durante la ingesta, determinado por la apetecibilidad del alimento (Kraus *et al.*, 1970; Matamoros, 1982; Sanvicente, 1995; Sabatini *et al.*, 2001). Un orden semejante durante el consumo de alimento se ha observado en el capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), ya que estos individuos continúan ingiriendo del mismo tipo de alimento hasta que se acaba (Lord, 1994). Se observó que la preferencia de los alimentos está en función del contenido de azúcares, de manera que los frutos dulces son los principalmente consumidos (Matamoros, 1982; Montes y Mendez, 1997). Por otra parte, el alimento fresco fue preferido en vez del rezagado, debido probablemente a su consistencia, tal como ha sido mencionado por otros autores (Gallina, 1981; Kraus *et al.*, 1970; Viveros, 1991). Sin embargo, se ha registrado que en ejemplares silvestres, no utilizan las manos ni el hocico, sino que ingieren el alimento en el lugar donde lo encuentren (Collet, 1981). En este sentido, la ubicación de los lugares donde los animales prefieren alimentarse, parece estar directamente relacionado con la protección que ofrece el sitio escogido.

Las diferentes posturas que adopta un individuo al alimentarse, al parecer dependen de la ubicación, disposición, tipo de alimento y de la necesidad fisiológica de los individuos, reflejada a través de la demanda del consumo (Arnold, 1985). Esta especie ingiere pequeñas cantidades de agua debido a que satisfacen sus requerimientos hídricos con el jugo de las frutas servidas como alimento (Kraus *et al.*, 1970). Los ejemplares jóvenes son los que más realizan actos comprendidos en la categoría de juego, debido a que les permite un buen desarrollo físico y para perfeccionar el comportamiento agresivo ó para evitar a los depredadores (Campan, 1990, Carson, 1985; Smythe, 1987; Manning y Stamp, 1992). Se observó la manifestación de pautas de conducta pertenecientes a esta categoría ante la presencia de un factor externo al encierro, como la lluvia. Kleiman (1974), menciona que esto último lo ha observado para el género *Dasyprocta*.

Las pautas de conducta relacionadas con la categoría juego ocurren de manera aleatoria en otros géneros tales como *Myoprocta*, *Dasyprocta*, *Octodon*, *Cavia*, *Galea*, *Microcavia* y *Agouti* (Kleiman, 1974), e incluyen movimientos de rotación locomotora (Smith, 1982) evidenciados por saltos verticales, giros corporales, pavonear, torsiones del cuerpo, sacudidas de cabeza y carreras cortas. La realización de estas pautas de conducta, pueden ser más comunes en machos adultos que en hembras, pero son facilitados durante un encuentro en cautiverio. Los ejemplares hembras de los géneros *Dasyprocta* y *Agouti*, realizan actividades de juego en respuesta al olor de la orina del macho sobre su cuerpo (Kleiman, 1974).

Las actividades de juego, de igual manera son intercaladas con pautas relacionadas con la exploración, esto posiblemente para no perder el contexto del medio como una noción innata de protección (Smith, 1982). Los objetos presentes en el encierro (piletas y tronco), no fueron involucrados directamente en las actividades de juego, aunque su presencia condicionó el desplazamiento de los individuos al tener que evitarlos durante las corridas.

En cuanto a las características del juego agresivo, los ejemplares bajo observación manifestaron contactos de juego a través de choques físicos acompañados de reacciones agresivas sin llegar a ocasionarse heridas.

La pauta de conducta correr se manifestó cuando el animal huyó ante la provocación de un estímulo sonoro repentino y externo al encierro (Kraus *et al.*, 1970). Esta pauta se observó durante la ejecución de acciones relativas a la categoría de juego, condicionándose su desarrollo por las dimensiones del encierro. Los tepezcuintles pueden escalar sin problemas sobre objetos verticales (Krasu *et al.*, 1970), esto coincide con lo observado respecto a la facilidad con que estos animales escalan el alambre de malla ciclónica que rodea el encierro.

Esta capacidad de transporte de alimento y de objetos (troncos, piedras) de un lugar a otro está registrado para varias especies de roedores (Vaughan, 1987), particularmente para el Coypu (*Myocastor coypus*) y para el Mara (*Doliclotis patagonum*) (BOSTID, 1991). Se ha documentado la capacidad de las hembras de tepezcuintle de transportar con el hocico pasto, barro y hojas para la construcción del nido y para el mantenimiento del calor en el interior de la madriguera (Sanvicente, 1995; Smythe, 1991).

Se observó únicamente al ejemplar macho, transportar pasto con el hocico al techo de su madriguera en repetidas ocasiones en la misma noche sin ningún fin aparente, debido a que la actividad sólo incluyó el transporte y posterior abandono de este material. Durante este lapso, la hembra contempló pasivamente la actividad desde el piso del encierro. Las actividades manipulativas en ocasiones fueron combinadas con pautas de conducta pertenecientes a las categorías alimentación y arreglo.

Con relación a la categoría de descanso, se observó que los tepezcuintles siempre utilizan el mismo sitio para dormir (interior de la madriguera), aunque en ocasiones, duermen o dormitan fuera de ésta (Kraus *et al.*, 1970; Matamoros, 1982). Estos períodos de descanso tuvieron un lapso corto de duración, debido a que el sujeto que realizaba la acción se alimentaba de nuevo o cambiaba a otra posición más relajante como dormir o dormir.

Se observó que en el interior de la madriguera, los tepezcuintles buscan tener contacto corporal entre sí, acomodando la cabeza sobre el dorso, cuello, vientre o extremidades del compañero. Esto último igualmente ha sido documentado para roedores pertenecientes a los géneros Octodon y Chinchilla (Kleiman, 1974).

El tiempo destinado para descansar, depende del tiempo que no es utilizado para realizar otras actividades tales como alimentarse o desplazarse (Arnold, 1985). Se observó que los tepezcuintles destinan mucho tiempo al mantenimiento de la superficie corporal a través de la higiene cutánea como parte de las actividades pertenecientes a la categoría arreglo.

Estos actos fueron numerosos e importantes en su ocurrencia total por día, constituyendo una proporción significativa de las actividades de mantenimiento ostentándose que el cuidado corporal tiene alta prioridad para la especie en cautiverio (Fraser, 1985, Moyajo y Eguibat, 1995). Estas actividades igualmente tienen una importancia primordial para los capivaras ya que también destinan mucho tiempo a la realización de dichas actividades (Lord, 1994).

Los movimientos de aseo fueron ejecutados de manera ordenada en una dirección rostrocaudal, es decir, empezando con la cabeza, prosiguiendo gradualmente hacia el cuerpo y terminando a nivel de las patas (Moyajo y Eguibar, 1995). Antes de la limpieza facial, se realizó la limpieza de las extremidades anteriores, lamiéndolas (Kraus *et al.*, 1970).

Una secuencia similar de los actos de arreglo se ha registrado para el Coypu (*Myocastor coypus*) y para el mara (*Doliclotis patagonum*), durante la limpieza de la cara (BOSTID, 1991).

Con relación a la categoría comodidad, los tepezcuintles realizaron movimientos de estiramiento al caminar, después del aseo de las manos y después de comer o dormir. Las pautas de conducta pertenecientes a esta categoría, fueron realizadas principalmente antes y después de alguna pauta perteneciente a la categoría de descanso, aunque igualmente fueron combinadas con pautas de conducta pertenecientes a la categoría arreglo. A diferencia de lo observado para las otras categorías de conducta consideradas en este trabajo, los ejemplares incluyen durante la ejecución de las pautas de comodidad, a los objetos presentes en el encierro tales como piletas y el tronco.

Las pautas de conducta pertenecientes a la categoría agonística fueron realizadas únicamente por los ejemplares hembras, solamente durante la etapa de estro de cada ciclo estral registrado. Los sonidos asociados con la conducta agonística incluyen los producidos por los chasquidos con los dientes y el golpeo de las extremidades posteriores y bufidos (Kleiman, 1974). Se observó que las hembras, ante los continuos intentos de monta por parte del macho, primeramente evitaban la acción descendiendo los cuartos traseros a un nivel por debajo del eje del cuerpo y, apresuraban el paso para alejarse del lugar. En ocasiones se observó a las hembras intentar morder al macho en un costado de su cuerpo, cuando éste reintentaba la monta múltiples veces. Al verse agredido, el macho interrumpía la acción y se alejaba del lugar. Esta acción también se ha documentado para los géneros de roedores *Cavia*, *Chinchilla*, *Octodon* y *Erethizon* como consecuencia de que las hembras están reproductivamente aptas pero no receptivas (Kleiman, 1974).

Las pautas de conducta incluidas en la categoría sexual, únicamente fueron manifestadas durante la etapa de estro de cada hembra. Se observó la manifestación de patrones de cortejo típicos de la mayoría de los roedores según Kleiman (1974) y también descrito en *C. paca* (Sabatini *et al.* 2001), tales como olfatear la región genital, contacto naso-nasal, contacto naso-anal y acicalamiento genital. De igual manera, se observó que los machos intentaron continuamente montas sin éxito, ya que la hembra no presentó la postura de receptividad (permanecer inmóvil) para permitir que se realice el apareamiento, y realizaron movimientos de empuje pélvicos catalogados como un comportamiento que hace referencia a la estimulación para provocar respuestas sexuales (Hafez y Hafez, 2002).

Por otro lado, fue evidente el cambio en el comportamiento de ambos ejemplares en las diferentes etapas del ciclo estral, ya que en la etapa de estro, además del aumento de la proporción en la actividad motora y descenso de la actividad de reposo, se observó la manifestación de la categoría sexual y agonística. Ambas categorías incluyen pautas de conducta que son representativas de esta etapa del ciclo estral (Campan, 1990; Hafez y Hafez, 2002; Howell y Kilgour, 1985).

Los patrones conductuales observados con más frecuencia en el macho, consisten en el olfatear y lamer a la hembra, lo cual sugiere que la comunicación química a través del olfato tiene una función importante durante la identificación del estado fisiológico del compañero. Durante la etapa de estro, la hembra emite feromonas que son derivados de hormonas a través de secreciones de las glándulas de la piel u orina e informa al macho acerca de su estado fisiológico (Stoddart, 1976), estas sustancias son detectados por éste a través del bulbo olfatorio o del órgano vomeronasal (Vandenbergh, 1994; Neill, 2006).



Este mecanismo probablemente sea el que se presenta en la etapa de estro en las tepezcuíntles hembras, por lo que se observa una tendencia en el aumento de las manifestación de pautas de conducta pertenecientes a la categoría locomoción en ambos ejemplares de cada pareja, observándose a la vez, y de acuerdo a lo mencionado por Vaz-Ferreira (1984), una tendencia a disminuir los porcentajes de presentación de las pautas de conducta pertenecientes a la categoría descanso, cuyos porcentajes son más altos en las etapas de proestro, metaestro y diestro, este argumento está apoyado por la diferencia significativa encontrada en la distribución de categorías de conducta entre la etapa de estro vs diestro, tanto para las hembras como para los machos, incluso en los machos la proporción de pautas ubicadas en la categoría sexual son mayores que las manifestadas por la hembra. Este rasgo es característico en la mayoría de los mamíferos, el macho no castrado y sexualmente activo funciona como animal señalador de alguna hembra en estro, debido a que por la acción hormonal de los testículos a través de la secreción de testosterona y su acción sobre el encéfalo, conduce a que tenga un papel activo en la cópula, de manera que la hembra solo participa pasivamente, a través de permitir la cópula (Hafez y Hafez, 2002).

La ejecución de intentos de los machos para copular con las hembras fue evidente en la etapa de estro, sin embargo, la no receptividad de éstas no permitió la culminación del acto.

El rechazo a la cópula por parte de la hembra durante el estro, posiblemente se debió a que las condiciones prevalecientes en el encierro no fueron las propicias, por la falta de una pileta lo suficientemente grande para permitir la cópula de ambos ejemplares dentro del agua, lo cual coincide con lo reportado por Matamoros (1982), cuando menciona que en los criaderos que no tiene piletas que permitan la entrada de los animales al agua, no hay reproducción.

Esto también está relacionado con lo informado por Hafez y Hafez (2002), al indicar que el comportamiento sexual anormal, como sería la evasión de la monta, puede deberse a factores genéticos, perturbaciones en los sistemas endocrino o nervioso, o a un manejo deficiente de los animales. Este mismo autor menciona que las reacciones sexuales inadaptadas son más frecuentes entre los animales domésticos y en silvestres bajo condiciones de cautiverio que en el medio silvestre.

La manifestación de las pautas agonísticas evidenciadas por la hembra de la pareja de ejemplares jóvenes, puede tener otra causa, tal y como menciona Templeton (1975), para conejos jóvenes quienes al no haber alcanzado todavía la madurez sexual son incapaces de realizar una secuencia completa de cópula.

Finalmente, existe la posibilidad de que la hembra que manifiesta rechazo hacia su pareja cuando éste intenta la monta, se debe a que ésta se encontraba en un estado de estro silencioso, en el cual la ovulación no va acompañada de manifestaciones externas de estro (Galina *et al.*, 1996).

Son varias las condiciones que inducen una ovulación sin estro, una de éstas podría ser la presencia de luz artificial nocturna en los períodos de observación, lo que produciría alargamiento del intervalo de horas luz o fotoperíodo. Es conocido que varias especies de roedores tienen sensibilidad al fotoperíodo, por ejemplo, el hamster dorado (*Mesocricetus auratus*) exhibe actividad reproductiva en ambos sexos, cuando se incrementa el período de horas luz (Elliot, 1976). En bovinos como *Bos indicus* se observa una mayor proporción de estros silenciosos durante el invierno, que es cuando disminuye el fotoperíodo (Cupps, 1991; Neill, 2006).

En el presente trabajo, el período de horas-luz a la que se sometió a los animales durante el registro se alargó a 23 horas, lo cual pudo propiciar una disminución de la sensibilidad de los estrógenos ováricos a los centros cerebrales involucrados en la manifestación del estro normal (Hafez y Hafez, 2002). Las pautas de conducta de la categoría inducida fueron manifestadas únicamente ante la presencia de alguna persona dentro del encierro como parte de las acciones que realizan ambos ejemplares (hembra y macho) al mismo tiempo para proteger su territorio. En el caso de los gruñidos estos fueron con mayor intensidad y visiblemente dirigidos hacia el cuidador. Es importante destacar que estas pautas sólo se manifestaron durante el día al momento en el que fueron limpiados los corrales. La similitud en cuanto a la frecuencia de aparición de cada categoría de conducta en cada una de las etapas del ciclo estral de cada pareja, se debió a que ambos ejemplares de la misma pareja realizaron pautas de conducta incluidas en la misma categoría, durante aproximadamente el mismo tiempo. No obstante se sabe que los ejemplares de esta especie son solitarios en condiciones de vida silvestre (Matamoros, 1982; Sanvicente, 1965; Gallina, 1981; Collet, 1981). Se observó en cautiverio, que ambos individuos tienden a realizar las mismas actividades al mismo tiempo; sin embargo, la diferencia entre los registros de los machos 1 y 3 así como sus respectivas hembras (1 y 3), indica que existen diferencias individuales que se muestran en las cantidades de registro, pero no en los porcentajes relativos, situación que no altera las tendencias de distribución de los porcentajes de aparición de las categorías de conducta por pareja y por cada etapa del ciclo estral.

Es importante notar que las diferencias que aparecen en parejas de animales adultos, cuyos pesos son similares (entre 6 y 7 kg) discrepa con lo esperado, pues se reconoce que la diferencia cada vez mayor en el peso de los animales marca grados distintos de desarrollo corporal y por lo tanto del nivel de actividad diaria (Von Bertalanffy, 1993), por el momento no es posible explicar la naturaleza de esta diferencia.

### Anexos

Categoría	Pauta de Conducta
Alimentación	Alimentación parado, alimentación agachado, alimentación, descansando, alimentación a través de la pila, alimentación apoyado en la pila, masticar, beber agua
Eliminativo	Defecar, orinar
Locomoción	Caminar, correr, quieto parado, quieto agachado, brincar, apoyarse en muro de encierro, apoyarse en el alambre.
Descanso	Descansar extendido recto, descansar extendido de costado, dormir extendido de costado, dormir extendido recto, dormir de costado, dormitar extendido recto, dormitar de costado, dormitar agachado.
Comodidad	Estirar levantándose, estirarse agachado, estirarse caminando, estirarse apoyado del muro, estirarse extendido de costado, estirarse saliendo de la pila, estirarse entrando a la pila, bostezar, acurrucarse.
Agonístico	Morder, rechazar

Sexual	Intento de monta, olfateo de genitales propios, olfateo de genitales ajenos, lamarse genitales, contacto naso-anal, contacto naso-nasal, movimiento simulatorio de monta, perseguir.
Arreglo	Rascarse costado con mano, rascarse costado con pata, rascarse el dorso, rascarse genitales, rascarse axila con pata, rascarse vientre con la mano, rascarse pata con mano, rascarse con mano apoyado en pila con pata, rascarse mano con pata, rascarse cabeza con pata, rascar el piso, desgastar dientes incisivos, roer tronco, morder alambre, sacudir la cabeza, sacudir la región posterior, sacudir todo el cuerpo, explorar, explorar apoyado con las manos en pila, explorar apoyado con las patas en pila, olfatear en el techo, lamer costado, lamer mano, lamer muslo, lamer región anal, lamer costado ajeno costado, olfatear a compañero, bañarse, limpieza facial con mano.
Manipulativo	Transportar el alimento con el hocico, subir paja al techo de madriguera, cubrir entrada de madriguera con pasto.
Juego	Contacto parados, contacto corriendo, contacto agachados, espasmos corporales.
Inducido	Gruñidos, ladridos, salivar, micción refleja, piloerección, castaño, localización de estímulos, esconderse.

**Tabla 1** Relación de pautas de conducta observadas en *Agouti paca* y asignadas a la categoría correspondiente

### Anexo 1. Descripción de las 87 pautas de conducta del *C. paca* en cautiverio.

#### Alimentación

#### Parado

Con las cuatro extremidades apoyadas en el piso, separadas entre sí y al mismo nivel, se dispone a ingerir de manera completa el alimento o a sujetarlo con las extremidades anteriores o mandíbula superior para extraer con los incisivos de la mandíbula inferior el mesodermo a través de un sólo orificio. En ocasiones, las frutas cortadas son volteadas hacia en suelo, hacia el lado del corte, para practicarles el procedimiento descrito. Cuando no son volteadas, las piezas son consumidas del interior hacia la periferia sin utilizar las extremidades anteriores para manipular el alimento. Pueden emitirse gruñidos esporádicos. Esta misma postura puede ser adoptada en el interior de la pila del alimento. Después de la pauta de alimentarse agachado, ésta es la pauta comúnmente adoptada para alimentarse.

#### Agachado

Cuando localiza el alimento, lo olfatea y si lo acepta retrae los cuartos traseros, apoyando totalmente la región caudal en el piso, manteniéndose apoyado oblicuamente con las manos extendidas hacia el frente y el dorso encorvado. Dirige el hocico hacia el alimento pudiéndose ayudar con las manos para manipularlo según el tamaño del bocado a ingerir. Esta misma postura puede realizarse en el interior de la pila del alimento y es la comúnmente adoptada para ingerir el alimento, tanto fuera como dentro de la madriguera.

#### Descansando

Con algún costado en contacto total con el piso, las extremidades posteriores se mantienen extendidas de manera perpendicular al cuerpo mientras que las anteriores son extendidas hacia el frente o encogidas hacia la parte ventral.

Con la cabeza suspendida, toma el alimento directamente del piso del encierro. Para esta acción, puede o no ayudarse de las manos para manipular el bocado a ingerir.

#### A través de la pila

Con el costado posterior del cuerpo fuera y la parte anterior dentro del recipiente del alimento, ingiere su comida. Las patas y manos están apoyadas, al mismo nivel, en el piso del encierro y en el piso del recipiente, respectivamente. No hay contacto alguno de la parte ventral del cuerpo con el borde del recipiente ya que el dorso es mantenido encorvado. La cabeza es mantenida levantada pudiendo dirigirla hacia cualquier dirección. Pueden emitirse gruñidos durante la ejecución de esta pauta.

#### Apoyado en la pila:

Pauta parecida a la anterior, con la diferencia de que el individuo apoya completamente la región ventral (anterior ó posterior) en el borde del recipiente del alimento. La región anterior del cuerpo puede estar dirigida hacia adentro ó hacia afuera de dicho recipiente.

#### Masticar

Parado quieto o descansando extendido recto, tritura múltiples veces el alimento que mantiene en su boca. La acción es realizada después de haber ingerido grandes cantidades de alimento.

#### Beber agua

Parado o agachado frente al contenedor de agua, dirige la cabeza hacia éste, introduce el hocico en él, absorbe y traga su contenido.

#### Eliminativo

##### Defecar

Pauta realizada dentro del recipiente destinado para tal efecto o en un mismo rincón del encierro. El individuo que realiza la acción, separa y flexiona las patas, esto ocasiona que la región posterior del cuerpo adquiera un nivel inferior con relación a la región anterior (las hembras alcanzan un nivel más inferior que los machos). Las manos y las patas están separadas entre sí y al mismo nivel, la cabeza es dirigida al frente o hacia algún costado, los ojos pueden entrecerrarse momentáneamente y pueden emitirse gruñidos.

##### Orinar

La postura adoptada por el individuo que realiza la acción es básicamente la misma que la acción de defecar. No se observó diferencia en la postura corporal entre hembras y machos.

#### Locomoción

##### Caminar

Con al menos dos miembros en contacto con el piso, la cabeza se balancea rítmicamente con el desplazamiento alternativo de los miembros.

##### Correr

Pauta ejecutada como parte de las actividades de juego por ambos ejemplares del mismo encierro. Los recipientes presentes dentro del encierro son evadidos durante la manifestación de este acto.

##### Quieto parado

Con sus cuatro miembros apoyados en el piso se mantiene sin realizar movimiento de algún tipo. La cabeza está dirigida hacia al frente a un nivel inferior de la altura máxima del cuerpo, los ojos pueden ser cerrados completamente por un instante.

Puede o no emitirse gruñidos durante la realización de esta acción.

#### Quieto agachado

Pauta semejante a la de alimentación agachado. La cabeza está dirigida hacia el frente a un nivel inferior a la altura máxima del cuerpo, las manos están separadas entre sí y al mismo nivel. Puede emitirse gruñidos y dormir durante la realización de esta pauta de conducta.

#### Brincar

Salta bruscamente de manera vertical (impulsado con ambas extremidades pudiendo alcanzar hasta 20 cm de altura) u horizontal hacia el frente. Este movimiento puede cambiar o no la posición original del sujeto. La pauta de conducta se realiza desde la postura quieta parado, caminar o correr.

#### Apoyarse en muro del encierro

Se acerca caminando al punto de apoyo (muro que rodea al encierro), se levanta sobre sus extremidades posteriores (las cuales están separadas entre sí y al mismo nivel) y se apoya con los cojinetes de las manos (mantenidas separadas entre sí y al mismo nivel) en el muro. Cuando el ejemplar está apoyado, el cuerpo adopta una posición oblicua respecto al suelo. Por lo que, el dorso es mantenido ligeramente arqueado y la cabeza puede ser dirigida hacia cualquier costado.

#### Apoyarse en el alambre

El animal se levanta sobre sus extremidades posteriores en el muro que rodea al encierro o desde el techo de la madriguera, y se apoya con las extremidades anteriores del corral. El dorso es mantenido ligeramente arqueado.

#### Descanso

##### Descansar extendido recto

Se mantiene todo el vientre en contacto con el piso, las manos como las patas están extendidas longitudinalmente sobre el piso hacia el frente y hacia atrás, respectivamente. Las patas se mantienen separadas entre sí con los cojinetes dirigidos hacia arriba, en tanto que las manos pueden estar juntas, separadas o encimadas, con los cojinetes volteados hacia el suelo. La cabeza puede mantenerse reposando sobre las manos o a un lado de éstas sobre el piso, o estar suspendida pudiendo incluso desplazarse hacia cualquier costado. En esta postura el ejemplar puede emitir gruñidos e incluso dormir.

##### Descansar extendido de costado

Mantiene un costado del cuerpo, las manos y las patas en contacto total con el piso del encierro. Ambas extremidades son mantenidas juntos entre sí (uno sobre otro) y perpendiculares al eje principal del cuerpo. La cabeza, mantenida en contacto con el piso en la región del arco cigomático, es ubicada perpendicularmente a la posición de las manos.

##### Dormir extendido de costado

En la misma postura de la pauta de conducta descansar extendido de costado o descansar extendido recto, el individuo cierra los ojos y se mantiene inmóvil.

##### Dormir extendido recto

En la misma posición de la pauta descansando extendido recto, el individuo cierra los ojos y se mantiene inmóvil.

#### Dormir de costado

En la posición de descansando de costado, el individuo cierra los ojos y mantiene arqueado el cuerpo hacia adentro por lo que las manos y patas pueden llegar a tener contacto entre sí. Si este no es el caso, las manos se mantienen juntas (perpendiculares al eje del cuerpo) o separadas (oblicuas al cuerpo) y las patas se mantienen encimadas y perpendiculares al eje del cuerpo. La cabeza puede ser dirigida, hacia adentro, colocando el hocico entre ambas manos, o mantenida paralela al eje del cuerpo. Esta posición es la adoptada frecuentemente para dormir.

#### Dormitar extendido recto

En la misma posición de la pauta descansando extendido recto, el individuo entrecierra los ojos y se mantiene estático. Esta postura es cambiada por la pauta dormir extendido recto.

#### Dormitar de costado

En la misma posición de descansando extendido de costado, el individuo entrecierra los ojos y se mantiene inmóvil.

#### Dormitar agachado

En la misma postura que la pauta de conducta quieto agachado, conserva entrecerrados los ojos y se mantiene estático.

#### Comodidad

#### Estirar levantándose

Parado o caminando, adelanta (manteniéndola suspendida o apoyada en el piso del encierro) y extiende ambas extremidades (primero de una y después la otra). Acabado este movimiento, ambas manos son regresadas a su posición original, iniciándose la extensión de cada pata (mantenida suspendida o apoyada en el piso del encierro), lo que ocasiona una ligera curvatura en el dorso del ejemplar.

La cabeza es dirigida hacia el frente y desplazada ligeramente por arriba del nivel del dorso, con un movimiento ascendente. Durante el transcurso de esta pauta de conducta pueden emitirse gruñidos. Esta pauta de conducta es realizada inmediatamente después de despertar o de estar descansando.

#### Estirarse agachado

Agachado el ejemplar dirige el tercio anterior de su cuerpo hacia delante, esto causa que el hocico haga contacto con la parte interna del antebrazo.

#### Estirarse caminando

Pauta semejante a la anterior, con la diferencia de que su inicio precede a la pauta de caminar y puede incluir contacto corporal con el costado del compañero de encierro. Este acto, igualmente es realizado en el techo de la madriguera y al brincar el tronco que se encuentra en el encierro. En este último caso, la región ventral es apoyada sobre el tronco, al momento de que las extremidades anteriores son dirigidas hacia el frente.

#### Estirarse apoyado del muro

Encontrándose apoyado del muro con las extremidades anteriores, el ejemplar desplaza hacia atrás las extremidades posteriores, primero una pata es dirigida hacia atrás y es mantenida extendida al aire, siguiendo a esta acción el mismo procedimiento con la otra pata. Las manos se mantienen extendidas y separadas entre sí. La cabeza es mantenida hacia el frente de manera paralela a las manos. Terminado este acto, el ejemplar se dirige hacia la piletta de los alimentos o se trepa al muro del encierro.

## Estirarse extendido de costado

Desde la posición de extendido de costado, el individuo dirige ligeramente de atrás hacia adelante las manos y de adelante hacia atrás las patas. Ambos miembros están separados entre sí. La cabeza es desplazada horizontalmente de abajo hacia arriba.

## Estirarse saliendo de la pila

Al salir del recipiente del alimento saca las manos y las mantiene extendidas, en contacto con el piso, separadas entre sí al mismo o diferente nivel, a un ángulo menor a noventa grados con respecto a la punta del hocico. Las patas se mantienen juntas o una es suspendida hacia atrás paralelamente al dorso lo que ocasiona que los cojinetes y las garras sean orientados hacia arriba y atrás respectivamente sobre el borde del recipiente. Esto condiciona que el dorso se mantenga encorvado, al adelantarse las manos. La cabeza es mantenida al frente y los ojos entrecerrados.

## Estirarse entrando a la pila

El animal mantiene las extremidades posteriores en contacto con el piso del encierro y las manos apoyadas en el borde del recipiente del alimento o en el de desechos orgánicos. Las manos son mantenidas separadas entre sí y la cabeza es mantenida hacia al frente o desplazada hacia cualquier costado. Con un movimiento alternante, una pata es extendida hacia atrás (a la vez que su cojinete y garras son orientadas hacia arriba y detrás, respectivamente), mientras que la otra pata mantiene el contacto con el piso.

## Bostezar

Parado, agachado o descansando en cualquier modalidad, levanta la cabeza manteniendo el hocico a un nivel más alto que el eje horizontal del cuerpo y abre la boca dejando ver sus incisivos. El cuello se mantiene rígido. Esta pauta de conducta puede manifestarse antes o después de que el individuo despierte o se disponga a descansar, dentro o fuera de la madriguera, después de alimentarse o de beber agua.

## Acurrucarse

El ejemplar se acerca a un lugar del encierro (muro, madriguera, recipiente de alimentos o al otro individuo) y se agacha sobre sus extremidades posteriores. Las manos son colocadas ventralmente debajo del cuerpo, que es mantenido completamente en contacto con el piso del encierro. Se presenta piloerección en todo el cuerpo. Esta pauta de conducta se manifestó cuando la temperatura ambiental donde se localizaron los ejemplares, fue de aproximadamente 12 grados centígrados.

## Agonístico

## Morder

Se manifestada generalmente cuando ambos individuos comen la misma porción de alimento. El animal dirige su cabeza con el hocico abierto, hacia el otro ejemplar, intentando morderlo en la boca o en alguna otra parte de la cabeza. Esta pauta de conducta generalmente es acompañada de la emisión de gruñidos y termina cuando el individuo agraviado suelta el alimento y se aleja del lugar o suelta el alimento y toma en su lugar otro pedazo.

**Rechazar**

Encontrándose ambos ejemplares parados cercanamente entre sí, el que realiza la acción dirige su cabeza hacia el compañero hasta tocarlo con el hocico en algún costado del cuerpo. Al momento del contacto, el ejemplar agresor lo empuja con un movimiento de la cabeza de atrás hacia delante, a lo que el individuo agredido reacciona alejándose del lugar. El ejemplar agresor puede emitir gruñidos durante la realización de esta pauta de conducta.

**Sexual****Intento de monta**

Encontrándose ambos ejemplares parados, el macho persigue a la hembra caminando o corriendo. Una vez cerca de ésta, se apoya sobre su cuarto trasero con ambas manos y barbilla. La hembra, al sentir el contacto del macho, lo evita aligerando su paso y bajando su costado posterior al flexionar sus patas. Esto ocasiona que el macho se separe de ella.

**Olfateo de genitales propios**

El animal agachado, dirige su cabeza hacia la región genital, ocasionando un desplazamiento del punto de apoyo a un muslo y dejando sin apoyo a la otra pierna, permitiendo así alejarla del cuerpo hacia arriba, despejando la región genital y favoreciendo el paso de la cabeza para lograr el contacto del hocico con los genitales. Una mano es mantenida siempre en contacto con el suelo mientras que la otra es levantada por encima de la cabeza permitiendo el paso de ésta. Durante esta acción el dorso se arquea.

**Olfateo de genitales ajenos**

Encontrándose quieto parado el ejemplar macho por detrás de la hembra, dirige su nariz hacia la región genital de la hembra hasta lograr hacer contacto.

**Lamerse genitales**

Adoptando una variante de la posición agachada (la diferencia radica en que el punto de apoyo descansa sobre la región lateral de un muslo) y flexionando pronunciadamente el dorso, dirige la cabeza entre las piernas hasta lograr contacto del hocico con su región genital. Una vez alcanzada dicha región, el individuo lame repetidas veces los genitales, ayudado con un movimiento ascendente y descendente de la cabeza. La realización de esta pauta de conducta tiene una duración variable de tiempo (desde algunos segundos hasta cinco minutos, aproximadamente). En el macho, el pene está eréctil y el glande se encuentra expuesto al momento de realizar esta acción.

**Contacto naso-anal**

Ambos ejemplares parados uno detrás del otro, el macho dirigen su nariz hacia la región anal de la hembra, hasta lograr hacer contacto.

**Contacto naso-nasal**

Ambos individuos encontrándose frente a frente, ya sea parados o agachados, se tocan repetidamente el hocico con movimientos laterales y ligeros de la cabeza (se observó que se pueden dar hasta ocho contactos durante la manifestación de esta pauta de conducta). Pueden emitirse gruñidos durante la acción.



## Movimiento simulatorio de monta

El macho encontrándose quieto parado o caminando realiza un movimiento de empuje rítmico de adelante hacia atrás, repetidas veces, con la mitad posterior del cuerpo. Para esto separa ligeramente las extremidades del compás trasero y flexiona ligeramente las patas. Esta flexión produce que dicha región posterior quede por debajo del nivel horizontal del cuerpo de manera temporal. Las manos se mantienen separadas entre sí y al mismo nivel. La cabeza es mantenida hacia el frente con los ojos entrecerrados. Durante esta pauta de conducta puede emitirse gruñidos de manera esporádica. La realización de este acto tiene una duración variable de tiempo (desde 93 segundos hasta 4 minutos con doce segundos).

## Perseguir

El macho camina detrás de la hembra, intentando montarla u olerle los genitales. Ésta evita dicho contacto aligerando el paso. Durante el acto, no se observa persistencia por parte del macho.

## Arreglo

## Rascarse costado con mano

Parado, agachado o descansando, el animal dirige una extremidad anterior hacia el costado del mismo lado, a la zona del cuerpo de donde provenga el estímulo, frota con un movimiento repetitivo hacia atrás y hacia delante. La intensidad del estímulo condiciona la fuerza aplicada durante el rascado ya que este puede ser ligero o intenso. La cabeza es mantenida al frente o dirigida hacia algún costado. El tronco del cuerpo es doblado según sea necesario para alcanzar la región estimulada.

## Rascarse costado con pata

Encontrándose quieto parado, agachado o descansando, el animal dirige una pata hacia el costado del mismo lado de ésta, y ayudado de un movimiento ascendente y descendente contacta la región estimulada rascándola. La cabeza es dirigida hacia el frente o dirigida hacia el costado que es rascado. El tronco del cuerpo es doblado según sea necesario para alcanzar la región estimulada.

## Rascarse el dorso

Estando quieto parado o agachado, dirige una mano hacia la región posterior del dorso o una pata hacia la región anterior del mismo, y ayudado de un movimiento hacia adelante y atrás o de uno ascendente y descendente respectivamente, contacta la región estimulada rascándola. El tronco del cuerpo es flexionado según sea necesario. La cabeza es dirigida hacia el frente o hacia algún costado. La intensidad del estímulo condiciona la fuerza aplicada al rascado.

## Rascarse genitales

Agachado dirige una mano entre las extremidades posteriores hacia la región genital, la cual rasca con las garras; la otra mano es mantenida en contacto permanente con el piso del encierro. La acción de frotado a la que es sometida dicha región puede ser ligera o brusca. La cabeza es mantenida al frente y dirigida hacia un costado o hacia adentro para mirar la región genital. Este acto es realizado en un período corto de tiempo (hasta 46 segundos).

## Rascar axila con pata

Se dirige una pata hacia la parte anterior del cuerpo, haciendo contacto las garras con la base del brazo (axila) del mismo lado, ayudado con un movimiento repetitivo ascendente y descendente. Ambas manos están separadas entre sí al mismo o diferente nivel.

La cabeza es mantenida hacia el frente a la altura del dorso o desplazada hacia algún costado. La parte posterior del tronco es ligeramente descendida respecto al nivel horizontal del cuerpo. El dorso es ligeramente encorvado durante la acción.

#### Rascarse vientre con la mano

Estando parado o agachado, dirige una mano hacia la región ventral, la cual frota, con un movimiento repetitivo hacia adelante y hacia atrás, ayudándose con las garras. Las patas están separadas entre sí y al mismo o diferente nivel. La cabeza es mantenida al frente o dirigida hacia algún costado. El dorso del cuerpo es mantenido recto.

#### Rascarse pata con mano

Quieto parado, el animal flexiona ligeramente la parte anterior y posterior del cuerpo hacia un costado, hasta alcanzar con la mano la pierna del mismo lado, haciendo contacto con las garras y ayudándose de un movimiento de rascado lateral hacia adelante y hacia atrás. La zona de contacto en el muslo puede ser anterior o posterior e inferior o superior dependiendo de la ubicación de la zona estimulada.

#### Rascarse cabeza con pata

El animal parado, dirige una pata hacia la región anterior del cuerpo, con la intención de hacer contacto con la garra en la oreja, la mejilla u hocico. Para lograr esto, el cuerpo es flexionado hacia un costado, según sea necesario y la cabeza es desplazada procurando exponer el área estimulada al alcance de la garra. El movimiento de la pata es de arriba hacia abajo y la fuerza aplicada está condicionada por la intensidad del estímulo.

Rascarse con mano apoyado en pila con pata

Con el cuerpo oblicuamente dirigido hacia afuera del recipiente de alimento, apoyado con ambas patas en el borde de ésta y con una mano apoyada en el piso, dirige la otra mano hacia el mismo costado del cuerpo para rascarse.

#### Rascarse mano con pata

Se dirige una pata hacia la región anterior del cuerpo hasta hacer contacto con la mano del mismo lado. La región de la mano contactada con la garra puede ser anterior ó posterior e inferior ó superior dependiendo del área de donde provenga el estímulo. El cuerpo es flexionado según sea necesario.

#### Rascar el piso

El individuo encontrándose quieto parado, extiende los miembros anteriores hacia delante, adoptando una posición inclinada (de atrás hacia delante) y los retrae rápida y alternativamente, haciendo contacto con las garras en el suelo. Las patas están separadas entre sí y mantenidas al mismo nivel. La cabeza es mantenida hacia el frente.

#### Desgastar dientes incisivos

El individuo en posición de descanso, frota sus dientes incisivos entre sí, desgastándolos por la acción de rozamiento, la boca permanece cerrada y la cabeza puede ser dirigida hacia cualquier dirección. Esta pauta es realizada varias veces en la misma noche, con un período de ejecución variable de hasta cuatro minutos.

### Roer tronco

Muerde repetidamente el tronco (ayudándose con las extremidades anteriores para sujetarlo) desgastando sus dientes incisivos. Esta acción generalmente la realizan ambos individuos al mismo tiempo situados en los extremos del tronco, encontrándose frente a frente o situados uno junto al otro.

Las posturas comúnmente adoptadas para realizar esta acción son descansar agachados y descansar extendido recto.

### Morder alambre

Se dirige la cabeza hacia el alambre que rodea el encierro y lo muerde, permitiendo observar sus dientes incisivos. Durante este acto, el ejemplar se apoya en el muro que rodea al encierro con las manos o se para en él. La acción es realizada por un individuo a la vez y tiene un período corto de duración (hasta tres minutos).

### Sacudir la cabeza

El animal quieto parado, extiende el cuello y dirige la cabeza hacia el frente, horizontalmente al eje superior del cuerpo, la balancea rápidamente y repetidas veces hacia ambos lados. Tanto las patas como las manos están separadas entre sí y mantenidas al mismo nivel.

### Sacudir región posterior

Se balancea rápidamente el tercio posterior del cuerpo hacia ambos lados. La cabeza es mantenida al frente a un nivel inferior al eje horizontal del cuerpo. Las patas pueden estar separadas o juntas entre sí.

### Sacudir todo el cuerpo

Encontrándose parado, balancea el cuerpo comenzando con la región anterior (cabeza y cuello) y terminando con la posterior (muslos y patas). Al ir finalizando la acción se observa un ligero movimiento descendente de la cabeza.

Esta pauta de conducta es realizada después de bañarse o despertar.

### Explorar

Parado, caminando o agachado, el individuo dirige el hocico al suelo (abajo del plano horizontal del cuerpo y hacia adelante) extendiendo el cuello y la cabeza, al alimento (abajo y adelante) o al aire (arriba del plano horizontal del cuerpo), y olfatea el ambiente hasta por 15 segundos.

Explorar apoyado con las manos en pila

Apoyándose con las manos sobre el borde de algún recipiente realiza repetidamente movimientos ascendentes y descendentes con la cabeza con el fin de alcanzar un nivel alto con el hocico. Durante los movimientos ascendentes el individuo inhala y durante los descendentes exhala. Las manos y las patas se mantienen separadas entre sí y al mismo nivel. El cuerpo se arquea ligeramente.

### Explorar apoyado con las patas en pila

El animal se apoya con las patas en el borde de algún recipiente. En este caso, las manos se mantienen separadas entre sí y al mismo nivel, la cabeza sigue el mismo patrón de movimientos que la pauta de conducta anterior, el cuerpo está ligeramente arqueado. Esta acción es realizada para olfatear el aire circundante y no al suelo ó al alimento.

### Olfatear en el techo

Parado o agachado sobre el techo de la madriguera, realiza la misma secuencia de movimientos que la pauta de conducta anterior. Una variante de esta pauta de conducta implica el apoyarse con las manos en el alambre del corral.

## Lamer costado

Parado o agachado, gira la cabeza hacia algún costado del cuerpo y al hacer contacto con éste, se lame el costado con un movimiento repetitivo de abajo hacia arriba. Puede flexionar el cuerpo según sea necesario para alcanzar el área estimulada. También puede cerrar los ojos momentáneamente.

## Lamer mano

Quieto parado, agachado o descansando extendido recto, el individuo dirige la cabeza hacia algún miembro anterior, acercándolo hacia la cabeza. Al hacer contacto con la mano, lo lame repetidamente de adentro hacia fuera, ayudándose con movimientos ascendentes y descendentes de la cabeza. La mano es desplazada según sea necesario para facilitar la acción de lamer.

## Lamer muslo

Descansando de costado, dirige la cabeza hacia la región posterior del cuerpo y lame una extremidad posterior a nivel del muslo, con un movimiento lateral de la cabeza de adentro hacia afuera. Para lograr esto, el cuerpo es flexionado según sea necesario.

## Lamer región anal

Descansando de costado, la cabeza es dirigida hacia la región anal, la cual es lamida repetidamente con un movimiento lateral de la cabeza de abajo hacia arriba. Tanto la mano como la pata que están en contacto con el piso del encierro son mantenidos de manera perpendicular al eje del cuerpo. La otra mano y pata están separadas de su eje de desplazamiento para permitir el paso de la cabeza entre ellos. El cuerpo es flexionado según sea necesario.

## Lamer costado ajeno acostado

Dos ejemplares cercanos tendidos en el piso del encierro, uno dirige su cabeza hacia el cuerpo del otro y al hacer contacto con uno de sus costados, lo lame repetidamente con un movimiento ascendente y descendente de la cabeza. Pueden emitirse gruñidos durante la realización de esta pauta de conducta por uno o ambos ejemplares.

## Olfatear a compañero

Uno de los individuos dirige su cabeza hacia un costado del cuerpo de su compañero y lo olfatea por un lapso corto de tiempo (hasta 9 segundos). Al igual que la pauta de conducta anterior, pueden emitirse gruñidos por ambos ejemplares durante la realización de este acto. La acción es realizada parados o tendidos cercanamente.

## Bañarse

Se sumerge en el recipiente de agua, introduciendo primeramente las manos y la parte anterior del cuerpo, evitando mojar la región de la cara; posteriormente se sumergen las patas y el resto del cuerpo. Una vez con éste dentro del recipiente, el individuo se remoja completamente varias veces. El tiempo de permanencia dentro de la pila de agua puede durar hasta nueve minutos, siendo interrumpido por la intervención del otro ejemplar.

## Limpieza facial con mano

El individuo agachado o parado, dirige una o ambas manos hacia la parte anterior de la cabeza (cara) haciendo contacto en ésta con la parte interna del antebrazo, ayudado con un movimiento repetitivo, ascendente y descendente de las manos. Los cojinetes de estas extremidades son dirigidos hacia la cabeza y desplazados sobre el contorno de la cara, hasta la punta del hocico. La cabeza, al momento del contacto, es desplazada de abajo hacia arriba facilitando la acción de frotado, el tronco es encorvado ligeramente.

Cuando las cuatro extremidades están apoyadas en el piso, una mano es dirigida repetidamente y/o alternadamente hacia la cara, manifestándose la ejecución de los movimientos antes descritos.

#### Manipulativo

##### Transportar el alimento con el hocico

Realizada por un ejemplar para retirar el alimento del recipiente que lo contiene y transportarlo hacia el interior de la madriguera o hacia algún rincón del encierro para ingerirlo. El ejemplar sujeta con el hocico el alimento el cual es transportado completo o en pequeños pedazos.

##### Subir paja al techo de madriguera

El ejemplar sujeta el pasto con la boca y lo traslada al techo de la madriguera, acomodándola sin utilizar las manos y sin un patrón ordenado de distribución. Ambos (o uno a la vez) pueden emitir gruñidos a un intervalo de ocurrencia de tres segundos.

##### Cubrir entrada de madriguera con pasto

Encontrándose ambos individuos en el interior de la madriguera y ayudándose con el hocico, cubren la entrada de ésta con pasto hasta permitir la entrada de la menor cantidad posible de luz. La cantidad de pasto colocada en la entrada depende de la cantidad disponible en el interior de la madriguera.

#### Juego

##### Contacto parados

Un ejemplar se levanta verticalmente apoyado con sus extremidades posteriores, frente al otro manteniendo dobladas las extremidades anteriores a nivel de las manos. En esta postura se aproximan entre sí contactando repetidas veces el hocico, con movimientos laterales de la cabeza la cual es mantenida en posición oblicua con respecto al resto del cuerpo.

Las manos al parecer no tienen algún papel funcional en esta pauta pudiendo servir solo para mantener el equilibrio. El dorso permanece ligeramente arqueado. El despliegue de esta pauta ocurre al encontrarse frente a frente ambos ejemplares. Puede emitirse gruñidos al mismo tiempo.

##### Contacto corriendo

Los individuos al estar corriendo se detienen momentáneamente y buscan hacer contacto entre sí con sus hocicos o con el hocico y alguna otra parte del cuerpo del oponente. No se emiten gruñidos durante la realización de esta pauta de conducta.

##### Contacto agachados

Encontrándose agachados frente a frente ambos ejemplares, buscan hacer contacto con sus hocicos o en alguna parte de la cabeza. Esta pauta es de corta duración ya que el contacto ocasiona que algún individuo pierda el equilibrio y corra fuera del alcance del oponente. Pueden emitirse gruñidos al mismo tiempo.

##### Espasmos corporales

Encontrándose parado, contrae los músculos de la parte anterior ó posterior del cuerpo. Este movimiento va acompañado de un salto que en la mayoría de las veces cambia la posición original del sujeto.

##### Pautas inducidas

##### Gruñidos

Se emite múltiples sonidos intensos ante la presencia de algún extraño en el encierro, se observó que el animal acude al encuentro con el extraño hasta los límites del corral.

## Ladridos

El individuo emite gritos (no aullidos) similares a la del perro pero menos graves, a la vez denota intenciones de atacar al intruso.

## Salivar

Al parecer es una acción involuntaria por parte del individuo que la realiza. Consiste en la secreción abundante de saliva que escurre del hocico.

## Micción refleja

Es otra acción involuntaria que consiste en la excreción de líquido por el meato urinario que es de color blanquecino con un olor intenso y característico de su especie.

## Pilo erección

Los pelos de la parte dorsal, posterior y lateral del cuerpo se erizan, permitiendo observar el color de la piel que protegen.

## Castañeo

Acción similar a rechinar o frotar fuertemente los dientes, lo cual produce un ruido parecido a quebrar semillas dentro del hocico.

## Localización de estímulos

Ante algún sonido en el interior o el exterior a la madriguera, el individuo se mantiene quieto en su posición y posteriormente dirige su mirada hacia la fuente de origen del sonido. Esta pauta va acompañada de repetidos olfateos hacia el sitio de origen del sonido.

## Esconderse

Ante algún sonido muy fuerte la primera reacción es acudir hacia el interior de la madriguera para posteriormente salir.

Categoría de conducta	Hembra1(*)	Hembra 2	Hembra 3(*)
Alimentación	24961 (36.5)	21950 (35.65)	17863 (35.81)
Descanso	24646 (36.04)	17806 (28.91)	17434 (34.95)
Locomoción	12975 (18.97)	10568 (17.16)	9288 (19.22)
Arreglo	3955 (5.78)	4332 (7.03)	3621 (7.26)
Eliminativo	691 (1.01)	696 (1.13)	621 (1.24)
Manipulativo	508 (0.74)	471 (0.76)	658 (1.32)
Comodidad	61 (0.09)	57 (0.09)	53 (0.11)
Juego	379 (0.55)	5542 (9.0)	191 (0.38)
Sexual	53 (0.08)	66 (0.11)	42 (0.08)
Agonístico	158 (0.23)	92 (0.15)	115 (0.23)

(\*) diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en la distribución de categorías de conducta entre las hembras 1 y 3.

**Tabla 2** Cantidad de registros totales en cada una de las categorías de conducta, en paréntesis se muestra su respectivo porcentaje, correspondientes a tres hembras sometidas a observación. Los porcentajes corresponden a totales por animal.

Categoría de conducta	Estro	Metaestro	Diestro	Proestro
Alimentación	8081 (35.72)	9506 (37.93)	38656 (36.08)	8531 (34.08)
Descanso	5884 (26.01)	8705 (34.73)	36245 (33.83)	9052 (36.16)
Locomoción	6518 (28.81)	4234 (16.89)	17911 (16.72)	4168 (16.65)
Arreglo	892 (3.94)	1559 (6.22)	7505 (7.0)	1952 (7.8)
Eliminativo	278 (1.23)	274 (1.09)	1164 (1.09)	292 (1.17)
Manipulativo	190 (0.84)	179 (0.71)	1073 (1.0)	195 (0.78)
Comodidad	21 (0.09)	21 (0.08)	108 (0.1)	21 (0.08)
Juego	232 (1.02)	584 (2.33)	4477 (4.18)	819 (3.27)
Sexual	616 (0.71) *	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Agonístico	365 (1.61) *	0 (0)	0 (0)	0(0)

**Tabla 3** Cantidad de registros y porcentaje de registros totales (en paréntesis) en cada una de las etapas del ciclo estral, correspondientes a tres hembras sometidas a observación durante el seguimiento del ciclo estral.

Categoría de conducta	Macho 1	Macho 2	Macho 3 (*)
Alimentación	25447 (36.94)	22696 (36.96)	17820 (35.63)
Descanso	23420 (34)	18123 (29.52)	17315 (34.62)
Locomoción	13798 (20.03)	11089 (18.06)	9841 (19.67)
Arreglo	3883 (5.64)	4016 (6.54)	3476 (6.95)
Eliminativo	685 (0.99)	684 (1.11)	590 (1.18)
Manipulativo	865 (1.25)	561 (0.91)	415 (0.83)

Comodidad	45 (0.06)	66 (0.1)	45 (0.09)
Juego	412 (0.59)	3950 (6.43)	235 (0.47)
Sexual	327 (0.47)	212 (0.34)	277 (0.55)

**Tabla 4** Cantidad y porcentaje (en paréntesis) de registros totales en cada una de las categorías de conducta, correspondientes a tres machos sometidos a observación durante el seguimiento del ciclo estral de sus compañeras hembra.

Categoría de conducta	Estro	Metaestro	Diestro	Proestro
Alimentación	8085 (34.23)	9777 (39.06)	38841 (36.7)	9260 (35.88)
Descanso	5728 (24.25)*	8559 (34.19)	35858 (33.88)	8713 (33.76)
Locomoción	7494 (31.73)*	4189 (16.73)	18561 (17.54)	4484 (17.38)
Arreglo	819 (3.46)	1421 (5.68)	7408 (7)	1727 (6.69)
Eliminativo	281 (1.19)	301 (1.2)	1066 (1)	311 (1.2)
Manipulativo	109 (0.46)	185 (0.74)	1077 (1.01)	470 (1.82)
Comodidad	11 (0.046)	27 (0.11)	96 (0.09)	22 (0.08)
Juego	274 (1.16)	571 (2.28)	2934 (2.77)	818 (3.17)
Sexual	816 (3.45)*	0 (0)	0 (0)	0(0)

\* En la misma categoría entre fases del ciclo estral, indica diferencia significativa ( $P < 0.01$ ).

**Tabla 5** Porcentaje de registros totales en cada una de las etapas del ciclo estral, correspondientes a tres machos sometidos a observación durante el seguimiento del ciclo estral de sus compañeras hembra.

Anexo 1.

## Conclusiones

El catálogo conductual del tepezcuintle está integrado por 87 pautas de conducta, distribuidos en 10 categorías. Las pautas de categorías sexuales y agonísticas son características en la fase de estro.

## Referencias

2. Aguirre LG, Fey AE. (1981). *Estudio preliminar del Tepezcuintle (Agouti paca nelsoni Goldman) en la Selva Lacandona de Chiapas*. En: Pedro Reyes Castillo, editor. Estudios Ecológicos en el Trópico Mexicano. México (DF) México: Instituto de Ecología A C, 1: 41-54.
- Arnold GW. (1985). *Ingestive behaviour. Ethology of farm animals: a comprehensive study of the behavioural features of the common animals*. Elsevier Science Publisher: Amsterdam.
- Board on Science and Technology for International Development (BOSTID). (1991). *Microlivestock. Little known small animals with a promising economic future*. National Academy Press: Washington.
- Campan R. (1990). *El animal y su universo. Estudio dinámico del comportamiento*. Fondo de Cultura Económica: México D.F.
- Carson K. (1985). *Kinesis. Ethology of farm animals: a comprehensive study of the behavioural features of the common animals*. Elsevier Science Publishers: Amsterdam.
- Collet SF. (1981). *Population characteristics of Agouti paca (Rodentia)*. Biological series Vol. 5 Number 7, Museum Michigan State University: Michigan. 601 p.
- Cupps PT. (1991). *Reproduction in domestic animals*. Academic Press: New York.
- Cromberg, V.U., Sabatini, V., Paranhos da Costa, M.J.R., 1997. O comportamento da paca (Agouti paca) em cativeiro. In: Ades, C. (Ed.), *Etologia – Anais do XV Encontro Anual de Etologia*. Sociedade Brasileira de Etologia, São Carlos, pp. 223–239.
- Duch GJ. (1988). *La conformación territorial del Estado de Yucatán*. Centro Regional Universitario Península de Yucatán - Universidad Autónoma de Chapingo: Estado de México.
- Elliot JA. (1976). *Circadian rhythms and photoperiodic time measurement in mammals*. Federation Proceedings 35:2339-2346.
- Fierro SM, Morales LM. (1995). *Caracterización del ciclo estral en el tepezcuintle (Agouti paca) por medio de frotis vaginales*. Tesis de licenciatura. Cuautitlan Izcalli: México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Universidad Nacional Autónoma de México. 77p.
- Fraser AF. (1985). *Ethology of farm animals: a comprehensive study of the behavioural features of the common animals*. Elsevier Science Publisher: Amsterdam.
- Freiheit CF. (1965) *Courtship activity of the paca*. Journal of Mammalogy, 46:707.
- Gallina S. (1981). *Contribución al conocimiento de los hábitos alimenticios de tepezcuintle (Agouti paca Lin.) en Lancajá-Chansayab, Chiapas*. Estudios Ecológicos en el Trópico Mexicano Instituto de Ecología A C. México D.F. 105 p.
- Galina C, Saltiel A, Valencia J, Becerril J, Bustamante G, Calderón A, Duchateau A, Fernández S, Olguin A, Páramo R, Zarco L. (1996). *Reproducción de animales domésticos*. Limusa SA de CV: México D.F.
- Hafez ESE. y Hafez B. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Interamericana 7a Mc Graw-Hill: México D.F.



- Kilgour RI. (1985). *Ethology of farm animals: a comprehensive study of the behavioural features of the common animals*. Elsevier Science Pub: Amsterdam.
- Kraus C, Gihl M, Pilleri G. (1970). *Das Verhalten von Cuniculus paca in Gefangenschaft*. Revue Suisse de Zoologie; 77:353-388.
- Kleiman DG. (1974). *Patterns of behaviour in hystricomorph rodents*. Symposia of the Zoological Society of London, 34: 171-209.
- Lord RD. (1994). *A descriptive account of Capivara behaviour*. Studies on Neotropical Fauna and Environment, 29: 11-22.
- Manning A, Stamp M. (1992). *An introduction to animal behaviour*. Fourth edition. Cambridge University Press: London.
- Martin P, Bateson P. (1986). *Measuring behaviour. An introductory guide*. Cambridge Univ Press: London.
- Matamoros Y. (1982). *Notas sobre la Biología del Tepezcuintle, Cuniculus paca, Brisson (Rodentia: Dasyproctidae) en Cautiverio*. Brenesia, 19/20: 71-82.
- Matamoros HY, Pashov B. (1984). *Ciclo estral del tepezcuintle en cautiverio*. Brenesia, 22:249-260.
- Milton SJ. (2001). *Estadística para Biología y Ciencias de la Salud*. McGraw-Hill-Interamericana: México.
- Montes R, Méndez P. (1997). *Crecimiento de tepezcuintles (Agouti paca) mediante lactación artificial*. Memorias del XV Simposio sobre Fauna Silvestre. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp: 134-138.
- Montes PRC. y Cabrera BAE. (2006). *Actividad ovárica del tepezcuintle Agouti paca (Rodentia: Agoutidae) en cautiverio*. Revista de Biología Tropical 54:903-910.
- Moyajo A, Eguíbar JR. (1995). *El aseo en los animales*. Ciencia y Desarrollo, 123: 65-71.
- Neill J.D. (2006). *Knobil and Neill's. Physiology of Reproduction*. Third ed. Elsevier: New York.
- Sabatini, V., Paranhos da Costa, M.J.R., 2001. *Etograma da paca (Agouti paca, Linnaeus, 1766) em cativeiro*. Rev. Etologia 3, 3-14.
- Sanvicente LM. (1995). *El tepezcuintle (Cuniculus paca) como alternativa de proteína animal para consumo humano en el trópico húmedo estudio recapitulativo*. Tesis de licenciatura. México DF: México: Universidad Nacional Autónoma de México. 56p.
- Smith WJ. (1982). *Etología de la comunicación*. Fondo de Cultura Económica: Mexico D.F.
- Smythe N. (1987). *The Paca (Cuniculus paca) as a domestic source of protein for the neotropical, humid lowlands*. Applied Animal Behaviour Science, 17: 155-170.
- Smythe N. (1991). *Steps toward Domesticating the Paca (Agouti= Cuniculus paca) and Prospects for the Future*. Neotropical Wildlife Use and Conservation. University Chicago Press: Chicago.
- Stoddart DM. (1976). *Mammalian odours and pheromones*. Studies in Biology No. 73. The Institute of Biology's: London.
- Templeton, SG. (1975). *Cría del conejo doméstico*. CECSA: México D.F.
- Vandenbergh JG. (1994). *Pheromones and Mammalian reproduction. The Physiology of Reproduction*. Raven Press: New York
- Vaughan TA. (1987). *Mamíferos*. Tercera edición. Interamericana Mc Graw-Hill: México D.F.

Vaz-Ferreira R. (1984). *Etología: El estudio biológico del Comportamiento Animal*. Organización de los Estados Americanos: México D.F.

Viveros CC. (1991). *Los dasyproctidos de México como especies susceptibles de aprovechamiento en cautiverio*. Memorias del Segundo curso de capacitación para profesionales en el manejo de fauna silvestre. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México y Asociación de Zoológicos, Criaderos y Acuarios de la República Mexicana. México D.F. Pp:164-178.

Von Bertalanffy L. (1993). *Teoría general de sistemas*. Fondo de Cultura Económica: México D.F.

## Busqueda de Nematodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae) en cultivos agrícolas

HUESO-Eva\*†, FALLAD-Jalil, MANCILLA-Oscar y SEPULVEDA-José

Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Producción Agrícola, CUCSUR, Universidad de Guadalajara, Av. Independencia Nacional 151, Autlán, Jalisco 48900, Tel: (317) 38 25010 ext. 57139 y 57134. Fax: (317) 3823200

Recibido Enero 30, 2015; Aceptado Mayo 28, 2015

### Resumen

Los problemas de contaminación ambiental causados por la aplicación de insecticidas químicos comúnmente utilizados en el control plagas insectiles lleva a la necesidad de alternativas al control químico. El presente estudio tuvo como objetivo establecer la existencia de poblaciones de nematodos entomopatógenos (NEP) nativos en los cultivos agrícolas de Autlán, Jalisco así como la identificación a nivel de género los aislados nativos y la determinación del grado de patogenicidad. Se recolectaron 50 muestras de suelo procedentes de los cultivos de la región. La recuperación de NEP se realizó mediante trampas cebadas con larvas de *Galleria mellonella* que resultaron ser susceptibles a la presencia de NEP. Se lograron 12 aislados de NEP nativos, distribuidos en los distintos cultivos. Los aislados pertenecen a los géneros *Steinernema spp.* y *Heterorhabditis spp.*, ocho aislados presentaron más de 90 % de patogenicidad contra larvas de *G. mellonella*.

**Control biológico, patogenicidad, entomopatógenos.**

### Abstract

The environmental pollution problems caused by chemical insecticide application using on insect plague control is compelling us to the need of alternatives for the chemical control. The present study has as primary objectives to establish the existence of native entomopathogenic nematode populations (NEP) in Autlán, Jalisco agricultural soils, as well to the identification to genus level of native isolates, and its determine the degree of its pathogenicity. A total of 50 samples of soil were collected. The NEP recovery was performed by using traps baited with *Galleria mellonella* larvae were found to be very susceptible to the presence of NEP. 12 isolates native NEPs were achieved, distributed in the different crops. The isolates belong to the genders of *Steinernema spp.* and *Heterorhabditis spp.*, eight native isolates showed above 90 % of pathogenicity against larvae of *G. mellonella*.

**Biological control, pathogenicity, entomopathogenic.**

**Citación:** HUESO-Eva, FALLAD-Jalil, MANCILLA-Oscar y SEPULVEDA-José. Busqueda de Nematodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae) en cultivos agrícolas. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales 2015, 1-1: 68-74

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: [jhueso812@hotmail.com](mailto:jhueso812@hotmail.com))

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

El propósito de la agricultura en México es la obtención de una alta producción, libre de contaminantes químicos, de calidad y de bajo precio. Asimismo, busca el sustento y fomento del desarrollo industrial mediante la provisión de materia prima accesible a la cadena de producción, así como generar divisas mediante la exportación de productos de alto valor económico y la generación de empleos con ingresos dignos a la población sin dañar el medio ambiente.

Los efectos de contaminación ambiental originados por los insecticidas químicos comúnmente utilizados en el control plagas de maíz (*Zea mays*), caña (*Saccharum officinarum* L.), jitomate (*Solanum lycopersicon* L.), chile (*Capsicum annum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y rábano (*Rhapanus sativus*), nos lleva a la búsqueda de alternativas al control químico de las plagas insectiles.

El manejo integrado de plagas es una alternativa viable incluyendo el uso del control biológico con la aplicación de microorganismos entomopatógenos. Entre estos se encuentran los hongos, virus, bacterias y los nematodos entomopatógenos (NEP). Estos últimos son considerados importantes como agentes de control biológico porque se caracterizan por presentar una acción de control rápida y ambientalmente segura, además de presentar un amplio rango de hospederos (Bedding y Miller, 1981; Simard y col., 2007).

Las larvas y pupas de insectos son muy susceptibles a la patogenicidad de especies del género *Steinernema*. Los estudios Kaya y Gaugler (1993) sugieren el uso de estos nematodos, ya que ejercen un efecto equivalente a la acción de un insecticida químico. El insecto parasitado por estos nematodos muere rápidamente en un lapso aproximado de 48 horas.

Otras cualidades de los NEP son el presentar la habilidad de buscar a su hospedero y su persistencia en el ambiente natural.

Los NEP son compatibles con insecticidas químicos y biológicos, además pueden ser multiplicados artificialmente a gran escala en medios líquidos o sólidos y ser almacenados por largos períodos en condiciones de refrigeración, además de poder ser aplicados por métodos convencionales en los cultivos. Finalmente, poseen la cualidad de ser seguros y no afectan plantas o vertebrados (Bedding y Miller, 1981; Kaya y Gaugler, 1993). Estos autores sugieren que los NEP steinernemátidos y heterorhabdítidos son efectivos contra varias especies de insectos plaga que se encuentran en hábitats críticos y suelo.

Wright y col. (1987) reportaron que la aplicación de NEP en el suelo antes de la llegada de las larvas y pupas del gorgojo de la papa roja disminuye la emergencia de adultos de esta plaga. Los NEP presentan un potencial en el control de insectos plaga especialmente a los Ordenes: Lepidoptera, Coleoptera y Diptera ya que pueden infestar y liquidar a un gran número de especies de insectos. Además, Simoes y Rosa (1996) observaron la existencia de una relación estrecha entre el nematodo y el insecto lo que sugiere una susceptibilidad específica del insecto que se refleja en una gran variabilidad que depende de la virulencia de la cepa o aislado. Los mismos autores anteriormente mencionados, reportan la diferencia de patrones de virulencia de una especie o cepa de nematodos contra un insecto en particular, cuando se compara esta con otras especies o cepas de NEP.

Estos resultados son una evidencia que pone de manifiesto la necesidad de realizar estudios para identificar a aquellos nematodos nativos con potencial para el control biológico de una especie de insecto en particular.

Actualmente no se ha reportado estudios en Jalisco acerca de la existencia de NEP en estos cultivos (Hueso y col., 2005), por lo que el presente estudio contribuye a la generación de información científica. Particularmente con un diagnóstico de NEP nativos, aislamiento e identificación a nivel género utilizando los caracteres morfológicos (Stock y Kaya, 1996), así como estudios de patogenicidad, persistencia, producción para su aplicación en el control biológico de plagas endémicas.

Los objetivos del trabajo fueron coleccionar poblaciones de NE en los cultivos agrícolas de Autlán, identificar a nivel de género los aislados coleccionados y la determinar su grado de patogenicidad.

## **Materiales y métodos**

### **Muestreo de suelo de campos**

Se realizó una colecta de suelo en varias zonas del municipio de Autlán Jalisco, México durante los meses de Junio-Agosto 2013. Los puntos de muestreo se seleccionaron de acuerdo a los sistemas de producción: Caña, maíz, jitomate, chile, cilantro, rábano. En cada punto de muestreo se tomaron cinco sub-muestras a una profundidad de 10 a 15 cm, las cuales fueron colocadas y mezcladas en bolsas de plástico.

### **Cría de la polilla de la cera *Galleria mellonella***

Las larvas de *G. mellonella* fueron utilizadas como hospedero para aislar y multiplicar las poblaciones de aislados de NEP que pudieran encontrarse en las muestras de suelo y utilizadas en los experimentos. Las larvas del quinto estadio larval con una longitud aproximada de entre 1,5 y 2,0 cm, fueron utilizadas en diversas pruebas de laboratorio. Para la reproducción de los nematodos, se estableció un insectario de *G. mellonella* siguiendo la metodología propuesta por Woodring y Kaya (1988).

### **Aislamiento y Multiplicación de nematodos entomopatógenos**

Las muestras coleccionadas de suelo se distribuyeron en cuatro botes de plástico de 1 L, para realizar el aislamiento de los NEP mediante la técnica de extracción propuesta por Bedding y Akhurst (1975) que consiste en la utilización de trampas-cebo con larvas de *Galleria mellonella*. Se colocaron 5 larvas sobre la superficie. Los recipientes se taparon y se incubaron a 20 °C por siete días. Las larvas de *G. mellonella* infectadas por el nematodo se distinguen de las sanas por su coloración, pudiendo mostrar un color rojo, crema o negro, según la especie del nematodo al que corresponda. Cada larva infectada por nematodos se lavó con agua destilada y se recuperaron los nematodos en trampas White Kaya y Stock (1997). La trampa consiste de una caja Petri de plástico 100 X 15 mm, la cual se llenó con 20 ml. de agua destilada y en cuyo interior se dispuso de otra placa Petri de 60 X 10 mm conteniendo un disco de papel filtro humedecido marca Whatman No. 1 (90 mm de diámetro).

Sobre el papel filtro de esta placa se colocaron las larvas de *G. mellonella* que presentaron sintomatología de afectación por nematodos y se incubaron a 20 °C por dos semanas (Woodring y Kaya, 1988).

El proceso de multiplicación se realizó colocando una suspensión de 200 IJ que se distribuyó equitativamente en una caja Petri con papel filtro sobre 10 larvas de *G. mellonella* de cada aislamiento. Las cajas se incubaron a 20 °C por una semana, posteriormente las larvas se colocaron en trampa White. Los nematodos que emergieron de la trampa se cosecharon por cuatro días, lavándolos tres veces con agua destilada. Después se almacenaron en matraces de tejido de cultivo de cuello inclinado con ventilación.

#### Determinación del grado de patogenicidad de las poblaciones encontradas

La prueba de patogenicidad se realizó según la metodología de Kaya y Stock (1997): en el caso de nematodos del género *Steinernema* se realizaron ensayos "One on one", para lo cual se inoculó un juvenil del nematodo (IJs) en una larva de *Galleria Mellonella* contenida en una celda de una placa (20 celdas), con papel filtro Whatman No 1 estéril. Para el caso de nematodos del género *Heterorhabditis spp*, se realizaron ensayos "Five on one" para lo cual se inocularon 5 IJs en una larva de *Galleria Mellonella* de quinto instar contenida en un tubo "ependorf" (1,5 ml de capacidad) con 0,5 ml de arena estéril (Kaya y Sotck, 1997). Posteriormente las cajas y los tubos se incubaron a 24 °C. El número de larvas muertas de *Galleria mellonella* se registraron a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas de la inoculación. Para verificar la muerte de las larvas de gallería por acción de los nematodos, éstas se disectaron.

#### Análisis de datos

El análisis de varianza (ANOVA) fue realizado sobre el porcentaje de mortalidad previa transformación angular del arcoseno  $\sqrt{\%}$  para normalizar los datos (Sánchez y Rodríguez, 2008). Las medias fueron separadas usando la prueba de Tukey al 0,05 de probabilidad.

## Resultados y discusión

### Muestreo y aislamiento de nematodos entomopatógenos

Se colectaron 50 muestras de suelo con 4 repeticiones, las cuales fueron procedentes de los cultivos de maíz, caña, chile, jitomate, cilantro y rábano. Las muestras de suelo fueron colocadas en trampas utilizando larvas de *Galleria mellonella* que resultaron ser muy susceptibles a la presencia de NEP. Se lograron aislar 12 aislados de NEP, distribuidos en correspondiente los distintos cultivos, seis aislados de jitomate, dos en chile, dos Cilantro, uno en maíz y uno en caña (Tabla 1). Se ha detectado presencia 8 nematodos entomopatógenos de las 50 muestras analizadas, lo que supone un porcentaje de abundancia del 16 % NEP en los diferentes tipos de suelo y sistemas de cultivo, este porcentaje es similar al reportado por Picoaga y col. (2007; 2008) en suelos de castaño en Galicia. No obstante, los porcentajes de distribución encontrados en el presente trabajo son inferiores a los 36,84 % observados en Buenaventura, Colombia por Méndez y col. (2011).

De acuerdo a Barbercheck (1992), la incidencia de NEP en el suelo no depende solamente de factores físicos como granulometría, textura, humedad, temperatura, aireación o pH del suelo; sino también por biológicos como la abundancia de insectos hospederos en el medio. Por su parte Ruiz y col. (2011), reportaron que la temperatura muestra un impacto negativo sobre la biología de los NEP que va desde su desarrollo, inhalación, perduración, localización de su presa e infectividad. En este sentido, Georgis y col. (2006) encontraron que la diferencias observadas, en relación a la temperatura, entre las dos especies de NEP, pueden ser debidas a que los juveniles de *H. bacteriophora* disminuyen su efectividad con temperaturas inferiores a 20 °C.

Esto es reflejado en los porcentajes de obtención de aislados de suelo oscilen entre niveles tan extremos de 0,7 % al 70,1 % (Mracek y Becvar, 2000). Estos resultados dan la pauta a continuar con la búsqueda de especies nativas de NEP para ser utilizados en el control de plagas endémicas de los cultivos habituales.

En lo que respecta a la identificación de los aislados, estos fueron identificados a nivel de género que de acuerdo a las características morfológicas que presentaron los cadáveres de *G. mellonella* extraídos de las “trampas” que después de ser enjuagadas se revisaron en el estereoscopio y mostraron un color café pálido, cuerpo blando y secreción aglutinante esto sugiere que pertenecen al género *Steinernema spp.* Los NEP que presentaron color rojizo ó marrón cuerpo blando y secreción aglutinante pertenecen al género *Heterorhabditis spp.* (Akhurts y Bedding, 1986; Stock y Kaya, 1996; Woodring y Kaya, 1988).

El análisis de las muestras de suelo colectadas en cada cultivo, todas se determinaron con una textura franco-arenoso con un potencial de hidrogeno alcalino lo que coincide con otros autores la actividad y supervivencia de los NE es menor en suelos arcillosos que en los franco-arenosos (Stuart y col., 2006, Sánchez y col., 2012), posiblemente debido a los bajos niveles de oxígeno en suelos con poros más pequeños como suelen ser los arcillosos (Hazir y col., 2004). Este es el primer reporte de la presencia de nematodos entomopatógenos en cultivos de hortalizas en el estado.

### Prueba de patogenicidad

De los 12 aislados de nematodos entomopatógenos se realizó una evaluación de patogenicidad mediante la utilización de larvas de *G. mellonella* (Tabla 1). Se determinaron diferencias altamente significativas en patogenicidad entre los aislados obtenidos ( $F_{47}= 45,49$   $P<0.000$ ).

Mediante la prueba Tukey se identificaron 8 aislados, los cuales presentaron mortalidades superiores al 90 % en 72 y 96 horas (Figura 1), entre ambos géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, siendo los más sobresalientes Sj 13 y Sj 07, con mortalidades de 98 y 95 % en 96 horas, respectivamente (Figura 1). La mayor parte de los aislados cinco correspondieron a sistemas de producción de jitomate, dos en chile, uno en caña. Estos resultados indican que estos nematodos entomopatógenos se encuentran asociados al cultivo de jitomate y chile.

De acuerdo a esto, los NEP que mejor resultaron de las pruebas correspondieron a los aislados de jitomate, evidenciando una mayor patogenicidad frente a larvas de *G. mellonella* que otros aislados, posiblemente debido a una mayor adaptabilidad de estos nematodos a medios adversos como los que se establecen en esta región, en donde los agricultores incorporan una amplia gama de pesticidas en sus cultivos; mostrando probablemente los nematodos compatibilidad con el sistema de manejo del cultivo de jitomate y otros cultivos.

### Conclusiones

Los resultados obtenidos comprueban la presencia de NEP. Además sugieren la necesidad de realizar más colectas en otros sitios de cultivo en la región, ya que el número de aislados nativos recuperados representan un 16 por ciento de abundancia. Lo anterior permitirá efectuar estudios de persistencia y patogenicidad contra las principales plagas que atacan los cultivos de interés económico, lo que hace a estos microorganismos entomopatógenos potenciales en el manejo de plagas agrícolas en la aplicación del control biológico. Así mismo la necesidad de realizar estudios de características físico-químicas de suelo con relación a la presencia de NEP.

## Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología Jalisco (COECYT-JAL) y a la Universidad de Guadalajara por haber financiado el proyecto del cual se derivó esta información; a los beneficiarios del proyecto, por la logística y el apoyo brindado en la colecta del material y algunas especificaciones dadas sobre la zona de estudio.

## Referencias

- Akhurst, R. J. and R. A. Bedding. 1986. Natural occurrence of insect pathogenic nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) in soil in Australia. *Journal of Australian Entomology Society*. 25: 241-244.
- Barbercheck, M. E. 1992. Effects of soil physical factors on biological control agents of soil insect pest. *Florida Entomology*. 75: 539-548.
- Bedding, R. A. and R. J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic Rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*. 21: 109-116.
- Bedding, R. A. and L. A. Miller. 1981. Disinfesting blackcurrant cuttings of *Synanthedon tipuliformis* using the insect parasitic nematode *Neoaplectana bibionis*. *Environmental Entomology*. 10:449-453.
- Georgis, R.; A. M. Koppenhöfer; L. A. Lacey, G. Belair, L. W. Duncan, P. S. Grewal, M. Samish, L. Tan, P. Torr and R.W.H.M. Van Tol. 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control*. 38: 103-123.
- Hazir, S.; H. Kaya, P. Stock, and N. Keskün. 2004. Entomopathogenic Nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) For Biological Control Of Soil Pests. *Turkey Journal of Biology*. 27: 181-202.
- Hueso-Guerrero, E. J.; J. Molina-Ochoa, J. Fallad, R. Lezama-Gutiérrez, M. López-Edwards and J. Farías-Larios. 2005. Susceptibility of *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal larvae (Coleoptera: Curculionidae) to strains of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *HortScience*. 40(4):1025.
- Kaya, H. K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*. 38:181-206.
- Kaya, H. K. and S. P. Stock. 1997. Techniques in insect nematology: in: Manual of Techniques in insect pathology, L. A. Lacey (ed). *Biological Techniques Series*, (p. 281-324). San Diego, California: Academic Press.
- Marcek, Z. and S. Becvar. 2000. Insect aggregations and entomopathogenic nematode occurrence. *Nematology*. 2:297-301.
- Méndez-Barceló, A. A.; G. Oyala-Riascos y A. M. Caicedo-Vallejo. 2011. Aislamiento de nematodos entomopatógenos en áreas de Buenaventura, Valle del Cauca, Colombia. *Fitosanidad*. 15 (3): 153-157.
- Picoaga, A.; A. Abelleira y J. P. Mansilla. 2007. Primeros estudios de la diversidad y persistencia de nematodos entomopatógenos en suelos de castaño en Galicia. En: *II Congreso Iberico do Castanheiro*. Vila Real. Portugal. [En línea]. Disponible en: [http://www.efa-dip.org/comun/publicaciones/Comunicaciones/2007/nematodos\(SECF\\_palencia\).pdf](http://www.efa-dip.org/comun/publicaciones/Comunicaciones/2007/nematodos(SECF_palencia).pdf). Fecha de consulta: 23 de noviembre del 2013.
- Picoaga-Montoussé, A.; A. Abelleira-Argibay y J. P. Mansilla-Vázquez. 2008. Presencia de nematodos entomopatógenos en suelos de castaño en Galicia. *Sociedad Española de Ciencias Forestales*. 26:39-43.



Ruiz-Vega, J.; F. Ruiz-Carballo, R. Pérez-Pacheco y S. H. Martínez-Tomas. 2011. Mejoramiento de la tolerancia al calor y a la desecación de tres nematodos entomopatógenos. *Nematropica*. 41(2): 264-270.

Sánchez, L. y M.G. Rodríguez. 2008. Potencialidades de *Heterorhabditis Bacteriophora* Poinar Cepa HC1 para El Manejo de *Hypothenemus hampei* Ferr. II. Compatibilidad con *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin Y Endosulfan. *Revista de Protección Vegetal*. 23(2): 104-111.

Sánchez-Saavedra, M.G.; H. Cortez-Madrigal y D. Cristobal-Acevedo. 2012. Inefectividad de *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) en adultos y larvas de gallina ciega (Coleoptera: Melolonthidae). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 18(3): 383-394.

Simoes, N. and J. S. Rosa. 1996. Pathogenicity and host specificity of Entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*. 6: 406-411.

Simard, L.; G. Belair, S. P. Stock, H. Mauleon and J. Dionne. 2007. Natural Occurrence of Entomopathogenic Nematodes (Nematidae: Steinernematidae) on Golf Courses in Eastern Canada. *Nematology*. 9(3): 325-332.

Stock, S. P. and H. K. Kaya. 1996. A multivariate analysis of morphometric characters of *Heterorhabditis* species (Nemata: Heterorhabditidae) and the role of morphometrics in the taxonomy of species of the genus. *Journal of Parasitology*. 82\_(5): 806-813.

Stuart, R. J.; M. E. Barbercheck, P. S. Grewal, R. A. J. Taylor and C. W. Hoy. 2006. Population biology of entomopathogenic nematodes: Concepts, issues, and models. *Biological Control*. 38:80-102.

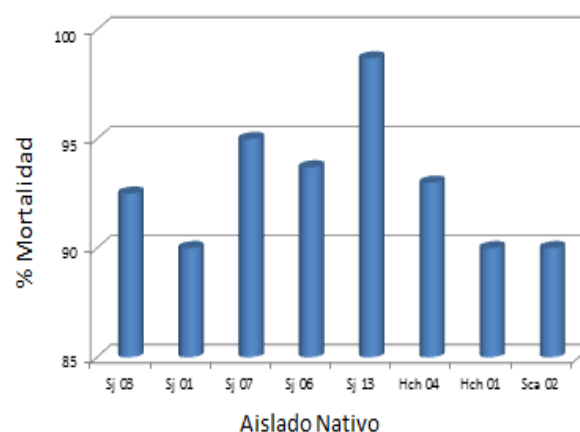
Wright, R. J.; S. F. Agudelo, and R. Georgis. 1987. Soil applications of *Steinernematid* and *Heterorhabditid* nematodes for control of Colorado potato Beetles, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *J. Nematol.* 19(2): 201-206.

Woodring, J. L. and H. K. Kaya. 1988. *Steinernematid* and *Heterorhabditid* Nematodes: A Handbook of Techniques. (Pp.13-16): Fayetteville, Arkansas, E.U.A: Southern Cooperative Series Bulletin.

### Anexos

Cultivo	Localidad	CODIGO	% Mortalidad	GÉNERO de NE
Jitomate	Camichin	Sj 03	92.5%	<i>Steinernema</i> sp.
	El Pozo	Sj 01	90.0%	<i>Steinernema</i> sp.
	Ayutita	Sj 07	95.0%	<i>Steinernema</i> sp.
	Palo seco	Sj 06	93.7%	<i>Steinernema</i> sp.
	La Parota	Sj 13	98.7%	<i>Steinernema</i> sp.
	La Sabinera	Sj 08	45.0%	<i>Steinernema</i> sp.
Chile	Bellavista	Hch 04	93.0%	<i>Heterorhabditis</i> sp.
	Casillas	Hch 01	90.0%	<i>Heterorhabditis</i> sp.
Cilantro	Chano	Sc 14 P	33.7%	<i>Steinernema</i> sp.
	Coajinque	Sc 08	50.0%	<i>Steinernema</i> sp.
Maiz	Martin	Sm 01	52.5%	<i>Steinernema</i> sp.
Caña	Chante	Sca 02	90.0%	<i>Steinernema</i> sp.
Rábano	Capulin	-	-	Sin presencia

**Tabla 1** Mortalidad de larvas de *G. mellonella* mediante 12 aislados de nematodos entomopatógenos.



**Gráfico 1** Prueba de patogenicidad con 8 aislados de NE sobre larvas de quinto estadio de *G. mellonella*.

**Aprendizaje y talentos de los administradores de granjas avícolas para la innovación**

QUEZADA-MORENO, Maribel\*†, NERI-VEGA, Jovita, PEREZ-BRAVO, Julia y OYOA-GARFIAS, Jessica

Recibido Enero 14, 2015; Aceptado Mayo 12, 2015

**Resumen**

Los objetivos son identificar el sistema de aprendizaje organizacional operante en granjas avícolas de Querétaro y el talento de sus administradores para adaptarse a los cambios del mercado de consumo.

Es una metodología cualitativa fenomenológica, es descriptiva comparativa de tres organizaciones: una microempresa familiar, un negocio por contrato de Aparcería y una empresa avícola de origen queretana. Es transaccional realizada en enero 2014 a abril del 2015.

La contribución de esta investigación es mostrar como las decisiones de los administradores y el sistema de aprendizaje organizacional impulsa, detiene o desintegra a la organización.

**Aprendizaje, talento, innovación****Abstract**

The objectives are Identify the system of organizational learning operant poultry farms in Queretaro and the talent of its administrators to adapt to the changes in the consumer market.

It is a phenomenological qualitative methodology, it is comparative descriptive of three organizations: a microenterprise family, a business by contract of sharecropping and a poultry company of origin queretana. Transactional is carried out in January 2014 to April 2015.

The contribution of this research is to show how the decisions of administrators and the system of organizational learning drives, stops, or disintegrates to the organization.

**Learning, talent, competitiveness**

**Citación:** QUEZADA-MORENO, Maribel, NERI-VEGA, Jovita, PEREZ-BRAVO, Julia y OYOA-GARFIAS, Jessica. Aprendizaje y talentos de los administradores de granjas avícolas para la innovación. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales 2015, 1-1: 75-89

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: Dra\_MaribelQuezadaMoreno@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

## Introducción

Las organizaciones avícolas aparentan hacer una actividad sencilla y fácil de ejercer para cualquier emprendedor, sin embargo no es así, se trata de un sector que trabaja en un contexto complejo, incierto, competitivo y de alto riesgo, que inicia desde la elección de animales genéticamente superiores, huevos fértiles, pollitos sanos, aves en ambientes controlados, condiciones de higiene y seguridad cada vez más estrictas, tecnificadas y automatizadas, personal con elevados conocimientos tácitos desarrollados sobre la experiencia y valores corporativos basados en el compromiso son algunos de los factores claves que rodean a este sector.

Las acciones para construir el mundo que queremos inician con mostrar rutas de éxito y dejarlas claras en la mente de los seres humanos. Este trabajo de investigación es la búsqueda de vías trazadas por empresas del sector avícola instaladas en Querétaro, un pequeño negocio familiar, una empresa multinacional, y una empresa de origen queretana. El aprendizaje es para todos, se debe aprender de un estado que es líder productivo avícola durante más de 5 años, porque muestra el camino de la innovación, en la búsqueda del desarrollo sostenido de sus negocios y en la cultura del alto desempeño.

Se aprende de los pequeños negocios de avicultura que inician solo con el apoyo familiar pero sin dejar de lado la alta calidad productiva, se aprende de los negocios que trabajan con contratos de aparcería con una gran empresa como Pilgrim's que les enseña, los guía y a través de reglas claras y estrictas les exige un sistema de trabajo con un nivel productivo superior y se aprende de la empresa regional que han logrado posicionarse competitivamente con el apoyo de cada integrante, cuyo sistema no solamente busca la productividad sino que se adecua a las nuevas formas de trabajo y enfoca sus acciones a la sustentabilidad. El aprendizaje organizacional se diseña como un sistema generador de conocimiento, que detecta acciones con resultados positivos y también negativos, que muestran escenarios claros para la estructuración de estrategias que desarrollen a la organización avícola, replicando lo que funciona e identificando y solucionando la problemática y lo no funcional. El sistema de aprendizaje organizacional se convierte en una herramienta clave para adherir a la organización con sus empleados-colaboradores, llevándolos a formar organizaciones inteligentes. El talento humano se detecta con la valoración de la diversidad de pensamientos, experiencias, técnicas, conocimientos, acciones y actitudes de cada integrante, lo que da como resultado un ambiente organizacional heterogéneo, que se homogeniza con las acciones administrativas a través de un sistema cuyas características deben ser justas y claras para todos, esto se logra al tener una meta por alcanzar, lo individual se vuelve comunitario y la competencia interna se vuelve cooperación, en la avicultura todo conocimiento individual de caseteros, técnicos, especialistas, administradores y colaboradores es necesaria, porque el mínimo detalle puede generar grandes pérdidas y quien lo detecta debe estar capacitado para actuar.

La competencia en los negocios agroindustriales es cada vez más elevada, en el caso de la avicultura en Querétaro se avanza debido a las alianzas entre avicultores con empresas grandes, el apoyo de gobierno con asesorías y con instituciones educativas que analizan nuevas especies, nuevas tecnologías y capacitan al personal.

La base de esta investigación es analizar y comparar entre las empresas investigadas, las estrategias de aprendizaje organizacional que se aplican en la práctica diaria, identificar las decisiones que se toman para la adquisición de tecnología innovadora y las innovaciones en procesos que en la actualidad sucede en cada organización investigada, el sector avícolas se renueva constantemente porque de ello depende ser más competitivo.

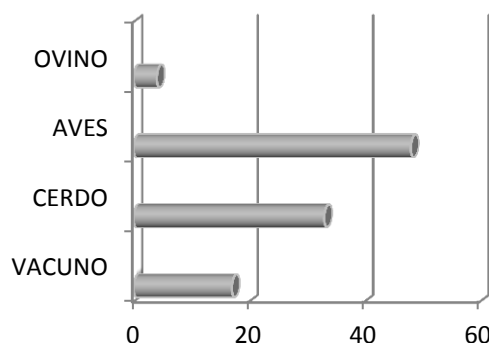
Los directivos, jefes, supervisores, es decir los administradores de la organización avícola, necesitan desarrollar talentos a través de nuevos conocimientos, de la aplicación de la técnica, del desarrollo de habilidades sociales y participativas, para trabajar en equipo, organizar, decidir, gestionar correctamente la información y difundir el conocimiento en sus organizaciones, con la aceptación personal previa de las responsabilidades que toda labor administrativa de dirección exige.

La investigación parte de la pregunta ¿de que manera se gestiona el aprendizaje organizacional y como influye el talento de los administradores para tomar decisiones de aplicar la innovación? La proposición que se hace es que la poca gestión de aprendizaje y el bajo nivel de desarrollo del talento de los administradores, generan menor innovación en las empresas.

### Escenario actual del sector avícola

Los proyectos agroindustriales avícolas, se convierten en una opción factible para el emprendedurismo de negocios productivos, de distribución y venta, son la opción para dar empleo y activar zonas apartadas que requieren proyectos viables, la creatividad y el emprendedurismo van de la mano para hacer crecer organizaciones avícolas locales.

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en el 2013 pronostican que el mercado de la carne crecerá a un ritmo moderado, pero a su vez la carne de ave presenta una de las mayores tasas de crecimiento entre los principales productos agrícolas. En la próxima década debido a que es un sector con altos costos de insumos como cereales forrajeros, energía y mano de obra, los precios de la carne se mantendrán altos, lo que significa área de oportunidad por el lento crecimiento que presenta la producción y una mayor demanda. En los países en desarrollo debido al incremento de ingresos y la urbanización ocasiona que sea intenso el consumo de proteína animal en la dieta. En economías emergentes como China y otros países asiáticos el consumo de carne percapita se ha elevado.



**Gráfico 1** Dominio del consumo de la carne de aves. OCDE y FAO

El mercado de América es considerado el más dinámico del mundo en la producción avícola en el 2015 y por lo tanto la región número uno, sin embargo, la producción ha disminuido según la opinión de expertos, Evans (2015) informa que aun cuando América es la región de mayor producción de carne de pollo, parece haber disminuido de 46.3 a 43.6 por ciento del total mundial. Mientras tanto Asia ha ampliado su participación de un 31.8 a 32.7 por ciento mientras Europa ha incrementado del 16 al 17 por ciento.

La productividad de México en cuanto a a carnes de aves no es suficiente para cubrir el mercado interno que se ha incrementado debido al aumento de los ingresos y de la población. La Jornada (Marzo 21, 2015) publica que además de que los productos avícolas siguen siendo menos caros y más fáciles de preparar, que la carne de vacuno o de cerdo, eso estimula aún más la demanda por lo que se prevé más importaciones a partir del 2015 que crecerán en medio millón de toneladas, o sea 52%

Producto	Años				
	2014	2017	2020	2022	2024
Carnes					
Bobino	235	302	429	453	517
Cerdo	815	920	1,028	1,087	1,052
Pollo y pavo	855	1,027	1,160	1,276	1,386

**Tabla 1** Proyecciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA): México importaciones de carne.

En Querétaro se trabaja con inversión privada de empresas como Pilgrims-Tayson, Bachoco y PolloQro, entre otros, y financiamientos por parte de gobierno del estado colocando a Queretaro, según la Union Avícola Nacional, (UNA) Junto con Aguascalientes en los dos estados más productivos del país UNA (enero 28,2014) con el 11% cada uno, de la producción a nivel nacional, seguidos de la region de la Comarca Lagunera y Veracruz con el 10% y Jalisco el 8%. Jalisco se ubica en el primer lugar de la producción de huevo con el 55% a nivel nacional.

La producción avícola de carne y huevo enfrenta problemas con elevados costos productivos por precios altos en cereales forrajeros y todo tipo de insumos y energía según explica la OCDE y la FAO. La problemática de los micro y pequeños productores en México según señala la CEPAL, FAO, ICCA (2014) inicia con la falta de acceso a créditos, el desconocimiento de financiamientos o programas gubernamentales, la falta de capacitación y poco conocimiento en la erradicación de enfermedades, la falta de asistencia técnica-financiera-legal, desconocimiento de normas internacionales relacionadas con inocuidad alimentaria, desligados de las cadenas distributivas porque no saben vincularse con distribuidores, intermediarios en centros urbanos para el manejo de cantidades considerables de producto, reinvierten poco en infraestructura, maquinaria y equipo, desconocen procesos de certificaciones y falta de asociación o afiliación a cámaras industriales y a otros productores.

Para darle respuesta rápida a estos problemas es donde se requiere el talento de administradores actualizados para manejar un negocio complejo y muy sensible, que se ve afectado por cambios en las tendencias de consumo de los clientes, afectaciones por enfermedades que pueden acabar con la parvada en corto periodo de tiempo, fuerte impacto por incremento en insumos, combustibles y un mercado abierto donde compiten las grandes empresas con todas las ventajas y esto es una barrera que obstruye el desarrollo de las micro y pequeñas empresas, pero al mismo tiempo es una oportunidad de alianzas, porque las grandes que no dominan los mercados locales, necesitan el conocimiento de las empresas regionales o locales. De aquí el administrador este informado para diseñar estratégicamente nuevos sistemas de trabajo que tengan como fuente de energía a las personas y su creatividad, que aporten información actualizada y que visualicen las oportunidades, por lo tanto la labor de los administradores es estratégica para investigar y negociar en afán de lograr organizaciones inteligentes innovadoras y competitivas.

### **Aprendizaje individual genera aprendizaje organizacional**

El ser humano que trabaja en cualquier tipo de organización requiere ambientes en equilibrio porque a pesar de que el aprendizaje parece un acto voluntario del individuo, no depende sólo de eso, depende de la satisfacción de sus necesidades, del ambiente y de la capacidad de fomentar y participar en procesos de interacción con los demás y de su entorno, según lo explica Burton (1963) “el aprendizaje es un cambio en el individuo producido por su interacción con el ambiente, que satisface una necesidad y lo hace más capaz de relacionarse con su entorno”.

Los cambios en la conducta hacen visible el aprendizaje, pero para que se accione un cambio en el individuo depende de sus necesidades que lo hacen selectivamente atender sus requerimientos, su posibilidad de adaptarse a las nuevas formas, la disposición para interactuar con los demás y mimetizar ciertas actitudes y la experiencia que ha dejado marca en el individuo positiva o negativa son algunos otros aspectos que intervienen en el proceso de aprendizaje individual y que condicionan el aprendizaje organizacional.

Las primeras propuestas sobre aprendizaje en las organizaciones surgen postuladas por quienes realizaron estudios muy exactos los movimientos y la fatiga en el trabajo, dando como resultado los diagramas de proceso y de flujo. Mencionados por Stoner y Freeman, (1994) Aportan a la administración científica su teoría sobre un plan de tres posiciones Gilbreth y Moeller (1952) “un empleado debe hacer su trabajo actual, se preparara para la posición superior y adiestra a su sucesor, todo ello al mismo tiempo. Así pues el trabajador debe ser siempre un agente, un aprendiz y un maestro que estará en espera de nuevas oportunidades”

Las aportaciones de Barnard (1939) son fundamentales en el incremento del conocimiento administrativo al considerar a la organización como un sistema social, es decir, un sistema de actividades y fuerzas conscientemente coordinadas de dos o más personas. Es esta investigación la que identifica las formas de colaboración entre los individuos que conforman un sistema social. Reyes (2007) menciona las aportaciones de Barnard, “El individuo solamente puede ser inducido a cooperar si le entiende al trabajo que va a realizar, si se identifica con los propósitos de la organización, si los considera compatibles con sus propios intereses y si supone que puede cumplir su labor, así el empleado colaborará”.

Se edifica el aprendizaje organizacional a partir de las posiciones individuales para construir a la organización, el enfoque positivo de los individuos genera sinergia entre los grupos o equipos de trabajo, para que la organización se adapte a las actuales condiciones del mercado, sin embargo también existe actitudes negativas, errores y problemas que llegan a frenar el avance de la empresa, el ser humano aprende del ambiente que le rodea y es responsabilidad de la administración generar aprendizaje de los errores y problemas y diseñar métodos para superar los obstáculos. El Modelo de Castañeda & Pérez, (2005); Crossan, et al. (1999); Zietsman, et al., (2002) mencionados en Castañeda y Fernández (2007) menciona que “El aprendizaje organizacional consta de tres niveles: Individual, grupal y organizacional y dos rutas, del individuo a la organización y de la organización al individuo, es decir el aprendizaje organizacional se construye a través de individuos que aprenden y el aprendizaje colectivo retorna a los individuos a través de la capacitación”.

De esta manera los empleados en una organización van construyendo su propio aprendizaje, la organización a través de los análisis de puestos y el análisis de procesos estructura los procedimientos a seguir y la información se actualiza al ritmo que la organización la necesita: cuando existe cambio de maquinaria o equipo, cuando surgen puestos nuevos, cuando se eliminan puestos de trabajo, todo cambio muestra que se debe rediseñar el sistema, la información parte de la investigación de mercado que muestra las nuevas especificaciones y las mas recientes condiciones requeridas para mejorar la competitividad de la organización.

### **Estrategia de desarrollo del talento en los administradores**

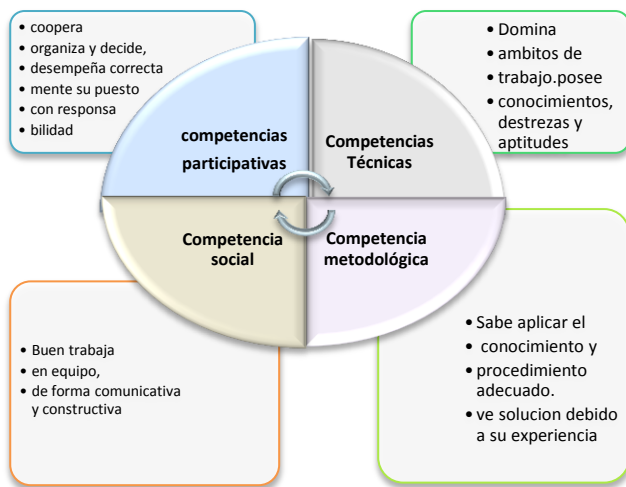
Si los cambio en los mercados son más dinámicos que los cambios dentro de la organización, el administrador comienza a tener grandes problemas, por lo que se vuelve vital que tenga las capacidades, destrezas, habilidades y conocimientos desarrollados de tal manera que desarrollen el talento, porque la acción repetitiva y continua de tomar decisiones sobre una gran variedad de asuntos y dirigir proyectos, es una labor de alto riesgo.

El talento según Renzulli y Reis (1991) es una definición tripartita: habilidad general por arriba del promedio, alto nivel de creatividad y un alto nivel de compromiso por la tarea o motivación por el logro, mencionado en Woolfolk(2006). El dinamismo de una organización requiere líderes.

La gestión del talento de los niveles administrativos se traduce en identificar las competencias que puede tener el gerente, jefe o supervisor de las distintas áreas, según Allen (2002) Desarrollar talento en los administradores implica alinear conocimientos con la estrategia organizacional y considerar su desarrollo de manera constante.

El entorno profesional donde trabaja el administrador requiere la resolución de problemas de manera acertiva Bunk (1994) considera que las competencias se identifican de forma más sencilla como Técnicas, participativas, metodológicas y sociales.

Sin embargo la aplicación de los talentos del administrador se muestran con la habilidad para responder a los retos constantes que tiene la organización, la capacidad de mejora continua en su nivel competitivo, las acciones que se realizan, los logros concebidos y el indicador mas alto que un administrador logra de su organización es el poder de la creatividad de su gente transformada en innovaciones.



**Figura 1** Competencias del administrador, fuente: Bunk 1994

### La innovación efecto del aprendizaje organizacional

Una organización que crece esta expuesta a constantes cambios que sus integrantes generan en ella, debido a que las personas por naturaleza tienden a ser creativas-inventivas de nuevos accesorios, herramientas, maquinas, equipo y a cambiar formas de trabajo aplicando ideas personales que hacen o más complicada la actividad o más sencilla según convenga.

La innovación la define Zaltman, et al (1973) una innovación es una idea, una practica o un artefacto material que ha sido inventado o que es contemplado como novedad, independientemente de su adopción o no adopción.

Las granjas avícolas requieren innovar en mejores especies con mayor cantidad cárnica, en medicamentos que controlen las enfermedades y no afecten la salud del ser humano, en métodos para la bioseguridad, evitar el desperdicio y la contaminación de la comida, cuidar el medio ambiente y de esta manera el sector agroindustrial avícola requiere reestructurarse para modernizarse a través de mejores métodos que minimicen costos, incrementen la calidad y generar ideas que consideren las especificaciones de los clientes en sus mínimos detalles.

En el sector avícola las enfermedades son causa de la devastación de negocios de ahí la importancia de formar alianzas como la propuesta innovadora del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), mencionado en noticias UNA (enero 22, 2015)

“con la participación de Estados Unidos, Canadá y México para la creación de mecanismos de alerta, rápida, dispositivos de emergencia, generación de un banco de vacunas, el intercambio de información precisa sobre líneas genéticas, investigaciones particulares y enfermedades por especímenes virales, debidamente secuenciados en su ADN que se desarrolla con frecuencia en la época invernal, debido a que en el mundo no hay vacuas para atacar el virus de la influenza, ya que está mutando constantemente, por lo tanto se requiere un cepario para facilitar la identificación de virus”. La integración trinacional significa alianza estratégica para minimizar el riesgo del negocio. Las innovaciones en conceptos de bioseguridad, Ortiz y Ortega (febrero 19, 2015) exigen: correcta ubicación de la granja, características de construcción de las naves, control de fauna nociva, limpieza y desinfección de naves y del equipo, sistema de vacío sanitario, control de visitas y de personal ajeno, evitar el estrés de animales y contaminación de alimentos, evitar el estrés de animales, control de vacunación medición y peso, manejo y eliminación de pollinaza y de mortalidad.



Las buenas practicas de Manufactura evitan la contaminación química física y microbiológica, concideran condiciones optimas de almacenamiento, temperatura, humedad, ventilación e iluminación, las instalaciones libres de humedad, olores humo, polvo gases, radiación y luz que afecte con superficie plana pavimentada, desagüe adecuado, agua potable, temperatura adecuada. Los pocedimientos innovadores tienen que ver con POES (procedimientos Operativos, Estandarizados de Saneamiento). De la higiene de los trabajadores también depende su salud, se cuida con lavado constante de manos y lavado diario de uniforme baño con desinfectantes especiales antes de ingresar a instalaciones y al salir de ellas. Materias primas inspeccionadas y almacenadas para evitar deterioro y contaminación. La innovación en procesos tiene que ver con la Trazabilidad y Rastreabilidad. La trazabilidad es el seguimiento de todo el proceso, la rastreabilidad se investiga desde el cliente, producto o servicio hasta su producción primaria de ahí la frase “del campo al plato”.

La Dirección General de Salud Animal (febrero del 2015) recomienda para un mejor control y evitar la deseminación de los agentes etológicos y el establecimiento de enfermedades exóticas capacitar al personal de las granjas para identificar casos sospechosos, establecer procedimientos de seguridad personal en caso de virus potencialmente zoonótico, realizar inspección, revisar animales, efectuar necropsias, coleccionar muestras, evaluar medidas de bioseguridad, elaborar historias clínicas, preparar y enviar muestras a laboratorio de diagnostico, capturar y analizar la información generada, diseñar formatos, elaborar informes y dar seguimiento, integrar expedientes y conformar archivos históricos.

Las innovaciones en procesos y equipo para la crianza avícola han evolucionado rápidamente y la tecnología se enfocan hacia la automatización casi total de las naves en cuanto a clima , ventilación, alimentación, sistemas de bebederos mas higienicos y manejo de material y de las aves con mayor cuidado por la salud de las aves



Figura 2 Procedimiento para certificación de Buenas Prácticas, fuente: SAGARPA Y SENASICA (2015).

Metodología a desarrollar

Es una investigación en granjas avícolas de Querétaro, específicamente en Colón, Toliman y Tequisquiapan, es transeccional iniciada en marzo del 2014 a mayo del 2015. Se aborda el paradigma sociocritico para identificar las acciones acertivas y los errores que se cometen en la toma de decisiones de los administradores de las distintas empresas estudiadas y las repercusiones en los sistemas de trabajo. Se trata de un estudio con metodología cualitativa, descriptiva el objetivo es identificar el sistema de aprendizaje individual y organizacional que las granjas avícolas utilizan, conocer los talentos de los administradores que dirigen a sus organizaciones y la toma de decisiones para introducir la innovación en sus negocios. Es un estudio comparativo que muestra historias de éxito y fracaso de las organizaciones.

La proposición que se hace es que la poca gestión de aprendizaje y el bajo nivel de desarrollo del talento de los administradores, generan menor innovación en las empresas. Se investigó al dueño de una empresa que trabaja en contrato de aparcería con Pilgrim's Pride y administra 21 granjas avícolas, exclusivamente dedicadas a la producción de carne de pollo. Se investigó al administrador de PolloQro una empresa con origen queretana que no trabaja en la producción del ciclo completo. Se entrevistó al dueño de un pequeño negocio familiar con 300 gallinas ponedora. Además se entrevistó a 2 caseteros de granjas pilgrim's, a 2 caseteros de PolloQro y a 2 ayudantes (familiares) del productor de huevo.

### **Resultados**

Se analiza el aprendizaje organizacional de las tres empresas investigadas para realizar su comparativo

#### **Empresa POLLOQRO.**

Los caseteros comentan que la empresa da oportunidades de crecimiento dentro de ella porque la mayoría de entrevistados señalan que iniciaron de ayudantes de caseteros y ahora ellos son los responsables que han aprendido mucho como explica (entrevistado: Casetero de granjas de la Fuente)

“Entramos la mayoría de ayudantes de casetero y nos enseñan a alimentar, cuidar y hasta querer a los pollitos, estamos al pendiente de la temperatura, chequeando los automáticos en la computadora, cada casetero cuida 3 naves con 30 mil pollitos cada una, aprendemos a manejar con higiene el agua para ponerle algunos medicamentos y para que los pollos beban y los alimentos que llegan en camiones y se vacían en tolvas de acero de ahí se reparte en minitolvas y en charolas de iniciación con embudos una vez al día. Yo apenas cuento con primaria y termine primero de secundaria pero aquí me han enseñado y me ha ido bien.

Al inicio chequeaba solo comida y que no hubiera humedad para que no le haga mal al pollo pero ahora sabemos detectar hasta cuando empiezan a verse mal los pollitos y han venido veterinarios a enseñarnos a hacer biopsias”

La capacitación y el interés que la empresa pone en sus trabajadores generan compromiso de ellos hacia la organización como menciona (entrevistado: Casetero de granjas camino al Tejocote)

“cuando entre como casetero era difícil vacunar a cada pollito sin embargo ahora es más sencillo la tecnología facilita las cosas y ya las vacunas se ponen por aspersión con vapor o tomadas en el agua, si hay presión en el trabajo sobre todo cuando se mueren muchos pollos, pero aquí se me ha desarrollado la habilidad de observación ver pollitos, paraditos, que abren el piquito friolentos es señal de alarma, pero me pagan bien ya tengo 20 años trabajando aquí y me siento contento porque estoy en el campo y no en una empresa encerrado”

#### **Empresa granjas ferran**

El aprendizaje es individual y grupal como se muestra en la siguiente (entrevistado: Trabajador de granjas establecidas en el Gallo)

“Si me gusta trabajar aquí porque si nos exigen que hagamos las cosas bien hechas y eso nos hace que ponga más atención en cumplir con los indicadores, además nos dan premio por superar los indicadores, por ejemplo si cuidamos para disminuir las muertes de los pollitos o de poner a tiempo vacunas alimentos higiénicos y agua bien tratada, para eso nos dan cursos donde aprendemos como hacerlo bien “

La confianza entre ayudantes y jefes debe ser mutua como lo muestra (Entrevistado: supervisor de granjas en el Gallo)

“ los mismos ayudantes junto con los caseteros se ponen de acuerdo cuando alguno no puede llegar a tiempo y se apoyan, después de un curso la empresa lleva carne asada y se genera convivencia sana, a veces se tienen problemas porque los más jóvenes no respetan las ordenes entonces la explicación es más larga y profunda para que entiendan porque se debe seguir al pie de la letra la orden. Nos organizamos para formar parte de equipos de futbol y participamos en la liga regional. “

El aprendizaje organizacional surge cuando a través de procedimientos bien establecidos se trabaja de tal forma que cada integrante le quede claro que debe realizar (Entrevistado Don Rogelio Ferran, Dueño).

“ Pilgrim´s nos capacita y nos respalda con platicas de bioseguridad y manejo de equipo, sin embargo no tenemos manuales de procedimientos, pero se checan los indicadores que se les da a los trabajadores y esto a permitido que la mortandad se encuentre en tasas bajas entre un 6 a un 8% , la granja no cuenta con políticas internas, solo se sigue lo establecido por Pilgrim´s Pride”

**Empresa productora de huevo**

En esta empresa todos hacen todo tipo de actividades como lo muestra la siguiente (Entrevistado: Dueño de la organización productora de Huevo)

“Aquí el trabajo es mucho y lo hacemos lo mejor que podemos, son buenos los resultados porque vendemos todo, pero poco a poco vamos a ir entendiéndole a este negocio”

1. REGISTRO LEGAL	GRANJAS FERRAN	POLLO QRO	No cuenta con registro
2. HISTORIA	EN 1958 INICIA LA CRIANZA DE TRASPATIO CON GALLINAS DE CORRAL En 1959 producen pollo de engorda En 1982 se unen a trabajar forman una asociación con	Inicia en 1960 como producción familiar de Don Rafael con 100 gallinas ponedoras y Doña Angelita su esposa quien también producía y	2010 Inicia con inversión de la familia y ahorros personales compra 300 pollitas para

	productores regionales llamados pollo Querétaro con granjas propias En el 2000 una crisis les afecta y se separan. Ahí nace Granjas Ferran que trabaja bajo contrato con Pilgrim´s pride	comercializaba 1963 inicia engorda de pollos y cerdos En 1966 se funda como empresa Abrego Osornio Rafael 1982 alianza con productores de pollo regionales 2000 nace Polloqro	crianza como gallinas ponedoras de las cuales quedan 270 a las 17 semanas que se convierten en gallinas de postura
3 EMPRESAS y FUNCIONES	Solamente son granjas donde se hacen crecer los pollos, Pilgrims se encarga de surtir de alimento, capacitación y da recomendaciones de trabajo con normas de calidad muy estrictas	Nutribaq, 4 unidades pecuarias, Granjas reproductoras de Río Verde San Luis Potosí	Los integrantes de la familia se encargan de venta y atención a las gallinas
4. COMO EL PROCESO PRODUCTIVO	El mantenimiento de granjas es de 15 a 18 días como periodo de limpieza de casetas, se humean y se desinfectan con cítricos, se ventilan las naves para evitar aromas. Pilgrims manda el pollo de un día de nacido, apoyan además con servicios de un veterinario supervisor y nos toca criar, engordar y procesar el pollo con o sin vísceras para enviarlo a México, listo para ponerse en los estanquillos de los mercados y en pollerías. La empresa respalda además con bioseguridad y manejo de equipo	Inicia con un gallo fecunda 8 gallinas en promedio y cada gallina pone 6 huevos a la semana, el proceso de incubación en incubadoras de 130,000 pollitos diarios y a los 21 días de nacido se vacunan se separan y se trasladan a las granjas. En cada nave se crían 30,000 pollitos aproximadamente, el proceso de crianza es de 100,000 aves diarias en promedio en 7 semanas y media y se envían a su venta a mercados principales de México, el D.F. Querétaro y Guanajuato.	Anteriormente las gallinas se tenían sueltas en un patio, pero se morían muy seguido, las cambiamos a un lugar techado y hemos ido comprando jaulas, que al principio las mande hacer, por buscar menores costos, pero se sangraban las patitas y las demas gallinas las picotaban y después por internet conseguí unas más adecuadas y cada gallina se encuentra separada.
5. MEDIDA DE SEGURIDAD	No ingreso de personas ajenas. Las personas que ingresan se bañan, desinfectan sus zapatos, usan calzado especial o botas, overol, cofia, tapabocas. Los camioneros al ingresar a las granjas pasan por un arco que contiene líquido desinfectante y se impregnan las llantas y todo el camión para evitar que ingrese contaminación a la granja y con el transportan la pollinaza deben salir bien tapados para que no contaminen	Al ingresar a las granjas se tiene un proceso automatizado de desinfección de todo tipo de camión, autobús y automóvil. Los caseteros y sus ayudantes se bañan antes de ingresar a las granjas, utilizan uniforme. Sin embargo cuando hace frio no se cambian chamarra ni sudadera ni suéter, se registran en bitácoras y al salir lavan su ropa incluso la ropa interior se deja secando para el día siguiente.	Se mantiene la higiene cuidando que el agua que beben las aves este fresca, limpia y disponible, de igual manera se cuida la cantidad de alimento que se sirve, se lavan bebederos se recolectan y limpian huevos y cuando las gallinas están en jaulas se saca las charolas donde cae el excremento que estaban cubiertas con papel y se limpian. Las personas no usan protección alguna

6.PROCESO DE COMERCIALIZACION	Nosotros no lo realizamos, se encarga Pilgrim's	El pollo se engorda hasta pesar de 3 kilos a 3.200 kilos, se mata y se le quita vísceras y se lleva a los principales mercados en el D.F es donde más vendemos, así como se distribuye en México, Guanajuato y Querétaro. Los pollo de 1.6 a 2.0 kgs se venden para rostizar, las gallinas se venden a negocios que las ofrecen en caldo y las plumas, vísceras y gallinaza se venden a empresas de comida de perros o de otros animales.	El huevo se encarga mi esposa de ofrecerlo en las tiendas de esta localidad y de San Juan del Río, se vende muy bien porque en su mayoría es huevo de doble yema y color rojizo, la gente le gusta más ese huevo y por eso no nos da trabajo su venta, pero si es pesado porque quita mucho tiempo esta ofreciéndolo y llevándolo.
-------------------------------	---	---	--

**Tabla 2** Comparativo de empresas avícolas: Acciones consecuencia del aprendizaje.

Las empresas comparadas tienen un ritmo diferente de aprendizaje, sus trabajadores se encuentran en un proceso continuo donde se vuelve importante la labor de equipo para adecuar el negocio al contexto actual.

**Talento de administradores**

	ADMINISTRADOR GRANJAS FERRER (FERRER)	ADMINISTRADOR POLLOQRO (ABREGO)	DUÑO DE EMPRESA PRODUCTORA DE HUEVO
TALENTOS	TOMA DE DECISIONES	TOMA DE DECISIONES	TOMA DE DECISIONES
HABILIDAD	Conocimientos: producción de especies con mayor pechuga :Arbor, Acres y Hubbard . Capacidad Asociarse: con Pilgrim's empresa especialista en el área Capacidad de liderazgo: Lograr la cooperación de la gente	Conocimientos: inicia el negocio como crianza de traspatio de aves y cerdos Capacidad de fomentar las relaciones Públicas: relación con gobierno y presidente de Asociaciones de avicultores Capacidad de liderazgo: integrar a toda su familia en el negocio	Conocimientos: sin conocimientos del negocio, sin experiencia Capacidad de emprendedurismo: Se inicia con inversión familiar Destrezas: en el uso del internet
CREATIVIDAD	anteriormente se necesitaba mucha gente para el cuidado de los pollos, ahora con la tecnología las cosas han	Granjas automatizadas con tecnología de punta, bien localizadas con accesos rápidos a carretera	Investigación en internet sobre tipo de gallinas, región, clima para identificar a proveedores

	cambiado, la producción se potencializa» Tecnificadas con sistemas mecánicos y automatización modernos	federal Diversidad de negocios: reproductoras, incubadoras, plantas de alimento y procesadoras y biodigestores	Aprende sobre errores: Mando hacer jaulas que no le sirvieron y las compro con proveedor de internet más prácticas
COMPR OMISO	Con la empresa Pilgrim's con especificaciones elevadas en calidad y tecnología de punta Con sus trabajadores: organiza cursos, convivios y premia el alto desempeño Comunidad : coopera en construcción de escuelas, iglesia,	Con mejorar la calidad de vida de su familia Con alcanzar la calidad y cantidad productiva para mejorar el nivel de competencia de la organización Con sus trabajadores a través de sueldos y prestaciones atractivos	La empresa inicia en el 2010 y vende en el 2011 Porque implicaba mucho trabajo.

**Tabla 3** Comparativo del talento de los administradores de cada organización.

La experiencia y el conocimiento se vuelven relevantes en el manejo del negocio, así como el conocimiento. La creatividad nace de identificar lo que la competencia hace y los mercados exigen, la adopción de innovaciones tecnológicas es parte de la creatividad de los empresarios.

**La innovación**

**Empresa PolloQro.**

Las granjas avícolas invierten en innovaciones relacionadas con tecnología, bioseguridad, ecología, debido a la necesidad de lograr disminuir el riesgo de esta actividad, sin embargo esto repercute en costos.

(Entrevistado: Administrador de la empresa)

“la empresa ocupa tecnología avanzada en incubación, son maquinas holandesas, comedores automatizados, producidos en Estados Unidos y se trabaja con granjas de genética (Cop y Ros) de Estados Unidos, la evisceración también es automática. La planta procesadora es en su mayoría automatizada así como los galpones que tienen sistemas manejados a través de computadora, se innova también mejorando procedimientos de trabajo y considerando los detalles que los trabajadores nos platican, en todas las áreas desde caseteros, supervisores, especialistas, todas las opiniones son validas para solucionar los problemas y en cierto modo esa es la creatividad, de ahí nace la innovación”

### **Granjas Ferran**

(Entrevista a Rogelio Ferran)

La tecnología con la que cuentan las granjas es tecnología norteamericana que provee de sistemas de calefacción que mantiene la temperatura entre 32 y 33° C, bebederos y comedores automáticos se adaptan a las granjas tipo túnel de 20 a 30 metros con paredes húmedas y ventiladores y extractores, con cortinas automáticas para que cambie el aire y el pollo no reciba el enfriamiento con orientación de oriente a poniente. Se tienen maquinas especiales que vacunan el pollo en el cuello, las vacunas también han evolucionado, antes se les aplicaba en los ojos, pollo por pollo, en la actualidad hay vacunas que se ponen en el agua o por asperción se humean las granjas y los pollos las aspiran. Hace falta un sistema de celdas solares en el generador particular para evitar que el equipo se apague. Las medidas de seguridad también son innovadoras porque cuidan cada vez más los detalles y son en su mayoría preventivas, solo en algunos casos se vuelven reactivas”

### **Microempresa productora de huevo**

(Entrevista al dueño)

“Las innovaciones que se hicieron en el tiempo que me duro mi negocio, fueron muchas, por ejemplo cambiamos bebederos por unos más prácticos que no permitían que el agua se escurriera y generara humedad, cuando cambiamos del corral sin techo a una bodega que se tenía , también fue una buena idea porque se enfermaron menos los animales, El tipo de jaulas también fue algo que no creía yo que fuera tan importante, sin embargo de eso depende incluso la cantidad de moscas o el peligro de que los roedores asechen a las gallinas, son pequeños detalles que muchas veces no se saben y que te pueden generar grandes perdidas si no innovas”

Los tres administradores se encuentran a favor de la innovación y aún cuando los resultados son distintos.

### **Agradecimiento**

Esta investigación es parte del Fondo para el fortalecimiento de la Investigación 2014 de la Universidad Autónoma de Querétaro, y merece un agradecimiento especial a todos los que participaron en apoyo a este proyecto:

Dr. Gilberto Herrera Ruíz, Rector de la UAQ

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña, Directora de la Dirección de Investigación y Posgrado

Dr. Arturo Castañeda Olalde, Director de la Facultad de Contaduría y Administración

M. en A. José Alberto Héctor Castro Ferrusca

Coordinador de la Facultad Campus San Juan del Río

**Conclusiones**

El aprendizaje en PollosQro aplica el modelo de 3 posiciones de Gilbreth y Moeller (1952) donde aprenden de su propia experiencia al realizar las labores que les tocan hacer en su puesto, de sus jefes o superiores que los capacitan y al mismo tiempo enseñan a puestos inferiores.

El aprendizaje se transmite de jefes a subordinados y se va logrando lo que Barnard (1939) menciona se le induce al trabajador a cooperar porque empieza a entender lo que hace debido a la capacitación continua que se les da por parte de supervisores y veterinarios, se identifica con los propósitos de la organización. El trabajador le gusta lo que hace y le conviene lo que hace al recibir un sueldo razonable y prestaciones, se esfuerza porque sabe que si puede cumplir su labor y ese compromiso adquirido con la organización facilita el aprendizaje de él y de sus ayudantes.

El aprendizaje organizacional se muestra en la cooperación de los trabajadores, el apoyo de especialistas y el aprendizaje de sus dueños la producción de la empresa PolloQro a logrado posicionarse en el lugar 13 entre las firmas productoras en el país procesando 600,000 aves semana debido a que sus costos los mantienen bajos porque producen el ciclo completo que consta de reproductoras, incubadoras, plantas de alimento y procesadoras así como ocho biodigestores que eficientan los gastos de energía.

El aprendizaje en Granjas Ferran sigue más el modelo propuesto por Castañeda & Pérez, (2005), Crossan, et al (1999) y Zietsman, et al (2002) donde mención que el aprendizaje es individual, grupal y organizacional.

Individual porque se desarrolla las habilidades de los trabajadores, Grupal porque se confía en los ayudantes y en el jefe para coordinar esfuerzos y organizacional porque a pesar que no se tienen procedimientos en un manual, se les da a conocer los indicadores que se deben lograr y el trabajador se enfoca en superarlos, es claro que también existe aprendizaje organizacional cuando la información que fluye es la precisa exacta y correcta.

En la micro empresa productora de huevo no cuenta con organización jerárquica ni procedimientos establecidos se trabaja solamente en la solución de problemas, sin embargo el aprendizaje que genera esta más adaptado a las condiciones del modelo de Gilbreth y Moeller (1952) donde cada trabajador es un agente, aprendiz y maestro, porque todos hacen de todo.

El talento de los administradores se impone ante la difícil realidad que vive el sector avícola. Los conocimientos en el área se vuelven de vital importancia, así como las alianzas, asociaciones y desarrollo de las relaciones públicas.

Las organizaciones requieren líderes con visiones claras, no solo experimentadores, porque el costo que paga la organización es su desintegración.

Para las dos grandes empresas avícolas se vuelve vital estar innovando porque significa adaptación a los cambios, en cambio a la microempresa los costos pueden elevarse mucho cuando se innova sin un plan financiero previo.

De este modo se reflexiona sobre la proposición inicial que señalaba que la poca gestión de aprendizaje y el bajo nivel de desarrollo del talento de los administradores, generan menor innovación en las empresas, no se demostró porque aun cuando la micro empresa productora de huevo, no logro pasar de un año de vida, las causas no fueron la poca innovación, pueden ser otras causas como la falta de recursos, si se puede ver que la falta de conocimientos y experiencia generan grandes conflictos a la organización aunado a la poca gestión del aprendizaje, pero de estos dos factores no fueron influencia suficiente porque la empresa si innovó.

### Referencias

Allen, M.A. (2005) Desarrollo del talento humano basado en competencias, España: Ediciones Granica S.A. p131

Bunk, G. (1994) La transmisión de las competencias en la formación y perfeccionamiento profesional de la RFA. Revista Europea Formación Profesional (1) pp 7-16

Burton, W. (1963) Basic principles in a Good Teaching Learning situation, Nueva York: McKay, pp. 7-19, 110.

Evans, Terry (2015) Tendencias avícolas mundiales 2014: <http://www.elsitioavicola.com/articles/2673/tendencias-avacolas-mundiales-2014-baja-la-participacion-de-america-en-la-produccion-mundial-de-pollo>

La Jornada del campo (Marzo 21, 2015) Volverán a elevarse los precios internacionales de alimentos. Num09. México: La jornada

El Sitio Avicola (junio 24, 2015) PolloQro alcanza puesto 13º en producción de pollo en México consultado el 30 junio 2015 de <http://www.elsitioavicola.com/poultrynews/30376/polloqro-alcanza-puesto-13no-en-produccion-de-pollo-en-maxico/>

CEPAL, FAO Y IICA (2014) Perspectiva de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas. Consultado el 24 abril 2014 de <http://repiica.iica.int/docs/b3165e/b3165e.pdf>

Castañeda, D.I., Fernández, R. M. (2007), *Validación de una escala de niveles y condiciones de aprendizaje organizacional. Universitas Psychologica*,6. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana, 245-254

Dirección General de Salud animal (febrero 2015) Regulaciones y manejo de crisis en enfermedades aviarias. Consultado 3 marzo del 2015 de <http://sistemaproductoaves.org.mx/noticias/>

Liquidano, R. C. (julio-diciembre 2007) El perfil del administrador de Recursos Humanos y el contexto en el que se desempeña, Revista Conciencia Tecnológica, num34, México: Instituto tecnológico de Aguascalientes

OCDE-FAO (2013) perspectivas agrícolas 2013-2022, México: Universidad Autónoma de Chapingo, OCDE/ FAO p182

UNA (enero 28, 2014) Crecerá 2.5 la avicultura mexicana en el 2015, consultado el 2 enero 2015 de <http://www.una.org.mx/index.php/panorama/crecera-2-5-la-avicultura-mexicana-en-2015>

Reyes, P. A.(2007) *ADMINISTRACIÓN MODERNA*. México: LIMUSA. pp. 49-136

Stoner, J.A.F. y Freeman, R.E. (1994) Administración. México: Prentice Hall pp35, 242-250

Woolfolk, A. (2006) Psicología educativa, USA: Pearson Educacion p.140

Zaltman, G. Duncan, R. y Holbek, J. (1973) Innovations and Organizations. USA: J. Wiley & Sons



### **Instrucciones para Autores**

A. Envío de artículos con las áreas de análisis y la modelación de los problemas en Comercio Internacional

B. La edición del artículo debe cumplir las siguientes características:

- Redactados en español o en inglés (preferentemente). Sin embargo, es obligatorio presentar el título y el resumen en ambos idiomas, así como las palabras clave.

- Tipografía de texto en Times New Roman #12 (en títulos- Negritas) y con cursiva (subtítulos- Negritas) #12 (en texto) y # 9 (en citas al pie de página), justificado en formato Word. Con Márgenes Estándar y espaciado sencillo.

- Usar tipografía Calibre Math (en ecuaciones), con numeración subsecuente y alineación derecha: Ejemplo;

$$\sigma \in \Sigma : H\sigma = \bigcap_{s < \sigma} Hs \quad (1)$$

- Comenzar con una introducción que explique el tema y terminar con una sección de conclusiones.

- Los artículos son revisados por los miembros del Comité Editorial y por dos dictaminadores anónimos. El dictamen será inapelable en todos los casos. Una vez notificada la aceptación o rechazo de un trabajo, su aceptación final estará condicionada al cumplimiento de las modificaciones de estilo, forma y contenido que el editor haya comunicado a los autores. Los autores son responsables del contenido del trabajo y el correcto uso de las referencias que en ellos se citen. La revista se reserva el derecho de hacer los cambios editoriales requeridos para adecuar los textos a nuestra política editorial.

C. Los artículos pueden ser elaborados por cuenta propia o patrocinados por instituciones educativas ó empresariales. El proceso de evaluación del manuscrito no comprenderá más de veinte días hábiles a partir de la fecha de su recepción.

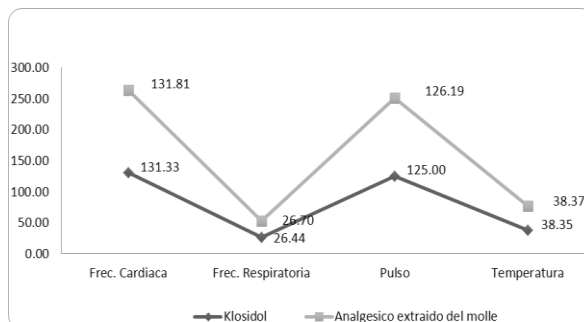
D. La identificación de la autoría deberá aparecer únicamente en una primera página eliminable, con el objeto de asegurar que el proceso de selección sea anónimo.

E. Los cuadros, gráficos y figuras de apoyo deberán cumplir lo siguiente:

- Deberán explicarse por sí mismos (sin necesidad de recurrir al texto para su comprensión), sin incluir abreviaturas, indicando claramente el título y fuente de consulta con referencia abajo con alineación izquierda en tipografía número 9 con negritas.

- Todo el material de apoyo será en escala de grises y con tamaño máximo de 8cm de anchura por 23cm de altura o menos dimensión, además de contener todo el contenido editable

- Las tablas deberán ser simples y exponer información relevante. Prototipo;



**Gráfico 1** Relación de valores y porcentajes post-quirúrgicos entre medicamentos

F. Las referencias bibliográficas se incorporarán al final del documento con estilo APA.

La lista de referencias bibliográficas debe corresponder con las citas en el documento.

G. Las notas a pie de página, que deberán ser usadas sólo excepcionalmente para proveer información esencial.

H. Una vez aceptado el artículo en su versión final, la revista enviará al autor las pruebas para su revisión. ECORFAN-Spain únicamente aceptará la corrección de erratas y errores u omisiones provenientes del proceso de edición de la revista reservándose en su totalidad los derechos de autor y difusión de contenido. No se aceptarán supresiones, sustituciones o añadidos que alteren la formación del artículo. El autor tendrá un plazo máximo de 10 días naturales para dicha revisión. De otra forma, se considera que el (los) autor(es) está(n) de acuerdo con las modificaciones hechas.

I. Anexar los Formatos de Originalidad y Autorización, con identificación del Artículo, autor (es) y firma autógrafa, de esta manera se entiende que dicho artículo no está postulado para publicación simultáneamente en otras revistas u órganos editoriales.

**Formato de Originalidad**



Madrid, España a \_\_\_\_ de \_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_

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

Artículo (Article):

---

Firma (Signature):

---

Nombre (Name)

**Formato de Autorización**



Madrid, España a \_\_\_\_ de \_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_

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

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

Artículo (Article):

\_\_\_\_\_  
Firma (Signature)

\_\_\_\_\_  
Nombre (Name)

# Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales

**Compuestos antimicrobianos de origen natural contra mohos de interés en los alimentos: Estado del arte**

CORTES-CORTES, Gerardo, OCHOA-VELSCO, Carlos, NAVARRO-CRUZ, Addí y AVILA-SOSA, Raúl

**Efecto del clorhidrato de clenbuterol sobre el funcionamiento hepático en modelo conejo**

VALLADARES-CARRANZA, Benjamín, BAÑUELOS-VALENZUELA, Rómulo, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, VELAZQUEZ-ORDOÑEZ, Valente, ECHAVARRIA-CHAIREZ, Francisco y MURO-REYES, Alberto

**Evaluación de la concentración hepática de plomo en bovinos sacrificados en el rastro municipal de Toluca, México**

VALLADARES-CARRANZA, Benjamín, ORTEGA-SANTANA, César, PEÑA-BETANCOURT, Silvia, ROSILES-MARTÍNEZ, René y MAYA-SCHUSTER, Edgar

**Establecimiento del cultivo *in vitro* de *Cyrtopodium macrobulbon* (orquidácea). Bases para su micropropagación**

CARRANZA-ALVAREZ, Candy, MALDONADO-MIRANDA, Juan, CARRILLO-INUNGARAY, María y HERNANDEZ-MORALES, Alejandro

**Catálogo conductual del tepezcuintle *Cuniculus paca* (Rodentia:Cuniculidae) en cautiverio y su relación con el ciclo estral**

KOYOC-CRUZ, Manuel, MONTES-PEREZ, Ruben y CENTURION-CASTRO, Fernando

**Búsqueda de Nematodos entomopatógenos (Steinernematidae y Heterorhabditidae) en cultivos agrícolas**

HUESO-Eva, FALLAD-Jalil, MANCILLA-Oscar y SEPULVEDA-José

**Aprendizaje y talentos de los administradores de granjas avícolas para la innovación**

QUEZADA-MORENO, Maribel, NERI-VEGA, Jovita, PEREZ-BRAVO, Julia y OYOA-GARFIAS, Jessica

ISSN-2444-4936



www.ecorfan.org