

Volumen 11

Número 2

| Diciembre 2020

Revista **Tlamati** Sabiduría



**UAGro**

Dirección General de  
Posgrado e Investigación

<http://tlamati.uagro.mx>



## Comité Editorial

### Consejo Editorial

Dr. Javier Saldaña Almazán (Presidente)  
Dra. Berenice Illades Aguiar (Secretaria)  
Dr. Justiniano González González (Vocal)  
M. C. José Luis Aparicio López (Vocal)  
Dr. Crisólogo Dolores Flores (Vocal)  
Dr. Oscar Talavera Mendoza



Foto de la portada: *Swan Song*. Composición electrónica de la fotografía del *Black Hole Cygnus X-1*, archivo de dominio público creado por la NASA. NASA/CXC/M.Weiss. Universidad Autónoma de Guerrero.

### Editores responsables

Dr. Oscar Talavera Mendoza  
Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

### Editores por áreas del conocimiento

Dr. Elías Hernández Castro  
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Agropecuarias

Dr. José Legorreta Soberanis  
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Dr. José Francisco Muñoz Valle  
Universidad de Guadalajara

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Dr. José María Sigarreta Almira  
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Exactas y Matemáticas

Dr. Rodrigo Carramiñana  
Southern Illinois University

Ciencias Exactas y Matemáticas

Dra. Laura Sampedro Rosas  
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Ambientales y Desarrollo Regional

Dr. Ricardo Sánchez García  
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Dra. Luisa Concepción Ballester  
Southern Illinois University

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

### Índice LATINDEX Folio 29407

### Responsable de la Edición

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

### Coordinación Editorial

Lic. Isabel Rivero Cors

### Corrección de estilo

M. C. Magdalena Martínez Durán

### Auxiliares de Edición

Lic. Tania Alejandra Reyes González  
M. A. Jorge Roberto Romero Bonilla

#### CINTILLO LEGAL

**Tlamati Sabiduría**, Volumen 11, Número 2, Julio-Diciembre 2020 es una publicación semestral editada por la Universidad Autónoma de Guerrero a través de la Dirección General de Posgrado e Investigación. Av. Javier Méndez Aponte No. 1, Col. Servidor Agrario, C.P. 39070, Chilpancingo, Guerrero, México Tel: +52 (747) 471 93 10 ext. 3091. <http://tlamati.uagro.mx>. Editores responsables: Dr. Oscar Talavera Mendoza y Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título: 04-2019-120310025200-203. ISSN para la edición electrónica en trámite, ISSN para la edición impresa 2007-2066, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización: Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez. Edificio de Educación Virtual. Av. Javier Méndez Aponte S/N, Col. 14 de febrero, C. P. 39070, Chilpancingo, Guerrero, México. Fecha de la última modificación: 31 de diciembre de 2020.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación para fines didácticos no lucrativos, siempre y cuando se cite la fuente completa; su uso para otros fines requiere previa autorización de la Universidad Autónoma de Guerrero.



## Comité Editorial de Revisores por Área de la Ciencia

### BIOLOGÍA Y QUÍMICA

Dr. Eneas Alejandro Chavelas Adame  
Dr. Oscar Del Moral Hernández

### BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dr. Francisco Palemón Alberto  
Dr. Gerardo Huerta Beristáin  
Dr. Jaime Olivares Pérez  
Dr. Luis Miguel Camacho Díaz

### CIENCIAS SOCIALES

Dr. Ángel Ascencio Romero  
Dra. América Libertad Rodríguez Herrera  
Dra. Columba Rodríguez Alviso  
Dra. Cristina Barroso Calderón  
Dra. Dulce María Quintero Romero  
Dra. Margarita Jiménez Badillo  
Dra. Rocío López Velasco

### FÍSICO MATEMÁTICAS Y CIENCIAS DE LA TIERRA

Dr. Francisco Julián Ariza Hernández  
Dr. Jorge Sánchez Ortiz  
Dr. Juan Carlos Hernández Gómez  
Dr. Marco Antonio Taneco Hernández  
Dr. Martín Patricio Árciga Alejandre  
Dra. Ernestina Felicia Castells Gil

### HUMANIDADES Y CIENCIAS DE LA CONDUCTA

Dr. Camilo Valqui Cachi  
Dr. Osvaldo Ascencio López  
Dra. Flor M. Rodríguez Vásquez  
Dra. Ma. Gloria Toledo Espino

### MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Dr. Sergio Paredes Solís  
Dra. María Eugenia Flores Alfaro  
Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán  
Dra. Mónica Espinoza Rojo

# Contenido

Pag

Editorial

4

## Ciencias Naturales

**Alteraciones sobre la calidad espermática y daño genético de los espermatozoides humanos por exposición *in vitro* a glufosinato de amonio grado técnico y comercial.** 5

*M. K. Ramírez-Venancio, Miguel Ángel Zayas-Balderas, Ma. de Jesús Solís-Heredia, Mercedes Calixto-Gálvez, Salvador Muñoz-Barrios, Sandra Quintana-Ponce, Cecilia González-Calixto, Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta*

**Frecuencia de *Escherichia coli* y otros indicadores de contaminación fecal en cuatro parques recreativos y la planta tratadora de agua en Chilpancingo, Guerrero, México.** 12

*Juan Carlos Cruz Martínez*

**El efecto del Cadmio sobre la expresión del ARNm de la DNMT3B en células HepG2** 19

*José Jonathan Camacho Espinoza, Daniel Hernández Sotelo, Oscar Del Moral Hernández, Ana Margarita Dircio Gutiérrez, Luz Del Carmen Alarcón Romero, Yaneth Castro Coronel*

**Participación de la enzima lipasa en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en queso fresco en presencia de consorcios microbianos** 24

*Roberto Adame-Gómez, Uriel Noyola- Baños, Natividad Castro- Alarcón, Jeiry Toribio- Jiménez, Arturo Ramírez Peralta*

**Composición química y actividad antibacteriana de extractos orgánicos de *Phoradendron sp.*** 29

*Johanan García Vara, Paola Rossy García Sosa, Patricia Álvarez Fitz, Norma Reyna Robledo Quintos*

**Composición de la microbiota intestinal y su asociación con parámetros antropométricos y bioquímicos en estudiantes jóvenes adultos con obesidad y peso normal** 33

*Alma Delia Nicolás-Morales, Arturo Ramírez-Peralta, Ramón Alberto Batista-García, Yordanis Pérez-Llano, Hugo Castelán-Sánchez, Natividad Castro-Alarcón*

**Primer reporte del picudo del maguey *Scyphophorus acupunctatus* en *Agave cupreata* y su control biológico en el estado de Guerrero, México** 38

*Diana I. Orbe-Díaz, Ana L. Juarez-López, María Laura Sampedro-Rosas, Sergio G. Ramírez-Rojas, Jeiry Toribio-Jiménez*

**Registros del zambullidor menor *Tachybaptus dominicus* en Omiltemi, Guerrero, México y la importancia de conservar la biodiversidad** 42

*Epifanio Blancas-Calva*

## Ciencias Sociales

**De la biotecnología a la producción sostenible: Innovar desde las cadenas productivas** 46

*Leonardo J. López-Damián, Diana I. Orbe Díaz, Yanet Romero-Ramírez, Erubiel Toledo-Hernández, Jeiry Toribio-Jiménez*

**Marketing ecológico y los productos orgánicos comestibles certificados un enfoque del consumidor hidalguense** 51

*Eduardo Muñoz Bautista, Alejandra Vega Barrios, Arlen Cerón Islas*



## Editorial

Una de las tendencias que se deben impulsar en ésta época de pandemia como respuesta al gran reto a que nos enfrentamos, es el de desarrollar procesos innovadores de investigación sobre educación STEAM (Science, Technology, Engineering, Arts and Mathematics), entre colectivos multidisciplinares, para medir el impacto que en la investigación científica tiene la interacción colaborativa avanzada por medio de la realidad aumentada y mixta, con un enfoque ético, legal y humanista.

Tlamati Sabiduría no es ajena a estos objetivos específicos que se proponen la integración de realidad virtual y mixta y al ser una publicación científica formal e indexada, forma parte ya de un repositorio científico que en un futuro cercano, puede encontrar oportunidades para evolucionar en objetos de realidad aumentada y mixta, apps móviles y agentes virtuales relacionados con la difusión del conocimiento en las áreas de educación STEAM, como recursos que puedan explorar el mundo en forma virtual, incrementar el grado de interacción educativa virtual, impulsada con propuestas relacionadas con la realidad mixta con un enfoque ético, legal y humanista y así ayudar a posicionar de manera interinstitucional los esfuerzos que permitan vincular información de carácter científico y académico con la finalidad integrarlos a la industria 5.0.

Estos también debe permitir el desarrollo de acciones y estrategias enfocadas en la apropiación social del conocimiento, como son: Comunicación Institucional, Participación Ciudadana y Divulgación Científica. Dentro de la comunicación institucional, Tlamati se tiene que integrar a las propuestas de realidad virtual e híbrida como un esfuerzo de mejora para las propuestas de Divulgación Científica de los artículos, ya que se tiene contemplado que esta información sea generada por profesores-investigadores y a su vez, sea una herramienta de expresión e innovación de Participación Ciudadana para que permita a los alumnos y académicos interesados en la ciencia, interactuar y generar nuevo conocimiento.

Pero eso ya no estará en mis manos. Hay un tiempo de cerrar ciclos y experiencias y dejar en las manos de otros que apenas empiezan, el alcanzar nuevas metas y enfrentar nuevos desafíos. Fuimos de una publicación tradicional a una nueva y formal perspectiva en la publicación digital de esta revista, cumpliendo los requisitos necesarios para posicionarla como la única revista indexada de difusión y divulgación científica en la Universidad Autónoma de Guerrero. De corazón espero que no sea la última, pero eso deja de estar en mis manos.

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez





## Alteraciones sobre la calidad espermática y daño genético de los espermatozoides humanos por exposición *in vitro* a glufosinato de amonio grado técnico y comercial

M. K. Ramírez-Venancio<sup>1</sup>  
Miguel Ángel Zayas-Balderas<sup>1</sup>  
Ma. de Jesús Solís-Heredia<sup>2</sup>  
Mercedes Calixto-Gálvez<sup>1</sup>  
Salvador Muñoz-Barrios<sup>1</sup>  
Sandra Quintana-Ponce<sup>1</sup>  
Cecilia González-Calixto<sup>3</sup>  
Mayrut Osdely Urióstegui-Acosta<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero. Escuela Superior de Ciencias Naturales. Laboratorio de Inmunotoxigenómica. Carretera Nacional Chilpancingo-Petaquillas, Ex Rancho Shalako, Petaquillas, Guerrero-México. C. P. 39105. Tel +52 (747) 494 2100.

<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Departamento de Toxicología. Cd. de México, México.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Guerrero. Facultad de Enfermería. Acapulco, Guerrero-México.

**\*Autor de correspondencia**  
[uriosteguiacosta@uagro.mx](mailto:uriosteguiacosta@uagro.mx)

### Resumen

Los plaguicidas organofosforados [OF] son de importancia médica por su impacto en la salud, en particular se ha reportado que los plaguicidas grado comercial son más reprotóxicos que el grado técnico. El glufosinato de amonio [GLA], que es un herbicida foliar OF se ha relacionado con efectos a nivel reproductivo y sobre el desarrollo embrionario, es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos adversos por la exposición *In vitro* a GLA grado técnico y comercial sobre los espermatozoides de humano. Las muestras de cinco donadores (se realizaron alícuotas de  $5 \times 10^6$ ) a los que se les evaluó previamente todos los parámetros de calidad espermática se expusieron a GLAt (técnico) y GLAc (comercial) concentraciones de 300, 500, 750 y 1000  $\mu\text{M}$  en medio de capacitación M16, se incubaron 1h/37°C/5% CO<sub>2</sub>, se evaluó la viabilidad, motilidad, y daño al ADN espermático. Se observó que el GLAc fue ligeramente más tóxico que el GLAt ya que disminuyó la viabilidad, motilidad, generó rupturas en el ADN y alteraciones sobre la condensación de la cromatina espermática. Por otro lado, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las mismas dosis con las diferentes presentaciones de GLA. El GLAc fue ligeramente más reprotóxico que el GLAt.

### Palabras clave

Plaguicidas Organofosforados, Glufosinato de amonio, Calidad espermática, Cromatina espermática.

### Como citar el artículo:

Ramírez-Venancio, M. K., Zayas-Balderas, M. A., Solís-Heredia, Ma. de J., Calixto-Gálvez, M., Muñoz-Barrios, S., Quintana-Ponce, S., González-Calixto, C. y Urióstegui-Acosta, M. (2020). Alteraciones sobre la calidad espermática y daño genético de los espermatozoides humanos por exposición *in vitro* a glufosinato de amonio grado técnico y comercial. *Tlamati*, 11(2), 5-11.

## Abstract

Organophosphate [OP] pesticides are of medical importance for their health impact, in particular commercial grade pesticides have been reported to be more reprotoxic than technical grade. Ammonium glufosinate [GLA] which is a foliar herbicide OF has been related to effects at the reproductive level and on embryonic development, which is why the aim of this work were to evaluate the adverse effects of *In vitro* exposure to grade GLA. technical and commercial on human sperm. Samples from five donors (5 x 106 aliquots were made) to which all sperm quality parameters were previously evaluated were exposed to GLA (technical) and GLAc (commercial) concentrations of 300, 500, 750 and 1000 mM in M16 training medium, 1h / 37C / 5% CO2 were incubated, viability, motility, and damage to sperm DNA were evaluated. It was observed that the GLAc was slightly more toxic than the GLA since it decreased the viability, motility, generated breaks in the DNA and alterations on the condensation of the spermatid chromatin, on the other hand, statistically significant differences were observed between the same doses with the different GLA presentations. GLAc was slightly more reprotoxic than GLA.

**Keywords:** Organophosphate pesticides, Ammonium glufosinate, Sperm quality, Sperm chromatin.

## Introducción

Estudios recientes han mostrado un fuerte deterioro global en la salud reproductiva masculina (Sengupta, Borges Dutta y Krajewska-Kulak 2017), particularmente, México enfrenta una pobreza severa y malos resultados en salud (World Bank, 2017). En las últimas dos décadas, varios estudios han reportado que la exposición ambiental y ocupacional a plaguicidas se ha asociado con alteraciones en la fertilidad masculina (Martenies y Perry, 2013), estas alteraciones se aprecian por una baja calidad espermática, el incremento en la incidencia de criptorchidismo, hipospadias y tumores en células testiculares que han sido atribuidas por la exposición a químicos disruptores endocrinos en el ambiente, alimentos y productos farmacéuticos, incluyendo micotóxicos y plaguicidas (Kumar, Telang, Singh, Jain, Afroz y Patil, 2011; Skakkebaek, Rajpert-De Meyts, Buck Louis, Toppari, Andersson, Eisenberg, Jensen, Jørgensen, Swan, Sapra y Ziebe, 2016). La prevalencia de la infertilidad (definida como la incapacidad de una pareja para concebir después de un año de relaciones sexuales frecuentes, sin medidas anticonceptivas) se ha estimado que ocurre en 15% de las parejas en edad reproductiva (Irvine, 1998), se atribuye al factor masculino 40 a 50% de los casos (Bhasin, De Krester y Baker, 1994).

Existen plaguicidas de diferentes categorías químicas, como los organoclorados [OCL], organofosforados [OF], carbamatos [CB] y piretroides. Estos plaguicidas son ampliamente estudiados por su actividad disruptiva endocrina. Los plaguicidas son usados extensivamente en la agricultura en áreas tropicales, con la finalidad de incrementar la producción de los campos agrícolas. Con la aplicación de estos agentes químicos se espera que incrementen las producciones agrícolas en función de los aumentos de las poblaciones a nivel mundial (Nili-Ahmadabadi, Ali-Heidar, Ranjbar, Mousavi, Ahmadimoghaddam y Larki-Harchegani, 2018; Wielogórska, Elliott, Danaher y Connolly, 2015). Los OF son extensamente usados en la agricultura/horticultura y ahora han remplazado a los OCL, debido a su eficiencia en el control de plagas y su rápida degradación en el ambiente (Li, Nagahara, Takahashi, Takeda, Okumura y Minami, 2002).

El glufosinato de amonio [GLA] es un herbicida foliar, que químicamente es un OF no selectivo y se utiliza para

controlar el crecimiento de malezas post-emergentes. La Organización Mundial de la Salud [OMS] lo clasifica como moderadamente peligroso (Grupo II) (OMS, 2010). Está registrado para su uso en cultivos y zonas no cultivables en: plantas ornamentales y una variedad de áreas industriales, residenciales y públicas (International Programme on Chemical Safety-International Chemical Safety Information [IPCS-INCHEM], 1991; National Institutes on Health [NIH], 2015).

Con respecto a su toxicocinética, esta es limitada, sin embargo, en ratas se ha reportado en ratas, un Nivel sin Efecto Adverso Observable [NOAEL] de 14 mg/kg de peso corporal (IPCS 1991). La DL50 establecida en ratones de la cepa ICR es de 436 mg/kg de peso corporal, mientras que la dosis reportada para intentos suicidas en humanos es aproximadamente 13.9 mg/kg de peso corporal (IPCS 1991, Schulte-Hermann, Wogan, Berry, Brown, Czeizel, Giavini y Neubert, 2006; Mao, Hung, Wu, Tsai, Wang, Ger y Yang, 2012).

El GLA inhibe selectivamente la actividad de la glutamina sintetasa y el glutamato descarboxilasa, resultando en un incremento de los niveles del ácido glutámico, generando toxicidad en el sistema nervioso central (Watanabe y Sano, 1998). Los efectos severos del envenenamiento agudo por GLA son convulsiones, paro respiratorio, coma y alteración de la conciencia (Hori, Tanaka, Fujisawa y Shimada, 2003).

En poblaciones humanas se observó que en agricultores italianos se asoció la exposición a una mezcla de plaguicidas, entre ellos el GLA, con la generación de daño al ADN en células somáticas y la presencia de aductos 8-hidroxiguanosina (8-oxodG) en células de sangre periférica (Cortes-Genchi Villegas-Arrizón, Aguilar-Madrid, Del Pilar, Maruris-Reducindo y Juárez- Pérez, 2008; Koureas Tsezou, Tsakalof, Orfanidou, y Hadji-Christodoulou, 2014; Locia-Morales, 2014). A nivel reproductivo, el estudio realizado en trabajadores chinos de una fábrica de plaguicidas (etil-paratión, metil-paratión y metamidofos), redujo en la concentración y motilidad espermática (Padungtod, Savitz, Overstreet, Christiani, Ryan y Xu, 2000). Por su parte, Sánchez-Peña, Reyes, Lopez-Carrillo, Recio, Morán-Martínez, Cebrian y Quintanilla-Vega (2004) reportaron la presencia de células inmaduras y alteración en la estructura de la cromatina de los espermato-

Tabla 1. Parámetros basales espermáticos de cada donador.

No. de donador	Viabilidad (%)	Motilidad (%)	Concentración ( $10^6$ células/mL)	Morfología (%)
1	90±0.7	82±8.5	107±9.9	84.5±0.3
2	84±1.4	78.5±2.1	70.5±0.7	89±0.7
3	85±2.8	81±8.5	85.5±0.7	91±1.2
4	89±5.7	85.5±4.9	84±9.9	90.2±1.0
5	89.5±0.7	88.5±2.1	85±7.0.	86±0.5

Se presenta la media  $\pm$  DS de los parámetros de calidad de las veces que dono muestra.

zoides de agricultores de La Comarca Lagunera, México; quienes estuvieron expuestos a una mezcla de plaguicidas. Finalmente, Pérez-Herrera, Polanco-Minaya, Salazar-Arredondo, Solís-Heredia, Hernández-Ochoa, Rojas-García y Quintanilla-Vega (2008), reportaron una disminución de la calidad del semen y daño al ADN en agricultores del estado de Yucatán, afectando los distintos estadios de maduración de las células espermáticas. En un modelo murino se observó que plaguicidas como el diazinón grado comercial (administrado a dosis únicas), alteró la calidad espermática (viabilidad, motilidad, morfología), provocó rupturas en el ADN y alteración en la compactación de la cromatina espermática a los 8 días post-exposición (Piña-Guzmán, Solís-Heredia y Quintanilla-Vega, 2005), Urióstegui-Acosta, Hernández-Ochoa, Solís-Heredia, Martínez-Aguilar, y Quintanilla-Vega (2014), reportaron que la exposición a dosis repetidas a metamidofos grado comercial fue más reprotóxica que la exposición a metamidofos grado técnico. Estudios recientes del grupo de trabajo de González-Calixto, Moreno-Godínez, Marutis-Reducindo, Hernández-Ochoa, Quintanilla-Vega y Urióstegui-Acosta en el 2017, mostraron que el GLA grado técnico alteró la calidad espermática y generó rupturas en el ADN de los espermatozoides de ratones expuestos de manera aguda. Finalmente, la exposición de espermatozoides *in vitro* a metilparatión grado comercial y técnico, alteró los parámetros de calidad espermática y generó alteraciones en la membrana plasmática de los espermatozoides (Cervantes-Leyva y Vázquez-Peña, 2018).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos sobre los parámetros de calidad (viabilidad y motilidad) y daño al ADN espermático por la exposición *in vitro* a GLA grado técnico y comercial sobre los espermatozoides de humano.

## Materiales y métodos

### Reactivos

Glufosinato de amonio grado técnico [GLAt], dimetil sulfoxido [DMSO] y albúmina de suero bovino [BSA] fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St Louis, MO). EspermaVIT y EspermaCON fueron adquiridos de MegaFertil (México City, México) y la naranja de acridina [AO] de Amersham (Amersham, UK). El Glufosinato de amonio grado comercial [GLAc] fue adquirido en una expendedora de plaguicidas.

### Muestras espermáticas

Las muestras de semen fueron obtenidas de cinco voluntarios sanos, que presentaron parámetros normales de calidad de semen de acuerdo con los criterios establecidos

por la OMS en el 2010 (véase Tabla 2). Para el daño al ADN e integridad de la cromatina espermática, se consideró lo establecido por Evenson (2016). Las muestras de semen (tres muestras por individuo) fueron colectadas en contenedores de plástico de boca ancha estériles y la calidad espermática se evaluó antes de cumplir 1 h de haber colectado la muestra.

### Exposición a Glufosinato de amonio

Alicuotas de  $5 \times 10^6$  espermatozoides (con al menos un 70% de motilidad progresiva), se trataron con GLAt y GLAc a concentraciones de 300, 500, 750 y 1000  $\mu$ M en DMSO (0.15%) en medio de capacitación M16, suplementado con BSA (3.5 mg/mL). Los tratamientos se realizaron por duplicado para cada concentración de GLAt y GLAc. Cada tratamiento se llevó a un volumen final de 1 ml, posteriormente se incubó por 1 h a 37°C en una atmósfera del 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de O<sub>2</sub>.

Después de la exposición a los diferentes tratamientos de GLAt y GLAc, las muestras se centrifugaron a 3500 rpm/6 min, se eliminó el sobrenadante y se resuspendieron en medio M16.

### Evaluación de la integridad del ADN y estructura de la cromatina espermática por citometría de flujo

Se empleó la técnica Sperm Chromatin Structure Assay [SCSA], modificada por Evenson (2016). La técnica de SCSA evalúa la susceptibilidad de la cromatina espermática a la desnaturalización ácida *in situ*. Las muestras fueron incubadas con el fluorocromo naranja de acridina [NA], el cual posee propiedades metacromáticas que le permiten intercalarse entre las bases del ADN de doble cadena y emitir una fluorescencia verde (ADN no desnaturalizado) y cuando se intercala con el ADN de cadena sencilla emite una fluorescencia roja (ADN desnaturalizado). Se evaluaron el Índice de Fragmentación del ADN [DFI], y la Alta fluorescencia del ADN [HDS], los cuales representan el daño al ADN y el porcentaje de células con una cromatina inmadura o alterada, respectivamente.

Para ello, una alícuota de  $2 \times 10^6$  espermatozoides se

Tabla 2. Parámetros establecidos en el Manual de la OMS en su 5ta edición.

Parámetros	Valores
Viabilidad	58%
Motilidad	32%
Concentración	15 x $10^6$ células/mL
Morfología	4% o más



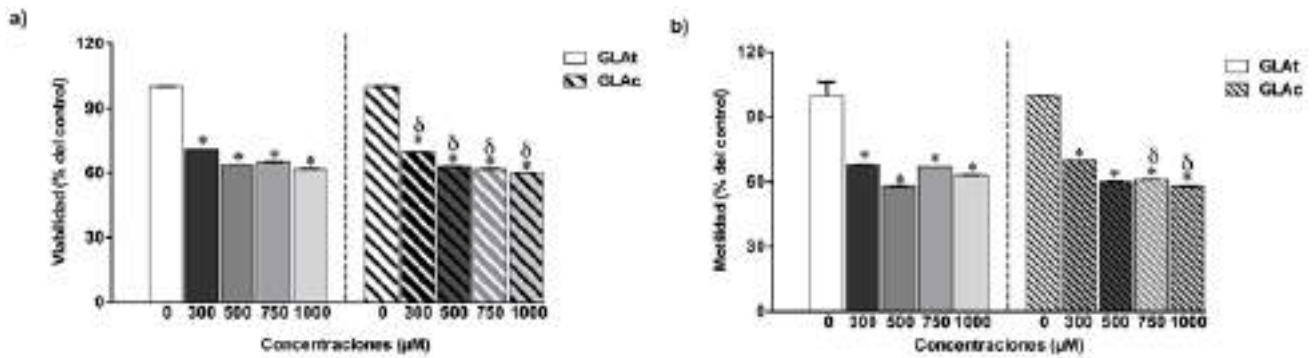


Figura 1. Viabilidad y motilidad espermática después de la exposición a GLAt y GLAc. Los espermatozoides fueron incubados a las diferentes dosis (300M, 500M, 750M y 1000M) por 1 h/37°C/5% CO<sub>2</sub>/95% O<sub>2</sub> después de ese tiempo se evaluó la viabilidad (a) y motilidad (b). Los datos representan la media y DE. Los grupos control y tratado se conformaron de 5 muestras y sus respectivos duplicados, respectivamente, por dosis. \*Diferencia significativa comparada al grupo testigo ( $p < 0.05$ ) de acuerdo a la prueba de ANOVA y la prueba Pos-Hoc Bonferroni y §Diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) comparada entre GLAt y GLAc y las mismas dosis fue con la prueba de Pearson.

resuspendió en 200 µl del amortiguador TNE (Tris-HCl 0.01 M, NaCl 0.15 M y EDTA 0.01 M, pH 7.4), y se sonóico (Ultrasonic processor GE-130) a un máximo de potencia de 60 % a 4 °C/3 min para eliminar las células somáticas contaminantes. Posteriormente, a una alícuota de 100 µL de esta suspensión ( $1 \times 10^6$  espermatozoides) se le agregaron 200 µL de la solución permeabilizante (HCl 0.08 N, NaCl 0.15 M y Tritón X-100 0.1 %, pH 1.2) y la muestra se dejó reposar sobre una cama de hielo durante 30 seg para facilitar la entrada del fluorocromo a las células. Inmediatamente después se adicionaron 600 µL de la solución de tinción (ácido cítrico 0.1 M, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0.2 M, EDTA 0.001 M, NaCl 0.15M y 600 µl de NA) y la muestra se dejó reposar en hielo durante 3 min. Posteriormente, la preparación celular fue depositada en un tubo de polipropileno para su análisis en un citómetro de flujo (FACSort Becton Dickinson, CA). Una muestra de referencia fue evaluada en cada corrida como control de calidad. Los datos fueron analizados en el programa SCSASoft® (SCSA Diagnostic, Inc., Brookings, SD).

#### Análisis estadístico

Los resultados estadísticos se reportaron como media  $\pm$  Desviación Estándar [DE] de cinco donadores (tres muestras independientes de cada donador), duplicados de cada experimento fueron realizados. Se analizaron los grupos control y tratados por la prueba de análisis de varianza y con la prueba pos-hoc Bonferroni. Los tratamientos de las muestras con la misma concentración de GLAt y GLAc fueron analizados con la prueba Pearson. El programa estadístico STATA® versión 12 (Stata Corp., College Station, TX), se usó para todos los cálculos estadísticos. La significancia estadística fue  $p < 0.05$ .

#### Resultados

##### Parámetros basales espermáticos previos a la exposición a GLAt y GLAc

Se evaluaron los parámetros de calidad espermática de las muestras de semen de los 5 donadores previo a la expo-

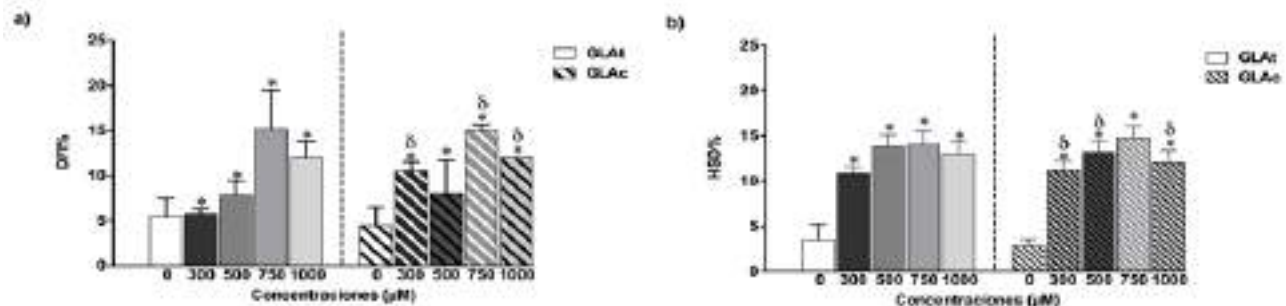


Figura 2. Rupturas al ADN y alteraciones de la integridad de la cromatina por la exposición a GLAt y GLAc. Los espermatozoides fueron incubados a las diferentes dosis (300M, 500M, 750M y 1000M) por 1 h/37°C/5% CO<sub>2</sub>/95% O<sub>2</sub>, después de ese tiempo se evaluó el DFI% (a) y HSD% (b). Los datos representan la media y DE. Los grupos control y tratado se conformaron de 5 muestras y sus respectivos duplicados, respectivamente, por dosis. \*Diferencia significativa comparada al grupo testigo ( $p < 0.05$ ) de acuerdo a la prueba de ANOVA y la prueba Pos-Hoc Bonferroni y §Diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) comparada entre GLAt y GLAc y las mismas dosis fue con la prueba de Pearson.

sición con las diferentes concentraciones de GLA, los cuales cumplieron con las medidas estándar (como son: viabilidad, motilidad, concentración y morfología espermática) establecidas por la OMS (2010), (véanse Tabla 1 y Tabla 2).

#### *La exposición in vitro a GLAt y GLAc afecta la calidad de los espermatozoides*

La viabilidad y motilidad se evaluó posterior a la exposición para determinar si afectaba la exposición a las diferentes concentraciones (300  $\mu$ M, 500  $\mu$ M, 750  $\mu$ M y 1000  $\mu$ M) y presentaciones GLAt y GLAc de GLA. La viabilidad disminuyó en un 29 %, 36 %, 35 % y 38 % en el grupo de GLAt, mientras que con el GLAc 30 %, 37 %, 38 % y 40 %. Mientras que la motilidad en el grupo expuesto a GLAt se alteró en un 32 %, 42 %, 33 % y 37% y finalmente en el grupo de GLAc esta disminución fue de un 30 %, 40 %, 39 % y 42 % (concentraciones de 300  $\mu$ M, 500  $\mu$ M, 750  $\mu$ M y 1000 M), todos comparado respectivamente con el grupo control ( $p < 0.05$ ). Se compararon si había diferencia entre las mismas dosis de ambos grupos y se observó diferencia en viabilidad en todas las dosis ( $p < 0.05$ ), mientras que en la motilidad estas diferencias solo se vieron en las concentraciones de 750  $\mu$ M y 1000  $\mu$ M ( $p < 0.05$ ), (véase Figura 1).

#### *Alteraciones sobre el DFI% Y HSD% por exposición a GLAt y GLAc*

El DFI% se alteró 0.06 veces en la concentración de 300  $\mu$ M, 0.2 veces en 500  $\mu$ M, 1.7 veces en 750  $\mu$ M y 1.2 veces en 1000  $\mu$ M, el grupo tratado con GLAt, mientras que en el grupo tratado con GLAc a las concentraciones de 300  $\mu$ M a 1000  $\mu$ M, se alteró 1.4, 0.7, 2.4, 1.7 veces, comparado con el grupo control ( $p < 0.05$ ). Se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las mismas dosis en las diferentes presentaciones de GLA (GLAt *Vs* GLAc) (véase Figura 2).

#### **Discusión**

Actualmente se han realizado numerosas investigaciones epidemiológicas en distintas poblaciones agrícolas en el mundo donde se ha estudiado los efectos asociados con la exposición a plaguicidas (Cortés-Genchi et al. 2007), los cuales son ampliamente utilizados en México, el GLA que es un herbicida OF muy empleado en México, representa un problema de salud (Pérez-Herrera et al. 2008, Rojas-García, Medina-Díaz, Robledo-Marengo, Barrón-Vivanco, Girón-Pérez, Velázquez-Fernández, González-Arias, et al. 2011, Urióstegui-Acosta et al. 2014). A nivel reproductivo masculino estudios del grupo de trabajo han demostrado que el GLA disminuyó la viabilidad, motilidad e incrementa el daño morfológico, así como generó rupturas en el ADN y alteraciones de la cromatina espermática (González-Calixto et al., 2017). Aunque el GLA ha sido estudiado por sus efectos embriogénicos, dismorfogénicos y teratogénicos, así como por su capacidad de inducir partos prematuros y abortos en hembras expuestas experimentalmente, es limitado lo que se sabe de los efectos sobre tracto reproductor masculino (IPCS, 1999, Schulte-Hermann et al. 2006). En este trabajo evaluamos si había diferencias

estadísticas en la exposición a GLAt y GLAc en un sistema de espermatozoides *in vitro*, y se demostró que el GLAc y GLAt disminuyen la viabilidad y motilidad de los espermatozoides humanos. De igual manera, este trabajo nos muestra que el GLAt y GLAc es tóxico para los espermatozoides maduros, por otro lado, se demostró que tanto el GLAt y el GLAc generaron rupturas en el ADN y alteraciones sobre la cromatina de los espermatozoides maduros. Estos resultados concuerdan con los reportado por Urióstegui-Acosta y colaboradores (2014) en donde en ratones expuestos a METt y METc (3.75, 5 y 7 mg/kg/d/4 d/via I.P.) encontraron alterados los parámetros de calidad espermática con el METc, mientras que con el METt no se observaron diferencias significativas. De igual manera se demostró que ambas presentaciones de MET generaron rupturas al ADN espermático y alteraciones sobre la compactación de la cromatina concluyendo que el GLAc es más reprotóxico.

Otros estudios de los efectos de los plaguicidas sobre el tracto reproductor masculino han mostrado que la exposición *in vivo* a plaguicidas OF alteran los parámetros de calidad espermática, tal es el trabajo de Piña-Guzmán y colaboradores (2005) en donde ratones machos en edad reproductiva expuestos a dosis únicas de metil paratión (3-12 mg/kg/d/I.P) alteraba la viabilidad y motilidad espermática; así como la exposición a dosis agudas de metamidofos (3.75, 5 y 7 mg/kg/d/4d/I.P), se alteró la viabilidad, motilidad y morfología espermática, estudios *In vitro* (espermatozoides humanos), han demostrado que la exposición a dosis bajas de metil paratión, clorpirifos, diazinón, y sus metabolitos metil paraoxón, clorpirifos oxón, diazoxón, alteró la viabilidad espermática y generó rupturas en el ADN espermático (Salazar-Arredondo, De Jesús-Solís, Rojas-García, Hernández-Ochoa y Quintanilla-Vega, 2008). En poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas grado comercial se han reportado alteraciones en los parámetros de calidad como: viabilidad, motilidad, morfología y se ha reportado rupturas sobre el ADN (ensayo cometa) y alteraciones sobre la compactación de la cromatina (Sánchez-Peña et al., 2004; Pérez-Herrera et al., 2008).

Aunque la comparación entre el GLAt y GLAc, nos indica que los coadyuvantes en donde se diluyen los plaguicidas comerciales son tóxicos, la composición exacta de la formulación del vehículo de GLAc es confidencial y puede variar. Hasta ahora, se conoce parcialmente la toxicocinética del GLA y se podría suponer que el vehículo de formulación puede contener ingredientes para mejorar la penetración de la membrana celular del GLA (Williamson, Long, Kallman y Wilson, 1989). Esto sugiere que el GLA tiene como blanco al ADN. Estos efectos pueden estar relacionados con algunos de los tres mecanismos de acción de los OF como son: generación de estrés oxidativo, alquilación del ADN y proteínas (es decir, la formación de aductos alquilado), así como fosforilación de proteínas. Se ha propuesto que uno de los mecanismos más estudiados recientemente es la fosforilación de proteínas, como es el estudio en donde dosis únicas del insecticida OF diazinón fosforila proteínas nucleares (protaminas), de los espermatozoides en ratones alterando así la estructura de la cromatina de los espermatozoides (Piña-Guzmán et al., 2005). Por otro lado, se evaluó la capacidad de MET para fosforilar proteínas de las células espermáticas. Los análisis de inmunodetección mostraron que residuos de serina y tirosina de las proteínas (extracto total del espermatozoide) fueron fosforilados en

diferentes estadios de maduración de los espermatozoides (28 y 45 dpt). Por lo tanto, estas alteraciones en las proteínas pueden explicar algunos de los efectos observados en la función espermática de los ratones expuestos a MET (Urióstegui-Acosta et al., 2014). Con respecto al daño oxidativo se ha abordado estudios en modelo murino, en poblaciones y en sistemas *in vitro*, en donde se ha involucrado los efectos con la generación del daño oxidativo (Sharma, Bashir, Irshad, Gupta, Dogra, 2005; Gultekin, Delibas, Yasar y Kilinc, 2001; Ranjbar, Pasalar y Abdollahi, 2002). Un posible origen del estrés oxidativo (generación de ROS) es a través de la activación del CYP durante el metabolismo OF, que produce principalmente superóxido (Bondy y Naderi., 1994). Con respecto a este mecanismo tenemos los trabajos de Piña-Guzmán, Solis-Heredia, Rojas-García, Urióstegui-Acosta y Quintanilla-Vega (2006) y Urióstegui-Acosta, (2007), en donde ratones expuestos a dosis únicas y repetidas de Metil Paratión se observó la generación de estrés oxidativo evaluado a través de la determinación de malondialdehído [MDA], un producto de la lipoperoxidación de la membrana plasmática y se asoció con las alteraciones a los parámetros de calidad espermática y daño genético. Aunque la generación de daño oxidativo por OF es un mecanismo muy plausible de su toxicidad en el ADN espermático, nuestros resultados sugieren que ambas presentaciones de GLA ejercen efectos genotóxicos probablemente por un mecanismo oxidativo, estudios que actualmente se están realizando para evaluar esta hipótesis.

## Conclusiones

Estos hallazgos nos permiten tener en cuenta que algunos plaguicidas grado comercial, así como técnico, resultan ser tóxicos, aunque en algunos casos existen ligeras diferencias como es en este, esto es un indicio que los coadyuvantes en los que los plaguicidas se disuelven son tóxicos y que esto impacta en la calidad espermática y por ende en la capacidad fertilizantes de los varones que se dediquen a la actividad agrícola o en la producción de agroquímicos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al M. en C. Víctor Hugo Rosales García por el apoyo técnico brindado en la realización de los ensayos y por su asistencia con el citometro de flujo (CINVESTAV-IPN), de igual manera al Laboratorio de Toxicología ambiental de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas-UAGro y al Laboratorio de Toxicología Reproductiva Masculina del Departamento de Toxicología (CINVESTAV-IPN), por su apoyo en el préstamo de sus instalaciones. Este estudio fue financiado por el Proyecto Semilla otorgado a MUA (# 094/2015) por la UAGro.

## Referencias

- Bhasin, S., De Krester, D.M., Baker, H.W. (1994). Pathophysiology and natural history of male infertility. *J Clin Endocrinol Metab*, 79, 1525-1529.
- Bondy SC, Naderi S. Contribution of hepatic cytochrome P450 systems to the generation of reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol* 1994;48: 155-9.
- Cervantes-Leyva, D., y Vázquez-Peña, J.Y. (2018). *Evaluación de los efectos adversos por la exposición In vitro a Metil-Paratión grado comercial sobre los espermatozoides de humano*. Tesis de licenciatura, Escuela Superior de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Guerrero, 24-26 p.
- Cortés-Genchi, P., Villegas-Arrizón, A., Aguilar-Madrid, G., Del Pilar, P.R.M., Maruris-Reducindo, M. y Juárez-Pérez, C. (2007). Symptom prevalence and pesticide management on agricultural workers. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc*, 46, 145-152.
- Evenson, D. (2016). The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility. *Animal Reproduction Science*, 169, 56-75.
- González-Calixto, C., Moreno-Godínez, Ma. E., Marutis-Reducindo, M., Hernández-Ochoa, M.I., Quintanilla-Vega, Ma. B., Urióstegui-Acosta, M.O. (2018). El glufosinato de amonio altera la calidad y el ADN de los espermatozoides de ratón. *Rev. Int. Contam. Ambie. (Especial sobre Contaminación y Toxicología por Plaguicidas (CTP))*, 34, 7-15.
- Gultekin F, Delibas N, Yasar S, Kilinc I. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch Toxicol* 2001;75:88-96.
- Hori, Y., Tanaka, T., Fujisawa, M., Shimada, K. (2003). Toxicokinetics of DL-glufosinate enantiomer in human BASTA poisoning. *Biol Pharm Bull*, 26, 540-543.
- Programme on Chemical Safety-International Chemical Safety Information. (1991). Programme on Chemical Safety. 828. Glufosinate ammonium (Pesticide residues in food: 1991 evaluations Part II Toxicology) [en línea] <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v91pr12.htm> 06-15-15.
- Irvine, D.S. (1998). Epidemiology and aetiology of male infertility. *Hum Reprod*, 13 (Suppl 1), 33-44.
- Koureas, M., Tsezou, A., Tsakalof, A., Orfanidou, T. y Hadji-Christodoulou, C. (2014). Increased levels of oxidative DNA damage in pesticide sprayers in Thessaly Region (Greece). Implications of pesticide exposure. *Sci. Total Environ*, 496, 358-364.
- Kumar, S.N., Telang, A.G., Singh, K.P., Jain, A.K., Afroz, M., Patil, R.D. (2011). Experimentally induced toxicity of ochratoxin a and endosulfan in male wistar rata: a hormonal disorder in adult male rats. *J. Anim. Vet. Adv*, 10, 1750-1755.
- Li, Q., Nagahara, N., Takahashi, H., Takeda, K., Okumura, K., Minami, M. (2002). Organophosphorus pesticides markedly inhibit the activities of natural killer, cytotoxic T lymphocyte and lymphokine-activated killer: a proposed inhibiting mechanism via granzyme inhibition. *Toxicology*, 172, 181-190.
- Locía-Morales, D. (2014). *Polimorfismo en el gen PON1 y daño del AND en población expuesta ocupacionalmente a plaguicidas organofosforados*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, 30 p.
- Mao Y.C., Hung D.Z., Wu M.L., Tsai W.J., Wang L.M., Ger J. y Yang C.C. (2012). Acute human glufosinate-containing herbicide poisoning. *Clin. Toxicol.* 50, 396-402. DOI: 10.3109/15563650.2012.676646
- Martenies, S. E. y Perry, M, J. (2013). Environmental and occupational pesticide exposure and human sperm pa-

- rameters: a systematic review. *Toxicology*, 307, 66-73.
- National Institutes on Health (Febrero 20, 2015). *TOXNET. Toxicology Data Network. Glufosinate- ammonium NIH*. U.S-National Library of Medicine. Obtenido de: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/m/77182-82-2> 19/12/2016.
- Nili-Ahmadabadi, A., Ali-Heidar, F., Ranjbar, A., Mousavi, L., Ahmadi-moghaddam, D., Larki-Harchegani, A. (2018). Protective effect of amlodipine on diazinon-induced changes on oxidative/antioxidant balance in rat hippocampus. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 13, 368-76.
- Organización Mundial de la Salud. (2010). *Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*, World Health Organization. Fifth ed. University Press, Cambridge, New York.
- Padungtod, C., Savitz, D. A., Overstreet, J. W., Christiani, D. C., Ryan, L. M. y Xu, X. (2000). Occupational pesticide exposure and semen quality among Chinese workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 42, 982-992.
- Pérez-Herrera, N., Polanco-Minaya, H., Salazar-Arredondo, E., Solís-Heredia, M., Hernández-Ochoa, I., Rojas-García, E. y Quintanilla-Vega, B. (2008). PON1Q192R genetic polymorphism modifies organophosphorous pesticide effects on semen quality and DNA integrity in agricultural workers from southern Mexico. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 230, 261-268.
- Piña-Guzmán, B., Solís-Heredia, M. y Quintanilla-Vega, B. (2005). Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 202, 189-198.
- Piña-Guzmán, B., Solís-Heredia, M.J., Rojas-García, A.E., Urióstegui-Acosta, M., Quintanilla-Vega, B. (2006). Genetic damage caused by methyl-parathion in mouse spermatozoa is 712 related to oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 216, 216-224.
- Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M. (2002). Induction of oxidative stress and acetyl- cholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. *Human & Experimental Toxicology*, 21, 179-82
- Rojas-García, A. E., Medina-Díaz I. M., Robledo-Marengo, M. de L., Barrón-Vivanco, B. S., Giron-Pérez, M. I., Velázquez-Fernández, J. B., González-Arias, C. A., Albores-Medina, A., Quintanilla-Vega, B., Ostrosky-Wegman, P. et al. (2011). Hematological, biochemical effects, and self-reported symptoms in pesticide retailers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 53, 517-521.
- Salazar-Arredondo, E., De Jesús-Solís, H. M., Rojas-García, E., Hernández-Ochoa, I., y Quintanilla-Vega, B. (2008). Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. *Reproductive Toxicology*, 25, 455-460.
- Sánchez-Peña, L., Reyes, B., Lopez-Carrillo, L., Recio, R., Morán-Martínez, J., Cebrian, M. y Quintanilla-Vega, B. (2004). Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196, 108-113.
- Schulte-Hermann R., Wogan G.N., Berry C., Brown N.A., Czeizel A., Giavini E. y Neubert D. (2006). Analysis of reproductive toxicity and classification of glufosinate-ammonium. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44, 1-76.
- Sengupta, P., Borges Jr., E., Dutta, S. y Krajewska-Kulak, E. (2017). Decline in sperm count in European men during the past 50 years. *Human & Experimental Toxicology*, 37, 247-255.
- Sharma, Y., Bashir, S., Irshad, M., Gupta, S. D., Dogra, T. D. (2005). Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology*, 206, 49-57
- Skakkebaek, N. E., Rajpert-De Meyts, E., Buck Louis, G. M., Toppari, J., Andersson, A. M., Eisenberg, M. L., Jensen, T. K., Jørgensen, N., Swan, S. H., Sapra, K. J., Ziebe, S. (2016). Male reproductive disorders and fertility trends: influences of environment and genetic susceptibility. *Physiological Reviews*, 96, 55-97.
- Urióstegui-Acosta M. (2007). *Daño oxidativo y rupturas en el ADN espermático por la exposición a metil paratión*. Tesis Maestría. CINVESTAV-IPN, Cd. de México, México.
- Urióstegui-Acosta, M., Hernández-Ochoa, I., de Jesús Solís-Heredia, M., Martínez-Aguilar, G., y Quintanilla-Vega, B. (2014). Comparative effect of technical and commercial formulations of methamidophos on sperm quality and DNA integrity in mice. *Environmental toxicology*, 29(8), 942-949.
- Watanabe, T. y Sano, T. (1998). Neurological effects of glufosinate poisoning with a brief review. *Human & Experimental Toxicology*, 17, 35-39.
- Wielogórska, E., Elliott, C.T., Danaher, M., Connolly, L., 2015. Endocrine disruptor activity of multiple environmental food chain contaminants. *Toxicology in Vitro*, 29, 211-220.
- Williamson, E. G., Long, S. F., Kallman, M. J., y Wilson, M. C. (1989). A comparative analysis of the acute toxicity of technical-grade pyrethroid insecticides and their commercial formulations. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 18(1), 27-34
- World Bank. (2017). *World Bank Country and Lending Groups: Historical Classifications*, FY. Obtenido de: <https://datahelpdesk.worldbank.org/knowledgebase/articles/906519-world-bank-country-andlending-groups>.



## Frecuencia de *Escherichia coli* y otros indicadores de contaminación fecal en cuatro parques recreativos y la planta tratadora de agua en Chilpancingo, Guerrero, México

Juan Carlos Cruz Martínez\*

<sup>1</sup>Centro de Estudios Superiores Guerrero [CESGRO]. Sor Juana Inés De la Cruz #15 Barrio de Tequicorral, Chilpancingo de los Bravo, Gro. México. C. P. 39080. Tel: +52 (747) 47 2 24 69.

\*Autor de correspondencia  
[qbpjccm@gmail.com](mailto:qbpjccm@gmail.com)

### Resumen

*Escherichia coli* es utilizado como indicador de contaminación fecal y sus variantes patógenas diarrogénicas provocan brotes epidemiológicos y cuadros de diarrea. El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de *E. coli* en comparación con otros microorganismos patógenos usados como indicadores de contaminación fecal en muestras de suelo obtenidas de cuatro parques recreativos en la Ciudad de Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México y muestras de agua de la planta tratadora de agua en el Barrio de Santa Cruz. Petaquillas, Guerrero, México, para analizar a través de reacción en cadena de la polimerasa y electroforesis, si las cepas aisladas en el estudio muestran genes específicos de virulencia. Las muestras de suelo y agua se recolectaron en frascos estériles para su posterior procesamiento por la técnica de dilución seriada, mientras las de agua se procesaron a través del método de filtrado Millipore. El aislamiento de las cepas se realizó en medios de cultivo sólido: Agar MacConkey y EMB y su identificación a través de pruebas bioquímicas convencionales. Se obtuvo un total de 49 cepas en los dos ambientes. Se encontró mayor frecuencia de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* con 13 cepas en respectivamente en comparación a otros indicadores de contaminación fecal como *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* con una cada una. En el apartado molecular de las 13 cepas aisladas de *E. coli* no amplificaron con el regulon *AggR* lo que nos indica que no son variantes diarrogénicas de esta especie. Esto se debe a varios factores, desde ambientales, época del año y la depredación por otros microorganismos. Todas las muestras de los diferentes ambientes mostraron contaminación por microorganismos usados como indicadores de contaminación fecal, mostrándose con más frecuencia *E. coli*.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, indicadores de contaminación fecal, coliformes, ambientes .

### Como citar el artículo:

Cruz Martínez, J. C.. (2020). Frecuencia de *Escherichia coli* y otros indicadores de contaminación fecal en cuatro parques recreativos y la planta tratadora de agua en Chilpancingo, Guerrero, México. *Tlamati*, 11(2), 12-18.

## Abstract

*Escherichia coli* is used as an indicator of fecal contamination. Its pathogenic diarrhea variants cause epidemiological outbreaks and diarrhea. Objective of the study was to determine frequency of *Escherichia coli* compared to other pathogenic microorganisms used as indicators of fecal contamination in soil samples, obtained from four recreational parks in the City of Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México and water samples from the water's treatment plant in Barrio de Santa Cruz, Petaquillas, Guerrero, México, in order to analyze through reaction polymerase chain (PCR) and electrophoresis, if strains isolated in this study show specific virulence genes. Soil and water samples were collected in sterile bottles for further processing by serial dilution technique, while water samples were processed through Millipore filtering method. Isolation of strains were carried out in solid culture media: MacConkey and EMB Agar, and their identification through conventional biochemical tests. A total of 49 strains were obtained in the two environments. A higher frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* was found with 13 strains respectively, compared to other indicators of fecal contamination such as *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris*, with one each. In molecular section of 13 isolated strains of *Escherichia coli*, they did not amplify with *aggr* regulon, which indicates that they are not diarrheogenic variants of this species. This is due to several factors, such as environmental factors, time of year, and predation by others microorganism. All samples from different environments showed contamination by microorganisms used as indicators of fecal contamination, showing more frequently *Escherichia coli*.

**Key words:** *Escherichia coli*, indicators of fecal contamination, coliforms, environments.

## Introducción

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud [OMS] "...las enfermedades diarreicas causan más de la mitad de la carga mundial de las enfermedades de transmisión alimentaria, con 550 millones de personas que enferman y 230.000 que mueren cada año, principalmente a través de la diarrea infecciosa por la ingesta de agua o suelos contaminados, que sirven de vehículo para los microorganismos patógenos" (World Health Organization [WHO], 2021), tales como las variantes diarréogénicas de *Escherichia coli*.

En México, estas bacterias se han aislado en pacientes de diferentes edades (Cortés-Ortiz, Rodríguez-Angeles, Moreno-Escobar, Tenorio-Lara, Torres-Mazadiego, y Montiel-Vázquez, 2002).

En Chilpancingo, Gro., el reporte de incidencias provocadas por estos patógenos no se conoce, debido a que estas incidencias no necesitan ser reportados a las autoridades sanitarias conducentes, ya que la identificación de las variantes diarréogénicas de *E. coli* se basan en su detección a través de pruebas moleculares, mismas que no son realizadas con frecuencia. Esto resulta en uno de los principales problemas relacionados con estas incidencias, ya que cuando se presenta una infección por estos organismos, usualmente no se identifican los genes causantes de diarrea. Es para estos casos que las pruebas moleculares ayudarán para su identificación.

Esta investigación tuvo como objetivo el de contrastar la frecuencia de *E. coli* contra otros microorganismos patógenos usados como indicadores de contaminación fecal, como son: *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Esto permitió determinar la frecuencia de diferentes cepas recolectadas de diversos ambientes en el municipio de Chilpancingo de los Bravo, Gro., y así determinar la frecuencia con la cual aparecen las variantes diarréogénicas de *E. coli*, evaluando los riesgos para la salud.

## Materiales y Métodos

Se colectaron 40 muestras, de las cuales 20 fueron de suelo (parques recreativos) y 20 de agua (planta tratadora

de agua) en el municipio de Chilpancingo de los Bravo, Gro. Las muestras de agua y suelo fueron colectadas en un periodo comprendido de enero a junio del 2018, en frascos estériles con tapa de rosca y capacidad de 100 ml. El agua fue transportada en un termo con refrigerantes, donde se mantuvieron 4 °C como lo marca la secretaria de comercio en la Norma Mexicana NMX-AA-003-1980 (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial [SECOFI], 1980). Así mismo, se hizo uso de un sistema *Global Positioning System* [GPS] para la ubicación geográfica de los sitios muestreados, incluidos las muestras de suelo, anotando en una bitácora la ubicación exacta de cada muestra. Posteriormente, las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Investigación de Análisis Microbiológicos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, ubicado en Chilpancingo.

Tabla 1. Frecuencia de microorganismos aislados en los dos ambientes (agua, suelo y lechugas) en Chilpancingo, Gro.

Microorganismos	n	%
<i>Escherichia coli</i>	13	27%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	27%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	10%
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	14%
<i>Citrobacter koseri</i>	4	8%
<i>Salmonella</i> spp.	4	8%
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	2%
<i>Serratia marcescens</i>	1	2%
<b>Total</b>	<b>49</b>	<b>100</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2. Frecuencia de cepas encontradas en los suelos de parques recreativos: Manuel S. Leyva, Juan Ruiz de Alarcón, Benito Juárez y CREA.

Cepas aisladas	Manuel S. Leyva		Juan Ruiz de Alarcón		Benito Juárez		CREA		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	1	4.5	2	9	-	-	1	4.5	4	18.3
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	1	4.5	-	-	-	-	1	4.5
<i>Citrobacter koseri</i>	-	-	3	13.5	-	-	1	4.5	4	18.3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	13.5	1	4.5	1	4.5	-	-	5	22.7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	9	-	-	3	13.5	1	4.5	6	27.3
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	1	4.5	-	-	-	-	1	4.5
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	1	4.5	1	4.5
<b>TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>27</b>	<b>8</b>	<b>36</b>	<b>4</b>	<b>18</b>	<b>4</b>	<b>18</b>	<b>22</b>	<b>100</b>

Fuente: Elaboración propia

Las muestras de suelo fueron recolectadas y transportadas de acuerdo con la Secretaría de Economía en la Norma Mexicana NMX-AA-132-SCFI-2006, que indica que, para la toma de muestra se utilice una cuchara de acero inoxidable previamente esterilizada, vaciando alrededor de 50 g de la muestra de suelo en un frasco estéril de tapa de rosca roja. La recolección de las muestras de suelo se realizaron en los siguientes parques recreativos de Chilpancingo, Gro., como sigue:

- Manuel S. Leyva (17° 32' 41.0418", -99° 29' 55.0464")
- Benito Juárez (17° 33' 31.917", -99° 30' 20.52")
- Juan Ruiz de Alarcón (17° 32' 45.618", -99° 29' 59.5134")
- Unidad Deportiva Chilpancingo [CREA] (17° 32' 9.0162", -99° 29' 38.3238")

así como en la Planta Tratadora de Agua en el Barrio de Santa Cruz. Petaquillas, Gro. (17° 29' 26.718" -99° 28' 5.9838").

Para su procesamiento, se usó el método de diluciones seriadas, numerando cinco tubos de 16 x 150mm, adicionando 4.5 ml de agua destilada estéril en condiciones asépticas. Pesando 0.5 g de la muestra de suelo y adicionando al tubo 10-1, para ser homogenizando en vórtex y dejando sedimentar por dos minutos. Se realizaron las diluciones hasta 10-5 usando 0.5 ml como volumen de transferencia.

Se inocularon 100 µl de las diluciones 10-1, 10-3 y 10-5 en placas de agar MacConkey, extendiéndolas homogéneamente sobre la superficie con una varilla de vidrio en ángulo, previamente esterilizadas (desinfectada con alcohol y flameada), donde se dejó incubar a 37°C por 24 a 48 horas

Las muestras de agua fueron recolectadas y procesadas de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-AA-003-1980 (SECOFI, 1980), que indica que las muestras del influente

Tabla 3. Frecuencia de cepas aisladas de la planta tratadora de agua encontradas en los meses enero a abril del 2018.

Cepas	Enero		Febrero		Marzo		Abril	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	-	-	1	3.7	1	3.7	7	26
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	3.7	3	11.1	2	7.4	1	3.7
<i>Salmonella spp.</i>	1	3.7	3	11.1	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	3.7	3	11.1	1	3.7	2	7.4
<b>TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>10.1</b>	<b>10</b>	<b>37</b>	<b>4</b>	<b>14.8</b>	<b>10</b>	<b>37.1</b>

Fuente: Elaboración propia

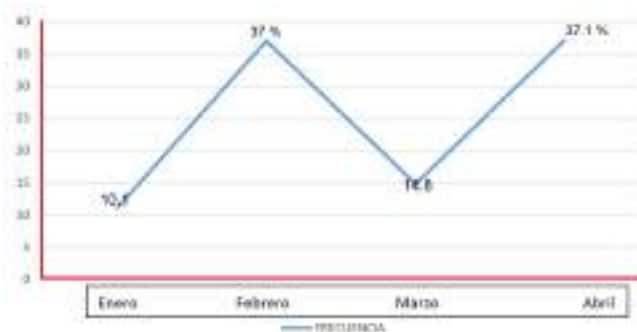


Figura 1. Frecuencias de microorganismos aislados en las muestras de agua, recolectadas en los meses de enero-abril del 2018.

deben tomarse en un frasco estéril con tapa roja, siendo abierto dentro del agua y transportado en un termo con refrigerante a 4 °C.

El procesamiento se realizó por la técnica de filtrado Millipore siguiendo la hoja técnica del Sistema de filtración Microfil, a través de un filtro de membrana de 4,5 µm, tomando 10 ml de la muestra de agua residual y vertiéndolos en 90 ml de agua estéril, dentro del embudo del filtro y exponiéndolo al vacío. Posterior a eso, con pinzas flameadas se colocó el filtro en Agar MacConkey, dejándola incubar a 37°C por 48 horas.

Después de obtener crecimiento en las placas de agar MacConkey, se realizó una tinción de Gram y mediante pruebas bioquímicas convencionales se identificaron las diferentes bacterias aisladas de las placas. Las muestras positivas para *E. coli* se sembraron en placas de agar Eosina azul de metileno [EMB] para asegurar su pureza. Las colonias que presentaron verde brillante metálico fueron sembradas en agar Tripteína Soya para su conservación en refrigeración, para la posterior extracción de su material genético.

El Ácido desoxirribonucleico [ADN] de *E. coli* se obtuvo aislando cinco colonias de un cultivo de agar MacConkey dpor un lapso de 24 horas en 1000 µl de agua destilada estéril, centrifugándose durante diez minutos a 10,000 rpm hasta formar un pellet bacteriano, lavándose con agua destilada estéril. El pellet fue incubado por 10 minutos a 37 °C en 300 µl de solución de lisis que consistía en: 0.2 g lisozima, 25 mM Tris, base pH 8.0 10 mm de ácido etilendiaminotetraacético [EDTA]. Se agregó a 300 µl de fenol-cloroformo-alcohol-isoamílico, centrifugándose por 10 minutos a 15,000 rpm precipitando el sobrenadante en etanol e incubando el precipitado por 15 minutos. Finalmente, la hidratación del ADN se realizó re suspendiéndolo en 20 µl de agua estéril (Kuhnert y Hacker, 1996).

Cada tubo para procesar las muestras a través de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa [PCR] contenía: 23 µl de mezcla de reacción que comprende en concentraciones finales: Tris-HCl (pH 8.3), 10 mM; KCl, 50 mM; MgCl<sub>2</sub>, 2 mM; gelatina, 100 µg/ml; glicerol, 5% (vol/vol); dATP, dCTP, dGTP y dTTP (Roche), 200 µM cada uno; AmpliTaq polimerasa (Gibco-BRL), 1 U / 25 µl. También se incluyó una mezcla de oligonucleotidos y una porción de 2 µl ADN bacteriano. Las soluciones se sometieron a las siguientes condiciones de ciclado: 50 °C

(2 min, 1 ciclo); 95 °C (5 min, 1 ciclo); 95, 55 y 72 °C (45 s a cada temperatura, 40 ciclos); y una etapa de extensión final (10 min, 72 °C) en un termociclador Bio-Rad.

Después de la electroforesis en un gel de agarosa al 2.5% en un tampón Tris-acetato-EDTA, utilizando 4 µl de la mezcla de PCR mediante tinción con Midori Green para visualizar el resultado. (Cerna, Nataro y Estrada-García, 2003)

Ya con los datos obtenidos y los resultados del análisis de las muestras, estos fueron procesados con la ayuda del programa EXCEL (Microsoft 365), donde se registraron los resultados, calculando frecuencias simples.

## Resultados

Del mes de enero a junio de 2018 se estudiaron 40 muestras de suelo y agua. Se obtuvieron 20 muestras de cuatro parques recreativos con diferentes suelos (véase Figura 3) y 20 muestras de la planta tratadora de agua de Petaquillas-Chilpancingo Gro. (véase Figura 4), con la finalidad de aislar los diferentes microorganismos patógenos y no patógenos presentes.

Se aislaron e identificaron un total de 49 cepas en los dos ambientes, con mayor frecuencia *E. coli* (27%) y *Klebsiella pneumoniae* (27%). Mientras *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* presentaron la frecuencia más baja con un 2% respectivamente (véase Tabla 1).

Con relación a las muestras de suelo se aisló con mayor frecuencia a *K. pneumoniae* (27.3%), *Klebsiella oxytoca*

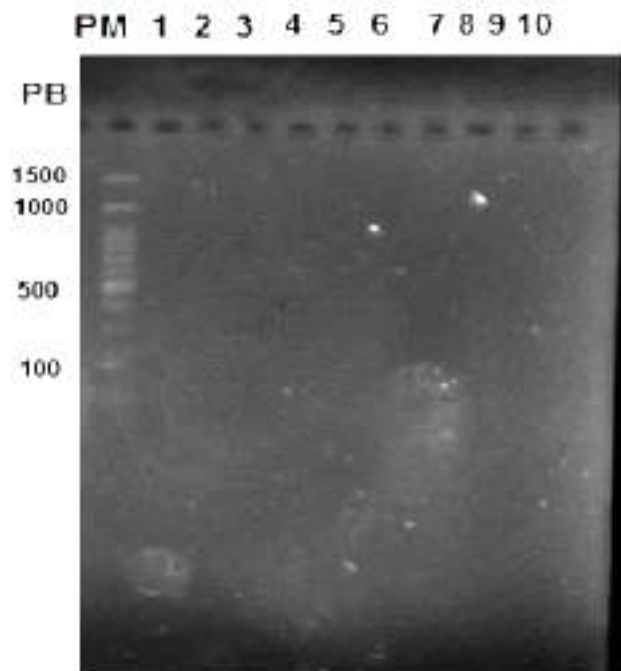


Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa de producto de PCR para la amplificación del regulon *aggR*. PM: Marcador de peso molecular. PB: Pares base de 100, 500, 1000 y 1500. *Escherichia coli* muestra alimentos carril 1 a 4, muestras de suelo carril 5-8, muestras de agua carril 9 y 10. EL carril 11 se encuentra vacío.





Figura 3. Distribución geográfica de parques recreativos muestreados en Chilpancingo, Gro., que son: Manuel S. Leyva (17° 32' 41.0418", -99° 29' 55.0464"), Benito Juárez (17° 33' 31.917", -99° 30' 20.52"), Juan Ruiz de Alarcón (17° 32' 45.618", -99° 29' 59.5134") y Unidad Deportiva Chilpancingo [CREA] (17° 32' 9.0162", -99° 29' 38.3238")

(22.7%), *E. coli* y *Citrobacter koseri* (18.2%), *P. mirabilis*, *Serratia marcescens* y *P. vulgaris* con el 4.5% (véase Tabla 2).

El parque recreativo Juan Ruíz de Alarcón presentó la contaminación más alta con el 36% (8/22), seguido del Manuel S. Leyva con 27% (6/22) y en el parque Benito Juárez y en el CREA con 18% (4/22) respectivamente (véase Tabla 2).

Se identificaron cinco géneros y siete especies aisladas en los cuatro parques, el parque Juan Ruíz de Alarcón presentó el mayor número de géneros (5/5) y especies (5/7) mientras el Benito Juárez tuvo el menor (un género y dos especies) (véase Tabla 2).

En muestras de agua tomadas de la planta tratadora se aislaron cuatro géneros distintos. En el periodo enero-abril se observó una frecuencia alta de *E. coli* (33%; 9/27), seguido de *Enterococcus faecalis*, *K. pneumoniae* (26%; 7/27) y *Salmonella spp.* (15%; 4/27) (véase Tabla 3).

Con relación al tipo de bacteria, *E. coli* se aisló en los meses de febrero-abril. *E. faecalis* de enero a abril, *Salmonella spp.* en enero y febrero; al igual que *K. pneumoniae* (véase Tabla 3).

Las bacterias aisladas durante el periodo de muestreo, se observó en el mes de enero a *E. faecalis*, *Salmonella spp.* y *K. pneumoniae* con un 3.7% cada una. En febrero, diez de *E. faecalis*, *Salmonella spp.* y *K. pneumoniae* (11.1%), para cada una de ellas y uno de *E. coli* (3.7%). En marzo se aislaron cuatro cepas: dos de *E. faecalis* (7.4%) y uno para *E. coli* (3.7%) y *K. pneumoniae* (3.7%). En el mes de abril 10, siete para *E. coli* (7/10, 26%), dos para *K. pneumoniae* (7.4%) y uno para *E. faecalis* (3.7%) (véase Tabla 3).

Por mes, la mayor contaminación se observó en febrero y abril, con 10 cepas diferentes (37%), seguido de marzo (14.8%) y enero (11.1%) (véase Tabla 3).

Se procesaron cinco muestras de agua por mes en la planta tratadora de agua de Petaquillas, Gro., en los meses de enero-abril, comparando los meses de muestreo y temperaturas bajas (enero, febrero y marzo) y abril que es más cálido, observando una fluctuación en el número de cepas aisladas, donde se obtuvo un mayor número en los meses

de febrero y abril (véase Figura 1).

Del total del muestreo, se obtuvieron 13 cepas de *E. coli* y de acuerdo a las características de virulencia reportadas, se llevó a cabo la identificación molecular del gen del regulon *aggR*; sin embargo en las muestras no se observó ningún producto de amplificación (véase Figura 2).

## Discusión y conclusión

La contaminación del entorno está considerada como un serio problema que incluye varios aspectos, entre ellos la salud pública. Las descargas de aguas negras son una fuente importante de contaminación de suelos, provocando enfermedades por microorganismos patógenos que habitan en ellos. Algunos de estos microorganismos logran sobrevivir en concentraciones suficientes para causar brotes epidemiológicos, los cuales pueden ser evitados utilizados indicadores biológicos de contaminación como las bacterias coliformes fecales, siendo *E. coli* y *K. pneumoniae* los principales indicadores de contaminación fecal en dichos ambientes.

En un estudio realizado por Chávez Bravo, Martínez Gómez, Cedillo Ramírez, y Juárez en el 2007 en la Universidad de Puebla, se demostró una frecuencia de 22% para *E. coli* en diferentes ambientes (agua, suelo y lechugas), mientras que para *Shigella spp.* y *Salmonella spp.* fue de 6%, comparando con estos resultados la frecuencia para *E. coli* (24.6%) y *Salmonella spp.* (5.8%). Otro trabajo realizado por Olvera Castelán (2007) en los mismos ambientes, encuentran a *E. coli* con una frecuencia superior (76%), esto a raíz de un brote de *E. coli* por el desbordamiento de aguas negras en el Lago Charco en el estado de Hidalgo.

Por muestras encontradas en el medio ambiente, Rivera Jacinto, Rodríguez-Ulloa y López-Orbegoso en el 2009, en un estudio que incluyó 17 muestras de lechugas recolectadas de mercados de Cajamarca, Perú, encontraron una frecuencia de contaminación del 88.2%, datos por debajo a nuestro 100%, siendo *E. coli* (24%) la bacteria mejor aislada en esta hortaliza, similar a lo encontrado en mercados de Chilpancingo, Guerrero (20%).

En muestras de suelo de Argentina, Behrends Kraemer, Chagas, Celio, Irurtia y Garibaldi en el 2011, encontraron una frecuencia total de 100% para diferentes bacterias nativas, similar a los parques recreativos de Chilpancingo,



Figura 4. Ubicación de la Planta Tratadora de Agua en el Barrio de Santa Cruz, Petaquillas, Gro. (17° 29' 26.718" - 99° 28' 5.9838") en las inmediaciones de Chilpancingo, Gro., donde se obtuvieron las muestras de agua.

Gro. Por bacteria, *E. coli* estuvo presente en el 81% de las muestras, mientras que el 19% fueron en su mayoría bacilos y cocos Gram positivos, superior a la frecuencia de muestras de *E. coli* recolectadas en este estudio (18.2%). Esto podría deberse a los cuerpos de agua en las cercanías de los suelos y a las heces de bovinos de los alrededores por la presencia de granjas en las inmediaciones de los sitios de muestreo.

Olivas-Enriquez, Flores- Margez, Serrano- Alamillo, Soto- Mejia, Iglesias Olivas, Salazar Sosa y Fortis- Hernandez en el 2011, en un estudio hecho en aguas tratadas descargadas en el río Bravo, se encontraron que los organismos más comunes en el influente son *E. coli*, *Giardia* y *Cryptosporidium*, entre otras coliformes que no especifican.

La aparición de *E. coli* y sus variantes patógenas, así como de otros microorganismos con altos picos en ciertas épocas del año puede deberse a factores ambientales (clima, época del año y temperatura) o factores bióticos, como son los otros microorganismos que conviven en el ambiente, afectando desde la virulencia, morfología, expresión génica y supervivencia de estas variante patógena. Estos factores van desde fluctuaciones en el pH, alta osmolaridad, tensión de oxígeno, las diferentes fuentes de carbono, oligosacáridos no digeribles, factores inmunes del huésped tales como péptido antimicrobiano y la microbiota normal y sus metabolitos (Ferreira, Ng y Sonnenburg, 2014).

*E. coli* como indicador de contaminación fecal se presenta con frecuencias más bajas en ciertas épocas del año, debido a factores como la temperatura, disponibilidad de nutrientes y la depredación por protozoarios, encontrando los picos más altos de abril a octubre (Murrell, Adina, Badía, y María, 2013).

González-Siles y Sjöling en el 2015, explican como el lugar y zona geográfica influyen en brotes de ciertos microorganismos siendo más altos en ciertos climas y en determinadas épocas del año, como son los meses de febrero donde se obtuvo en 37 % de frecuencia, abril con 37.1% y junio (Patel, Mamtani, Dibley, Badhoniya, y Kulkarni, 2010).

Otro factor probable por el cual no se encontró alguna variante patógena de *E. coli*, es que las infecciones causadas por estos microorganismos normalmente siguen una estacionalidad bianual típica, con picos epidémicos en los meses de septiembre y octubre, siendo anormal encontrarla en otras épocas del año (Qadri, Svennerholm, Faruque y Sack, 2005).

Otros autores también sustentan este hecho, explicando que el aumento estacional de algunas variantes patógenas de *E. coli* en el agua, suelos y cultivos corresponde a la temporada de lluvias cálidas en los meses agosto-septiembre, durante y después de las lluvias de verano. La incidencia de infecciones por estos microorganismos parece correlacionarse al aumento de la temperatura media y ocurrir durante las fuertes lluvias (Lothigius, Janzon, Begum, Sjöling, Qadri, Svennerholm y Bölin, 2008); Ahmed, Yusuf, Hasan, Ashraf, Goonetilleke, Toze y Gardner, 2013; Black, Brown, Becker, Alim y Merson, 1982).

En el apartado molecular se llevó a cabo la identificación molecular del gen regulon *aggR* sin encontrar variantes patógenas diarrogeneicas para las cepas de *E. coli*, siendo estas comensales, contrario a lo reportado por Chávez

Bravo et al. (2007), donde utilizando pruebas moleculares. Se reportó que el 24.20% de las muestras procesadas mostraron al menos una variante diarrogeneicas de *E. coli*, siendo el grupo que registró mayor porcentaje de amplificación el de las muestras de agua 35.71% y el de alimentos, que presentó 33.33%, similar a lo obtenido por Cerna, Nataro, y Estrada-Garcia en el 2003, donde obtuvo amplificación del gen *aggR* en cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas, entero invasivas, productoras de toxinas Shiga y enteropatógenas.

## Conclusiones

Como conclusiones, tenemos que en las muestras de agua y suelo se identificó a *E. coli* (27 %), *E. faecalis* (14 %), *K. pneumoniae* (27%) y *E. faecalis* (14 %) como los microorganismos patógenos usados como indicadores de contaminación fecal.

En las cepas de *E. coli* aisladas no se encontraron cepas que portarán el gen del regulon *aggR*.

Se encontró una frecuencia de 100% (49 cepas) patógenas, siendo algunos usados como indicadores de contaminación fecal en los diferentes ambientes de Chilpancingo, Guerrero. Siendo las más bajas *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *Serratia marcescens* (2%).

## Agradecimientos

A la Dra. Dra. María Cristina Santiago Dionisio por darme la oportunidad de estar en su laboratorio, enseñarme y tomarse el tiempo de hacerme saber cómo se hacen las cosas dentro de este. Por dejarme ser participe en este trabajo de tesis. Y el conocimiento adquirido a su lado en lo que a mi parecer es la ciencia más bonita del mundo (Microbiología). Al igual también por los buenos momentos, y uno que otro extraño.

A la M.C. Sandra Alhelí Pineda Rodríguez por ayudarme a construir las bases de este trabajo, por brindarme su tiempo y por su paciencia y accesibilidad siempre que la necesite, gracias.

Al Dr. Arturo Ramírez y al Químico Roberto Adame por ayudarme en el apartado molecular del trabajo y dejarme hacer los experimentos dentro de su laboratorio.

A la UAGro y a sus instalaciones que fueron necesarias para realizar este trabajo.

## Referencias

- Ahmed, W., Yusuf, R., Hasan, I., Ashraf, W., Goonetilleke, A., Toze, S. y Gardner, T. (2013). Fecal indicators and bacterial pathogens in bottled water from Dhaka, Bangladesh. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 97-103.
- Behrends Kraemer, F., Chagas, C. I., Irurtia, C. y Garibaldi, L. A. (2011). Bacterial retention in three soils of the Rolling Pampa, Argentina, under simulated rainfall. *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 2 (11), 341-353
- Black, R. E., Brown, K. H., Becker, S., Alim, A. R. y Merson, M. (1982) Contamination of weaning foods and transmission of enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhea in children in rural Bangladesh'. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76, 259 -264.
- Cerna, J., Nataro, J. y Estrada-Garcia, T. (2003). Multiplex PCR for detection of three Plasmid-Borne Genes of En-

- teroagregative *Escherichia coli* Strains. *Journal of clinical microbiology*, 4(5), 2138.
- Chávez Bravo, E., Martínez Gómez, L., Cedillo Ramírez, M. y Juárez, C. (2007). Identificación de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas en diferentes ambientes. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 3(27), 70-74.
- Cortés-Ortiz, I., Rodríguez-Angeles, G., Moreno-Escobar, E., Tenorio-Lara, J., Torres-Mazadiego, B. y Montiel-Vázquez, E. (2002). Brote causado por *Escherichia coli* en Chalco, México. *Salud Pública de México*, 44(4), pp.297-302.
- Ferreira, J. A., Ng, K. M. y Sonnenburg, J. L. (2014). The enteric two-step: nutritional strategies of bacterial pathogens within the gut. *Cellular Microbiology*, 16, 993–1003.
- Gonzales-Siles, L. y Sjöling, Å., (2015). The different ecological niches of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Environmental Microbiology*, 18(3), 741–751.
- Kuhnert, P. y Hacker, J. (1996). Detection System for *Escherichia coli*-Specific Virulence Genes: Absence of Virulence Determinants in B and C Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2), 703-708.
- Lothigius, Å., Janzon, A., Begum, Y., Sjöling, Å., Qadri, F., Svennerholm, A. y Bölin, I. (2008). Enterotoxigenic *Escherichia coli* is detectable in water samples from an endemic area by real-time PCR. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 104, no. 4, pp.11281136.
- Murrell, L., Adina, J., Badía, R. y María, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-30.
- Norma Mexicana NMX-AA-003-1980 (1980). *Agua residual*. SECOFI. DOF. Obtenido de: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166762/NMX-AA-003-1980.pdf>
- Norma Mexicana NMX-AA-132-SCFI-2006 (2006). *Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la muestra*. Secretaría de Economía. DOF. Obtenido de: [https://www.cmic.org.mx/comisiones/Sectoriales/medioambiente/Varios/Leyes\\_y\\_Normas\\_SEMARNAT/NMX/Contaminacion/C3%B3n%20del%20Suelo/2.2006.pdf](https://www.cmic.org.mx/comisiones/Sectoriales/medioambiente/Varios/Leyes_y_Normas_SEMARNAT/NMX/Contaminacion/C3%B3n%20del%20Suelo/2.2006.pdf)
- Olivas-Enriquez, E., Flores-Margez, J., Serrano-Alamillo, M., Soto-Mejía, E., Iglesias-Olivas, J., Salazar-Sosa, E. y Fortis-Hernández, M., (2011). Indicadores fecales y patógenos en agua descargada al Río Bravo. *Terra Latinoamericana*, 29(4), 449- 457.
- Olvera Castelán, D. (2007). *Frecuencia y comportamiento de Salmonella y microorganismos indicadores de higiene en jugo de zanahoria*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Patel, A., Mamtani, M., Dibley, M. J., Badhoniya, N. y Kulkarni, H. (2010). Therapeutic value of zinc supplementation in acute and persistent diarrhea: a systematic review. *PLoS ONE*, 5, e10386, doi: 10.1371/journal.pone.0010386.
- Qadri, F., Svennerholm, A. M., Faruque, A. S. y Sack, R. B. (2005). Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clinical Microbiology Reviews*, 18, 465–483.
- Rivera-Jacinto, M., Rodríguez-Ulloa, C. y López-Orbegoso, J. (2009). Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Perú. med*, 26(1).
- World Health Organization. (2021). *Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria*. WHO. Obtenido de: <https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths#:~:text=Las%20enfermedades%20diarreicas%20causan%20m%C3%A1s,230.000%20que%20mueren%20cada%20a%C3%B1o>



## El efecto del Cadmio sobre la expresión del ARNm de la DNMT3B en células HepG2

José Jonathan Camacho Espinoza<sup>1</sup>  
 Daniel Hernández Sotelo<sup>2</sup>  
 Oscar Del Moral Hernández<sup>3</sup>  
 Ana Margarita Dircio Gutiérrez<sup>1</sup>  
 Luz Del Carmen Alarcón Romero<sup>1</sup>  
 Yaneth Castro Coronel<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Laboratorio de Investigación en Citopatología e Histoquímica, Av. Lázaro Cárdenas s/n. C.P.39090 Ciudad Universitaria, Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Laboratorio de Epigenética del Cáncer, Av. Lázaro Cárdenas s/n C.P.39090 Ciudad Universitaria, Chilpancingo de los Bravo Guerrero.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Laboratorio de Virología, Av. Lázaro Cárdenas s/n C.P.39090 Ciudad Universitaria, Chilpancingo de los Bravo Guerrero.

\*Autor de correspondencia  
[yanethcc@yahoo.com.mx](mailto:yanethcc@yahoo.com.mx)

### Resumen

El cadmio [Cd] es un metal pesado altamente tóxico, clasificado como carcinogénico y mutagénico que se encuentra de manera natural en el ambiente, sin embargo, las actividades antropogénicas han aumentado su concentración. La población en general está principalmente expuesta al Cd a través de la ingesta de alimentos y agua contaminada con este elemento. Uno de los mecanismos propuesto en los últimos años para explicar su toxicidad es la metilación anormal del ADN, probablemente modulando la expresión de genes responsables de la metilación, tales como las DNA metiltransferasas [DNMTs]. El presente trabajo se enfocó en determinar el efecto de la exposición a Cd sobre la expresión del ARNm de la DNMT3B en la línea celular HepG2. Las células HepG2 fueron expuestas a concentraciones subtóxicas de 0.8, 1 y 3  $\mu\text{M}$  de Cd por 24 y 48 h. Se determinó la citotoxicidad mediante el método de MTT, analizándose enseguida la expresión del ARNm de la DNMT3B mediante RT-qPCR. Los resultados obtenidos muestran que concentraciones de 0.8  $\mu\text{M}$  de Cd no comprometen la viabilidad celular; sin embargo se observó una disminución de la viabilidad en las concentraciones de 1 y 3  $\mu\text{M}$ . Así mismo la expresión del ARNm de la DNMT3B aumenta conforme a la concentración y tiempo de exposición a Cd. Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la exposición a concentraciones ambientalmente relevantes de Cd pueden alterar genes involucrados en la maquinaria de metilación, tal es el caso de la DNMT3B, pero se requieren más estudios que puedan sustentar tal hipótesis.

**Palabras clave:** Cadmio, DNMT3B, HepG2.

### Como citar el artículo:

Camacho Espinoza, J. J., Hernández Sotelo, D., Del Moral Hernández, O., Dircio Gutiérrez, A. M., Alarcón Romero, L. del C. y Castro Coronel, Y. (2020). El efecto del Cadmio sobre la expresión del ARNm de la DNMT3B en células HepG2. *Tlamati*, 11(2), 19-23.

## Abstract

Cadmium [Cd] is a highly toxic heavy metal, classified as carcinogenic and mutagenic. It is found naturally in the environment, however anthropogenic activities have increased its concentration. General population is mainly exposed through the intake of food and water contaminated with Cd. In recent years, one of the mechanisms proposed to explain its toxicity is abnormal DNA methylation, probably by modulating the expression of genes responsible for methylation, such as DNA methyltransferases. This study is focused on determining effects of Cd exposure on the expression of DNMT3B mRNA in HepG2 cell line. HepG2 cells were exposed to subtoxic concentrations of 0.8, 1 and 3  $\mu\text{M}$  Cd for 24 and 48 h; cytotoxicity was determined by the MTT method. As next step, expression of the DNMT3B mRNA was analyzed by RT-qPCR. Results obtained show that concentrations of 0.8  $\mu\text{M}$  of Cd do not compromise cell viability; however, a decrease in viability was observed at concentrations of 1 and 3  $\mu\text{M}$ . Likewise, expression of the mRNA of the DNMT3B increases with concentration and exposure time to Cd. Results obtained in this study suggest that exposure to environmentally relevant concentrations of Cd can alter genes involved in methylation machinery, such is the case of DNMT3B. More studies are required to support such a hypothesis.

**Keywords:** Cadmium, DNMT3B, HepG2.

## Introducción

El cadmio [Cd] es un metal pesado altamente tóxico, clasificado como carcinogénico y mutagénico (Agency for Toxic Substances and Disease Registry [ATSDR], 2011; Vilahur, Vahter y Broberg, 2015). Se encuentra de manera natural en el ambiente, sin embargo las actividades antropogénicas han aumentado su concentración.

La población general está expuesta principalmente a través de la ingesta de alimentos y agua contaminada con Cd (Nemliche, 2017). El Cd tiene una vida media de hasta 20 años por lo que tiende a bioacumularse, llegando a alcanzar concentraciones micromolares en órganos como el hígado (Faroon, Ashizawa, Wright, Tucker, Jenkins, Ingerman y Rudisill, 2012; Nair, DeGheselle, Smeets, Van Kerkhove y Cuypers, 2013; Darwish et al., 2019).

En los últimos años se ha estudiado que las alteraciones epigenéticas y la modulación de la expresión de genes a través de la metilación como un mecanismo de toxicidad del Cd. Algunos autores han reportado que el Cd modula la expresión del ARNm de genes supresores de tumor (GST) como el CREB3 y genes implicados en el transporte y almacenamiento de metales como las metalotioneínas (MTs) (Cartularo, Laulicht, Sun, Kluz, Freedman y Costa, 2015; Takashi S., 2015).

El presente trabajo se enfocó en determinar el efecto de la exposición a Cd sobre el nivel de expresión del ARNm de la DNMT3B, enzima encargada de la metilación *de novo* del ADN.

## Materiales y Métodos

### *Cultivo de células y tratamientos*

Las células HepG2 (ATCC<sup>®</sup> HB-8065) se cultivaron en botellas flask 75 cm<sup>2</sup> (Corning) con 9 ml de medio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, USA) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB) (Invitrogen Life Technologies Oregon, USA) y 1% de antibiótico penicilina /estreptomina (Sigma-Aldrich), a una atmósfera con 5% de CO<sub>2</sub> y una temperatura de 37°C.

Para fines experimentales, las células fueron cultivadas en placas de 24 pocillos (310 000 células/pocillo), en 300  $\mu\text{L}$  de medio DMEM (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, USA)

suplementado con SFB (Invitrogen Life Technologies Oregon, USA), posteriormente las células fueron tratadas con concentraciones sub tóxicas de 0.8, 1 y 3  $\mu\text{M}$  de CdCl<sub>2</sub> por 24 y 48h, como grupo control las células HepG2 se mantuvieron solo con medio DMEM sin CdCl<sub>2</sub>.

### *Ensayo de viabilidad celular*

El cultivo en placa de 24 pocillos tratado de acuerdo a las condiciones anteriormente mencionadas, se procedió a evaluar la viabilidad celular por el método MTT (Mosmann, 1983), agregando 30  $\mu\text{L}$  de la solución de MTT (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, USA) e incubando por 4 horas a 37 °C, posteriormente se agregaron 300  $\mu\text{L}$  de isopropanol (Invitrogen Life Technologies. Oregon, USA) para solubilizar los cristales de formazan; se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de cada condición y se transfirieron a una placa de 96 pocillos para realizar la lectura en el lector de ELISA Stat Fax 2100 (Awareness Technology), en una longitud de onda de 570-630 nm.

### *Extracción de ARN*

El ARN total de las células fue extraído usando el reactivo de TRIzol (Life technology, USA); se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de cloroformo por cada 100  $\mu\text{L}$  de TRIzol (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, USA), se procedió a agitar durante 15 segundos y se centrifugó a 12,500 rpm durante 15 minutos a 4°C.

El ARN obtenido en la fase superior se precipitó agregando 500  $\mu\text{L}$  de isopropanol frío (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, USA), posteriormente se realizaron 2 lavados con 200  $\mu\text{L}$  de etanol al 70% y se dejó secar el ARN durante 1 hora.

El ARN obtenido se disolvió en 20  $\mu\text{L}$  de agua libre de RNasas; finalmente se realizó la cuantificación del ARN por espectrofotometría en el Nanodrop 2000c. La pureza del ARN total se determinó midiendo la absorbancia a 260/280 nm.

### *RT-qPCR*

La expresión del gen DNMT3B fue cuantificado por PCR en tiempo real, se utilizaron 100 ng de ARN total. La PCR se realizó con el kit KAPA SYBR FAST One-Step qRT-PCR (Kapa Biosystem, Massachusetts, USA) de

### Efecto citotóxico de concentraciones subtóxicas de CdCl<sub>2</sub> en la línea celular HepG2.

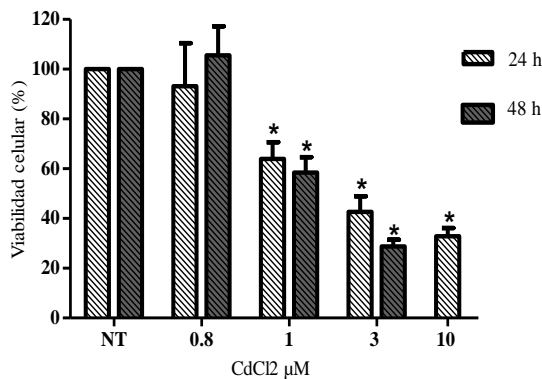


Figura 1. Efecto citotóxico del CdCl<sub>2</sub> en las células HepG2. Se determinó la viabilidad empleando el ensayo MTT. Cada barra representa la media ± e.e. (error estándar), de tres experimentos independientes por triplicado. \*Indica una diferencia estadísticamente significativa respecto al control (NT) \* $p \leq 0.05$  (prueba *t*-Student), NT: no tratadas. La línea punteada representa la IC50: Concentración inhibitoria 50.

acuerdo a las condiciones del fabricante. Los oligonucleótidos utilizados en este estudio fueron DNMT3B y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). El gen GAPDH fue usado como un control interno.

A continuación se muestra la secuencias de los oligonucleótidos:

**DNMT3B:** Sentido 5'ctagaagtgggtccacgtctc3', Antisentido 5'agtccccacttgagggtcac-3'

**GAPDH:** Sentido 5'-gacccttcattgacctcaac-3, Antisentido 5'gtggcagtgatggcatggac-3' bajo las siguientes condiciones de amplificación: 37°C por 30 s, 42°C por 5 min, 95°C por 5 min, 95°C por 20 s, 60°C por 30 s, 72°C por 30 s.

Las reacciones se realizaron en el equipo CFX<sup>TM</sup>96 Real- Time PCR Detection system Biorad. La expresión relativa del ARNm fue calculada utilizando el método comparativo 2<sup>-ΔΔCt</sup> (Livak y Schmittgen, 2001).

### Resultados

#### Efecto del CdCl<sub>2</sub> sobre la viabilidad celular

Los resultados obtenidos del ensayo MTT (véase Figura 1) mostraron un efecto citotóxico a las concentraciones de 1 y 3 μM de CdCl<sub>2</sub> dada la disminución de la viabilidad celular en más del 30% a las 24 h y 40% a las 48 h del tratamiento. La concentración de 3 μM mostró una disminución de más del 50% de la viabilidad celular tanto a las 24 como a las 48 h. Como control interno se utilizó la concentración de 10 μM de CdCl<sub>2</sub> a 24 h, la cual ya ha sido reportada anteriormente por Lawal y Ellis en el 2010.

#### La expresión del ARNm de la DNMT3B

El CdCl<sub>2</sub> indujo un aumento en la expresión del ARNm de la DNMT3B (véase Figura 2), tanto a las 24 h como a las 48 h de exposición en todas las concentraciones empleadas (0.8, 1 y 3 μM), dicho aumento es estadísticamente

significativo con respecto al grupo control.

### Discusión y conclusiones

El Cd es uno de los contaminantes más comunes en el ambiente, su toxicidad y alta peligrosidad está dada por su clasificación carcinogénica y mutagénica (ATSDR, 2011; Faroon et al, 2012).

Diversos reportes han indicado que la exposición a concentraciones micromolares de Cd está asociado con el riesgo de desarrollar cáncer (Wang, Yang, Tan, Miao, Liu, Shao, Yang, Turdi, Ma, Ren, y Cai, 2012; Wang, Li, Shao, Tan y Lu, 2012; Wang y Du, 2013).

En los últimos años una de las vías moleculares exploradas es la capacidad del Cd para modular la maquinaria epigenética y alterar los patrones de metilación del ADN (Wang et al, 2012), se ha sugerido que un factor causal primario de esta condición es la alteración y desregulación de la familia de los genes encargados de la metilación de *novo* del ADN, las DNMTs (Skipper Sims, Yedjou, y Tchounwou, 2016; Zhang y Xu, 2017; Gào, Zhang, Burwinkel, Xuan, Holleczeck, Brenner y Schöttker, 2019).

En este trabajo se analizó el efecto de la exposición de Cd sobre la expresión de la DNMT3B a concentraciones biológicamente relevantes, dado que son comparables en un rango de concentraciones encontradas en tejido post-mortem de hígado de personas ambientalmente expuestas. Los resultados obtenidos de la exposición de las células HepG2 a concentraciones micromolares del CdCl<sub>2</sub> muestran que la exposición a 0.8 μM de CdCl<sub>2</sub> no compromete la viabilidad celular, sin embargo, las concentraciones de 1 y 3 μM mostraron una disminución significativa de la viabilidad celular en comparación con el grupo control.

Estos resultados indican que el CdCl<sub>2</sub> es capaz de inducir citotoxicidad de una manera dependiente de la concentración y del tiempo de exposición, resultados similares a los publicados por Lawal y Ellis en el 2010 quienes utilizaron el mismo modelo celular, demostrando también que la concentración de 10 μM de CdCl<sub>2</sub> disminuyó un 50% la viabilidad celular, datos que fueron reproducibles en este trabajo.

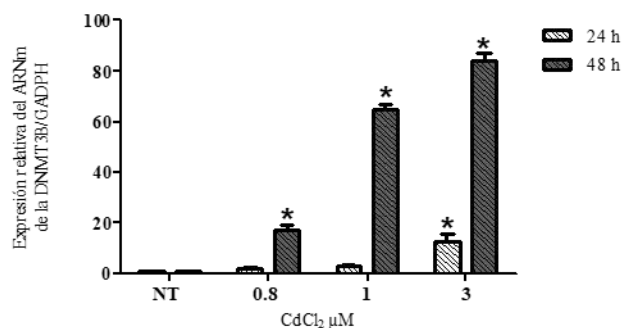


Figura 2. Efecto del CdCl<sub>2</sub> sobre la expresión del gen de DNMT3B en células HepG2. Las células fueron tratadas con CdCl<sub>2</sub>. El nivel del ARNm de la DNMT3B fue determinado por RT- qPCR y normalizado respecto a GAPDH. Cada barra representa la media ± e.e. (error estándar), de tres experimentos independientes por triplicado. \* Indica una diferencia estadísticamente significativa respecto al control (NT) \* $p \leq 0.05$  (prueba *t*-Student) NT: no tratadas.

Uno de los mecanismos principales de toxicidad de Cd es la modulación de la expresión de diversos genes (Madejczyk, Baer, Dennis, Minarchick, Leonard, Jackson, Stallings, y Lewis, 2015). Se ha reportado que la exposición a concentraciones micromolares de CdCl<sub>2</sub> por 24 h y 3 semanas modula la expresión de genes como las MTs, CYP3A7, NT5E, y el gen de respuesta temprana al crecimiento (EGR1), glutatión S-transferasa (GSTT1), genes involucrados en la desintoxicación de metales y xenobióticos, proliferación, migración e invasión celular (Cartularo, et al., 2015; Madejczyk, et al., 2015).

De acuerdo a la anterior evidencia científica, se procedió a analizar si las concentraciones micromolares de CdCl<sub>2</sub> modulan la expresión de DNMT3B ante una exposición subcrónica de 24 y 48 h. Nuestros resultados mostraron una sobreexpresión inmediata y gradual del ARNm de las DNMT3B después de la exposición a 0.8 µM de CdCl<sub>2</sub> en ambos tiempos de exposición, con respecto al control.

Este comportamiento en el aumento de la expresión del ARNm de la DNMT3B son similares a los reportados por Jiang, Xu, Song, Zhu, Wu, Zhang y Wu en el 2008, utilizando como modelo la línea celular HLF (fibroblasto humano) tratadas con concentraciones de 0-1.5 µM/L de CdCl<sub>2</sub> durante dos meses, Jiang et al (2008) reportaron que la concentración más alta (1.5 µM/L) indujo la sobreexpresión de la DNMT3B.

En otro estudio realizado por Takiguchi, Achanzar, Qu, Li, y Waalkes en el 2003, analizaron el efecto que tiene el Cd sobre la actividad de las DNMTs y la metilación del ADN, utilizando como modelo de estudio las células de hígado de rata (TRL1215) tratadas por una semana a concentraciones de 0, 2 y 5 µM de Cd y observaron una disminución en la actividad de las DNMTs en un 40% de manera dependiente de la concentración.

En conclusión, las alteraciones epigenéticas inducidas por Cd pueden involucrar la inducción de enzimas de la maquinaria de metilación a través de la modulación del ARNm de DNMT3B, esta inducción puede darse a exposiciones subtóxicas de CdCl<sub>2</sub>, sin embargo se requiere analizar todas las enzimas de la familia de las DNMTs y evaluar otros aspectos de la regulación transcripcional en respuesta a Cd. Así mismo, la exposición a concentraciones biológicamente relevantes de Cd en las células HepG2 ejercen un efecto citotóxico y modulan la expresión del ARNm de DNMT3B.

### Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero.

### Referencias

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2011). *Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs)*. ATSDR. Obtenido de: <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp17.pdf>.

Cartularo, L., Laulicht, F., Sun, H., Kluz, T. Freedman, J. H. y Costa, M. (2015). Gene expression and pathway analysis of human hepatocellular carcinoma cells treated with cadmium. *Toxicology and Applied Pharmacology*. Elsevier Inc., 288(3), 399–408. doi: 10.1016/j.taap.2015.08.011.

Darwish, W. S., Chiba, H., Elhelaly, A. E. Hui, S. (2019). Estimation of cadmium content in Egyptian foodstuffs: health risk assessment, biological responses of human HepG2 cells to food-relevant concentrations of cadmium, and protection trials using rosmarinic and ascorbic acids. *Environmental Science and Pollution Research*. 26(15), 15443-15457

Faroon, O., Ashizawa, A., Wright, S., Tucker, P., Jenkins, K., Ingerman, L. y Rudisill, C. (2012). Toxicological Profile for Cadmium Atlant'. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*. (US), GA.

Gào, X., Zhang, Y., Burwinkel, B., Xuan, Y., Holleczeck, B. Brenner, H. y Schöttker, B. (2019). The associations of DNA methylation alterations in oxidative stress-related genes with cancer incidence and mortality outcomes: a population-based cohort study. *Clinical Epigenetics*, 11 (1), 1–9. doi: 10.1186/s13148-018-0604-y.

Jiang, G., Xu, L., Song, S., Zhu, C., Wu, Q., Zhang, L. y Wu, L. (2008). Effects of long-term low-dose cadmium exposure on genomic DNA methylation in human embryo lung fibroblast cells. *Toxicology*, 244(1), 49–55. doi: 10.1016/j.tox.2007.10.028.

Lawal, A. O. y Ellis, E. (2010). Differential sensitivity and responsiveness of three human cell lines HepG2, 1321N1 and HEK 293 to cadmium. *Journal of Toxicological Sciences*, 35(4), 465–478. doi: 10.2131/jts.35.465.

Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262.

Madejczyk, M., Baer, C. E., Dennis, W. E., Minarchick, V. C., Leonard, S. S., Jackson, D. A., Stallings, J. D. y Lewis, J. A. (2015). Temporal Changes in Rat Liver Gene Expression after Acute Cadmium and Chromium Exposure. *PLoS ONE*, 10(5) 101-27. 10.1371/journal.pone.0127327.

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.

Nair, A. A., DeGheselle, O., Smeets, K., Van Kerkhove, E. y Cuypers, A. (2013). Cadmium-induced pathologies: Where is the oxidative balance lost (or not)? *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 6116–6143. doi: 10.3390/ijms14036116.

Nemmiche, S. (2017). Oxidative signaling response to cadmium exposure. *Toxicological Sciences*, 156(1), 4–10. doi: 10.1093/toxsci/kfw222.

Skipper, A., Sims, J. N., Yedjou, C. G. y Tchounwou, P. B. (2016). Cadmium chloride induces DNA damage and apoptosis of human liver carcinoma cells via oxidative stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(1), 1–10. doi: 10.3390/ijerph13010088.

Takahashi, S. (2015). Positive and negative regulators of the metallothionein gene (Review). *Molecular Medicine Reports*, 12(1), 795–799. doi: 10.3892/mmr.2015.3459.

Takiguchi, M., Achanzar, W. E., Qu, W., Li, G. y Waalkes, M. P. (2003). Effects of cadmium on DNA-(Cytosine-5) methyltransferase activity and DNA methylation status during cadmium-induced cellular transformation. *Experimental Cell Research*, 286(2), 355–365. doi: 10.1016/S0014-4827(03)00062-4.

- Vilahur, N., Vahter, M., Broberg, K. (2015). The epigenetic effects of prenatal cadmium exposure. *Current Environmental Health Reports*, 2, 195–203.
- Wang, B. y Du, Y. (2013) Cadmium and its neurotoxic effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. doi: 10.1155/2013/898034.
- Wang, B., Yang, L., Tan, Y., Miao, X., Liu, X., Shao, C., Yang, X., Turdi, S., Ma, L., Ren, J. y Cai, L. (2012). Low-dose Cd induces hepatic gene hypermethylation, along with the persistent reduction of cell death and increase of cell proliferation in rats and mice, *PLoS ONE*. 1-13. doi: 10.1371/journal.pone.0033853
- Wang, B., Li, Y., Shao, C., Tan, Y. y Lu, C. (2012). Cadmium and Its Epigenetic Effects. *Current medicinal chemistry*. 19(16). 2611-20. 10.2174/092986712800492913..
- Zhang, W. y Xu, J. (2017). DNA methyltransferases and their roles in tumorigenesis', *Biomarker Research*. Biomarker Research, 5(1), 1–8. doi: 10.1186/s40364-017-0081-z.





## Participación de la enzima lipasa en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en queso fresco en presencia de consorcios microbianos

Roberto Adame-Gómez<sup>1</sup>  
 Uriel Noyola-Baños<sup>1</sup>  
 Natividad Castro-Alarcón<sup>2</sup>  
 Jeiry Toribio-Jiménez<sup>2</sup>  
 Arturo Ramírez Peralta<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Laboratorio de Investigación en Patometabolismo Microbiano. Lazaro Cárdenas 88. CU Sur. C. P. 39010 Chilpancingo, Guerrero, México

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Laboratorio de Investigación en Microbiología. Lazaro Cárdenas 88. CU Sur. C. P. 39010. Chilpancingo, Guerrero, México

\*Autor de correspondencia  
[arturoramirez@uagro.mx](mailto:arturoramirez@uagro.mx)

### Resumen

*Staphylococcus aureus* es el principal microorganismo causante de intoxicaciones alimentarias asociado a productos lácteos, debido a que la leche cruda ha sido reconocida como uno de los principales vehículos de intoxicación, ya que la fabricación de quesos a escala artesanal con leche sin pasteurizar, puede constituir un elevado riesgo de contaminación con bacterias patógenas como *S. aureus*. El objetivo de este estudio fue el de evaluar la participación de la enzima lipasa en el crecimiento de *S. aureus* en quesos frescos, realizando la elaboración de quesos estériles inoculándolos de manera artificial con una cepa lipolítica y una cepa no lipolítica de *S. aureus* y consorcios bacterianos en temperatura de incubación de 25°C y 37°C, para su posterior recuento de UFC en agar sal y manitol. En este estudio se pudo observar que la enzima lipasa producida por *S. aureus*, ayuda en su crecimiento en ambas matrices alimenticias (queso fresco y Cotija), sin importar la temperatura de incubación a la que estos quesos son expuestos, aun en presencia de consorcios, siendo esta enzima uno de los más importantes factores de virulencia que *S. aureus* puede segregar.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, productos lácteos, lipasa

### Abstract

*Staphylococcus aureus* is the main microorganism that causes food poisoning, mainly associated to dairy products. Due to the fact that raw milk has been recognized as one of the main vehicles of poisoning related to manufacture of artisan-scale cheeses with unpasteurized milk, this method may constitute a high risk of contamination with pathogenic bacteria such as *S. aureus*. Objective of this study was an evaluation of contribution of lipase enzyme in growth of *S. aureus* in fresh cheese. Processing sterile fresh cheese and to inoculate it in artificial way with a not lipolytic and lipolytic strain of *S. aureus*, and strains of bacterial consortia in incubation temperatures of 25 °C and 37 °C, this for its

### Como citar el artículo:

Adame-Gómez, R., Noyola-Baños, U., Castro-Alarcón, N., Toribio-Jiménez, J. y Arturo Ramírez Peralta. (2020). Participación de la enzima lipasa en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en queso fresco en presencia de consorcios microbianos. *Tlamati*, 11(2), 24-28.

later UFC count in salt agar and mannitol. In this study was possible to observe how enzyme lipase produced by *S. aureus* helps in its growth in both food environments (Fresh and *Cotija*'s cheeses) regardless of temperature of incubation to which these cheeses are exposed, even in the presence of consortia. Enzyme lipase is one of the most important virulence factors that *S. aureus* can secrete.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, dairy products, lipase

## Introducción

La leche y sus derivados, son los principales alimentos que pueden transmitir agentes etiológicos productores de enfermedades o intoxicaciones alimentarias. La leche cruda ha sido reconocida como uno de los principales vehículos de transmisión de enfermedades, por lo que la fabricación de quesos a escala artesanal con leche sin pasteurizar, puede constituir un elevado riesgo de contaminación con bacterias patógenas (Martínez, Villoch, Ribot y Ponce, 2013). En cuanto a la pasteurización de la leche, es considerada una de las intervenciones de la salud pública más eficientes, esta debería eliminar eficazmente los microorganismos patógenos existentes en la leche; sin embargo, el queso puede contaminarse con agentes patógenos durante su elaboración por contacto con equipos contaminados o por mala manipulación. Los factores que influyen en la supervivencia de los patógenos en los quesos son: la acidez, los conservadores, la temperatura, la microbiota competidora, la actividad del agua y la concentración de sal (Gould, Mungai y Behrvesh, 2014).

*Staphylococcus aureus* es reconocido como el principal agente causante de la intoxicación alimentaria que resulta de la ingestión de alimentos que contienen una o más toxinas. La leche y los productos lácteos como los quesos y la crema, han sido involucrados en varios brotes en todo el mundo. Además, *S. aureus* es causa común de enfermedades de la ubre en vacas lecheras (Tetili, Bendali, Perrier y Sadoun, 2017). En Chilpancingo Guerrero, México, se determinó la presencia de *S. aureus* en diferentes tipos de queso artesanal. De un total de 78 muestras de quesos sin pasteurizar analizadas, 44 fueron positivas para *S. aureus* (Adame-Gómez, Toribio-Jiménez, Vences-Velázquez, Rodríguez-Bataz, Santiago Dionisio y Ramírez-Peralta, 2018). El entorno de la planta de procesamiento y los trabajadores pueden constituir fuentes de contaminación graves de *S. aureus* durante la fabricación del queso, incluso cuando está presente en niveles bajos en la leche, puede alcanzar más de 5 log UFC/g durante las primeras etapas de la fabricación del queso. Además, se ha descrito que el 25% de las cepas de *S. aureus* aisladas de los alimentos, producen enterotoxinas estables al calor (Tetili et al., 2017).

*S. aureus* tiene la capacidad de producir lipasas que se caracterizan por su función principal de degradar los triglicéridos para liberar ácidos grasos, a esta actividad se le conoce como lipólisis que es la hidrólisis del éster presente entre los ácidos grasos y el glicerol por la enzima lipasa.

El queso fresco comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche; a excepción de la lactosa, los otros componentes se encuentran con un alto nivel de nutrientes como el calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitaminas B12 y ácido pantoico (Ramírez-López,

2012). Entre los principales componentes del queso fresco encontramos proteínas, cenizas, grasas con valores de 24,08%, de proteína con 18,82% y de humedad con 53,2% (Guerrero, Valerio y Baldeón-Chamorro, 2015). Por la composición del queso, la producción de lipasa por parte de *S. aureus* podría favorecer el crecimiento en esta matriz alimentaria. Por lo cual, el objetivo de este estudio fue evaluar el crecimiento en queso fresco de una cepa no lipolítica y una cepa lipolítica en presencia o no de consorcios microbianos.

## Material y métodos

### Elaboración de queso estéril.

Para la elaboración de quesos frescos, se procedió a calentar la leche en un microondas hasta el punto de ebullición. Para la coagulación se le adicionó vinagre al 5% (v/v). Una vez coagulada la leche, se filtró a través de gasas estériles para desechar el suero y obtener queso fresco, el cual se mantuvo envuelto en papel aluminio previamente esterilizado. El total de queso fresco se pesó en una balanza de precisión (Ohaus corporation, USA) y posteriormente se le adicionó NaCl al 1% (p/p), por último se distribuyó en porciones de 10 g y se mantuvo en refrigeración por menos de 5 días (Flores-Gavilán y Talavera-Alarcón, 2017).

### Determinación microbiológica del producto

Se determinó la inocuidad de los quesos frescos con la finalidad de que estuvieran libres de microorganismos que podrían competir por los nutrientes del medio y afectar el crecimiento de *S. aureus* y enmascarar el resultado final, iniciando con la preparación de las diluciones de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994, para lo cual se procesaron 10 g de queso fresco y se adicionaron 90 mL de solución salina al 0.85% para homogenizar un minuto en licuadora. Para

Tabla 1. Curva de crecimiento de las cepas de *S. aureus* S002 y S295

Tiempo	S002 Lipolítica	S295 No lipolítica	p
T0	5.83 ± 0.75	4.83 ± 2.4	0.06
T4	6 ± 6.63	6.66 ± 0.81	0.01*
T8	7.3 ± 1.0	7.5 ± 0.54	0.92
T12	9 ± 0.89	7.5 ± 0.54	0.00*
T24	8.1 ± 0.40	6.6 ± 0.36	0.16

T: representan el tiempo en horas. <sup>§</sup>Los datos se presentan en media y desviación estándar. Prueba de t de Student. Las diferencias estadísticamente significativas son marcadas con asterisco ( $p=0.05$ ).

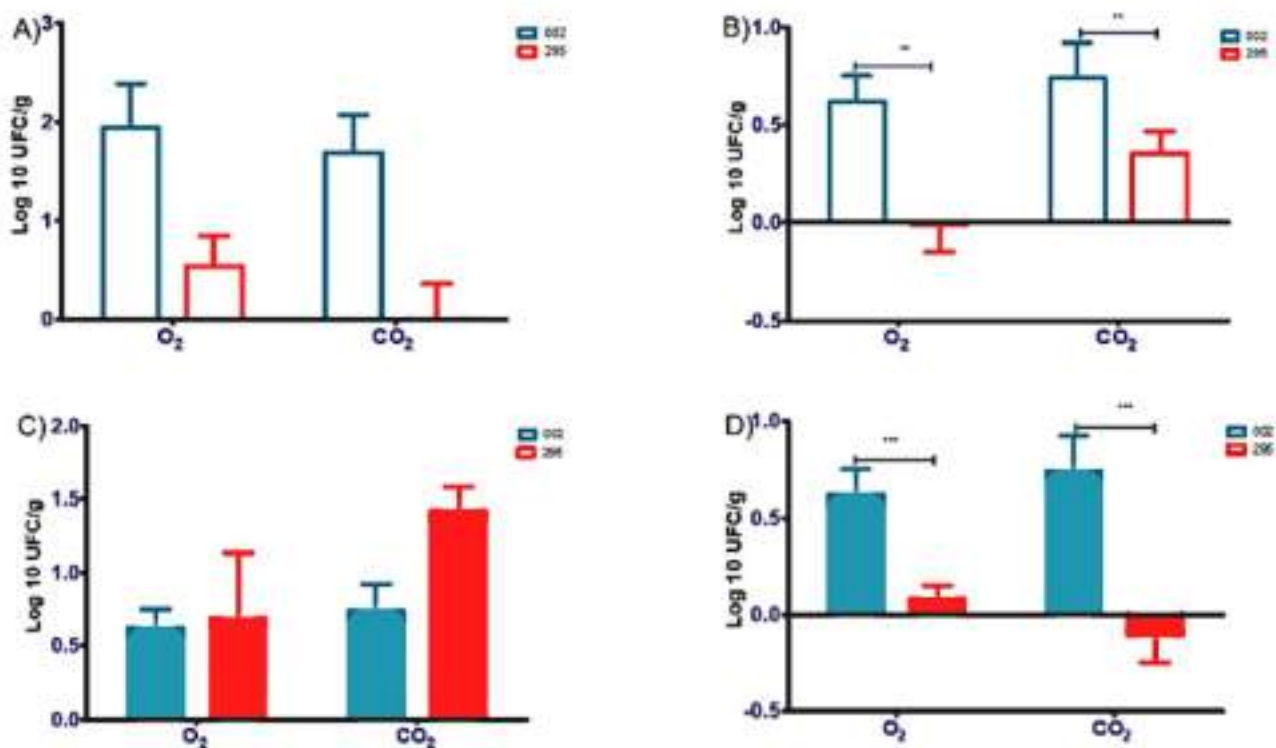


Figura 1. Comparación de crecimiento de una cepa lipolítica contra una no lipolítica de *S. aureus* en queso fresco en diferentes condiciones ambientales. Se grafica la diferencia de crecimiento de la inoculación artificial en quesos frescos con O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Las barras de color azul representan la cepa lipolítica y las barras de color rojo representan la cepa no lipolítica de *S. aureus* A) 37°C sin consorcio B) 25°C sin consorcio C) 37°C con consorcio. D) 25°C con consorcio. Prueba de *t* student. Las diferencias estadísticamente significativas son marcadas con asterisco;  $p=0.05^*$ ,  $p=0.001^{**}$ ,  $p=0.0001^{***}$ .

este análisis microbiológico se utilizó la dilución  $10^{-1}$ , de la cual se colocaron 100  $\mu\text{L}$  en placas de agar sal y manitol, McConkey y Sabouraud. La dispersión del inóculo fue por estría en V y se incubaron por 24 h a 37 °C. La ausencia de UFC indicaba la esterilidad del queso, por lo cual se tendrían las condiciones experimentales óptimas en el modelo para ser inoculado con las cepas enterotoxigénica y lipolítica de *S. aureus* así como de consorcios bacterianos que en este caso se utilizó *Bacillus cereus* y *Morganella morganii*.

#### Curva de crecimiento

Para valorar si las cepas presentaban un estrés metabólico al tener un perfil bioquímico o de virulencia distinto y que este resultado fuera atribuido a esta condición y no a la matriz alimentaria o las condiciones ambientales usadas (temperatura y disposición de oxígeno), se comparó el crecimiento de las tres cepas en un medio y condiciones óptimas. Para lo cual, cada una de las cepas utilizadas *S. aureus* lipolítico (S002) y *S. aureus* no lipolítico (S295), se inició con la activación de las mismas en agar yema de huevo por estría cruzada, posteriormente se incubó la placa a 37 °C durante 24 h, de la cual se tomó de 2-3 UFC para ajustar a la escala de McFarland al 0.5 en 900  $\mu\text{L}$  de solución salina estéril. Posteriormente, se inoculó 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión bacteriana en caldo BHI. De la que se hicieron diluciones seriadas, tomando 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión en

caldo BHI y se transfirió a un tubo con 900  $\mu\text{L}$  de solución salina. De este tubo se tomó 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión y se transfirió al segundo tubo con solución salina y se homogenizó. Este mismo procedimiento se repitió hasta conseguir una dilución  $10^{-6}$  desechando los últimos 100  $\mu\text{L}$ . Se tomó 100  $\mu\text{L}$  de suspensión bacteriana de las diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  y se transfirió en una placa de agar cuenta estándar por estría en “V” y se incubó a 37°C durante 24 h. A esta primera siembra en placa se le llamó tiempo cero (T0); el tubo de BHI con suspensión bacteriana se incubó a 37°C y cada 4 h se realizó diluciones seriadas hasta que el caldo cumplió con un tiempo de incubación de 12 h, utilizando de igual manera las diluciones  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  para hacer la siembra en placas de agar cuenta estándar. Pasadas las 24 h (T24) de incubación del caldo BHI con suspensión bacteriana, se realizaron nuevamente diluciones seriadas y la siembra en placa. Se incubó a 37°C durante 24 h en placas de agar cuenta estándar, para después realizar el conteo de UFC de cada tiempo.

#### Inoculación artificial.

Para la inoculación artificial se prepararon suspensiones bacterianas de la cepa enterotoxigénica y lipolítica de *S. aureus*, así como de los controles no enterotoxigénicos y no lipolíticos; tomando de 2 a 3 UFC e inoculándose en un tubo con solución salina al 0.8%, posteriormente se comparó la turbidez con el patrón 0.5 de McFarland hasta

que se ajustó a esta escala. Del tubo ajustado al 0.5 de McFarland, se inocularon 100  $\mu$ L en 10 g de queso fresco y estos fueron incubados a 25 °C y 37 °C con presencia de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>. Para lograr la presencia de CO<sub>2</sub> se incubaron en un recipiente hermético con una vela encendida en su interior; la llama consumía parte del oxígeno existente y se sustituía por CO<sub>2</sub>. Cuando se incluían los consorcios, se inoculaba 100  $\mu$ L de la escala ajustada de McFarland de *S. aureus*, *B. cereus* y *M. organii*. El tiempo de incubación fue de 10 h. De los quesos que se inoculaban a las diferentes condiciones se tomaba uno por tipo de queso y se procesó inmediatamente después de hacer la inoculación, al cual se le llamaba tiempo cero, con el fin de conocer con que cantidad de microorganismo se inoculaba e iniciaba.

#### Identificación y cuenta viable de *S. aureus*.

Después del tiempo de incubación, se procesaron los quesos pesando 10 g de la muestra y se colocó en un vaso papillero con 90 mL de solución salina al 0.8% para después homogenizar por un minuto en licuadora. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-3</sup>, de las diluciones 10<sup>-2</sup> y 10<sup>-3</sup> se tomaron 100  $\mu$ L y se transfirieron en agar Sal y manitol y se dispersaron por estría en "V". Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h, transcurrido este tiempo se contaron las colonias típicas para *S. aureus* en agar sal y manitol.

#### Análisis estadístico

Se realizó una base de datos con los resultados obtenidos en el programa estadístico STATA versión 12, los resultados fueron ajustados de acuerdo a los tiempos ceros de cada inoculación, convirtiéndose a la escala logarítmica, algunos resultados quedaron como números negativos, debido a que a cada placa inoculada se le restaba el número de UFC del tiempo cero, observando una disminución del crecimiento al momento de realizar la resta. Los resultados fueron comparados con la prueba estadística de t de student cuando el número de grupos a comparar era dos. Las gráficas fueron realizadas en el programa Graph Prism versión 5.0

#### Resultados

A las dos cepas se le realizó una cinética de crecimiento microbiano, con la finalidad de determinar si el crecimiento era diferencial en condiciones *In vitro*, considerando que si este era diferencial podría enmascarar el efecto de la matriz alimentaria sobre el crecimiento. De acuerdo a la tabla 1 se observa que a partir de las 8 horas a las 12 h existe un crecimiento similar para el conteo de UFC y de acuerdo a las medias obtenidas de la cepa S002 (7.3  $\pm$  1.0) de la S295 (7.5  $\pm$  .54) no existe diferencia significativa en el crecimiento entre estas cepas. Considerando este tiempo, para la inoculación de las cepas en el modelo de estudio.

Se comparó el crecimiento de la cepa lipolítica (barra color azul en la figura 1, denominada como S002) y la cepa no lipolítica (barra color rojo en la figura 1, denominada como S295) en queso fresco, donde se observó un mayor crecimiento en la S002 en queso fresco con O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> a temperatura de 25°C en presencia de consorcios en relación a la S295 (p=0.0001) (fig. 1, D).

#### Discusión

El queso es un ambiente complejo, constituido principalmente por agua, proteínas, grasas, minerales y un ecosistema microbiano dinámico caracterizado por la presencia de una gran variedad de bacterias, levaduras y mohos (Fleurot, Aigle, Fleurot, Darrigo, Hennekinne y Gruss, 2014), por lo cual el queso es un medio enriquecido donde las proteínas y grasas que este contiene lo hace un medio óptimo para el crecimiento de *S. aureus*.

Uno de los datos más importantes de este estudio es el crecimiento diferencial observado entre la cepa lipolítica y no lipolítica en presencia de consorcios microbianos, indicando que la producción de esta enzima estaría favoreciendo la competencia de la cepa de *S. aureus* en presencia de otros microorganismos.

Considerando lo anterior, inferimos que la lipasa podría estar ocasionando inestabilidad o daño a la membrana de las bacterias del consorcio bacteriano, fundamentado con lo realizado por Nguyen, Luqman, Bitschar, Hertlein, Dick, Ohlsen, Bröker, Schitteck y Götz en el 2017, en el cual demuestran que en presencia de la lipasa, se aumentaba la producción de biofilm y sugieren que las lipasas de *S. aureus* favorecen la pérdida de DNA (uno de los principales componentes de la matriz del biofilm debido a que afecta la integridad de la membrana citoplasmática por degradación de fosfolípidos).

Los mismos autores también describen, que esta liberación de DNA extracelular aumenta cuando se adiciona trioleato al medio, sugiriendo que los ácidos grasos producidos por las lipasas también afectan la integridad y permeabilidad de la membrana citoplasmática (Nguyen et al., 2017). Infiriendo en este estudio, que la lipasa por si sola afecta la integridad de la membrana, pero que también metabolitos producidos por esta enzima potencian el daño a la membrana; características que en último punto estarían inhibiendo a los microorganismos presentes en el consorcio.

#### Referencias

- Adame-Gómez, R., Toribio-Jiménez, J., Vences-Velázquez, A., Rodríguez-Bataz, E., Santiago Dionisio, M.C. y Ramírez-Peralta, A., (2018). Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Artisanal Cheeses in México. *International Journal of Microbiology*. doi.org/10.1155/2018/8760357.
- Fleurot, I. Aigle, M. Fleurot, R. Darrigo, C. Hennekinne, J.A. y Gruss, A. (2014). Following Pathogen Development and Gene Expression in a Food Ecosystem: the Case of a Staphylococcus aureus Isolate in Cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 5106–5115.
- Flores Gávilan J. y Talavera Alarcón K. (2017). *Frecuencia de biotipos humanos y no humanos de Staphylococcus aureus en ubre de ganado bovino de Coyuca de Benitez y Chilpancingo de los Bravo, Guerrero*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma de Guerrero. Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México.
- Gould, L. H., Mungai, E. y Behravesch C. B. (2014). Outbreaks Attributed to Cheese: Differences Between Outbreaks Caused by Unpasteurized and Pasteurized Dairy Products, United States. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11, 545–551.
- Guerrero-Ramos, C., Valerio, S. F. W. y Baldeón-Chamorro, E. O. (2015). Evaluación instrumental de la

- textura del queso elaborado con suero concentrado por ultrafiltración. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 81(3), 273–282.
- Martínez, A., Villoch, A. Ribot, A. y Ponce, P. (2013). Evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales de tres regiones de una provincia de Cuba. *Revista de Salud Animal*, 35, 210–213.
- Nguyen, M. T., Luqman, A., Bitschar, K., Hertlein, T., Dick, J., Ohlsen, K., Bröker, B., Schitteck, B. y Götz, F. (2017). Staphylococcal (phospho) lipases promote biofilm formation and host cell invasion. *International Journal of Medical Microbiology*. doi: 10.1016 / j.ijmm.2017.
- Ramírez-López, C. y Vélez-Ruiz, J. F., (2012). *Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad*. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, 131-148.
- Tetili, F. Bendali, F. Perrier, J. y Sadoun, D. (2017). Anti-Staphylococcal Enterotoxinogenesis of *Lactococcus lactis* in Algerian Raw Milk Cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 511–518, 518.doi.org/10.17113/ftb.55.04.17.5105.



## Composición química y actividad antibacteriana de extractos orgánicos de *Phoradendron* sp.

Johanan García Vara<sup>1</sup>  
 Paola Rosy García Sosa<sup>1\*</sup>  
 Patricia Álvarez Fitz<sup>2</sup>  
 Norma Reyna Robledo Quintos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias de la Salud; Unidad Milpa Alta. Carretera Xochimilco-Oaxtepec km 39.5, C. P. 1200 Milpa Alta, CDMX. México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Guerrero. Catedra CONACyT. Av. Lázaro Cárdenas S/N Chilpancingo de los Bravo Gro.

<sup>3</sup>Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carretera Yautepec-Jojutla, Km. 6, calle CEPROBI No. 8, Col. San Isidro, Yautepec, Morelos.

\*Autor de correspondencia  
 prgarcia@ipn.mx

### Resumen

Dentro de los recursos naturales utilizados en la medicina tradicional, *Phoradendron* sp. es una planta parásita de uso frecuente, se ha reportado que los extractos obtenidos de las hojas poseen compuestos antihipertensivos, hipoglucémicos, anticancerígenos y antimicrobianos. El objetivo de este estudio fue determinar el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de *Phoradendron* sp. Los extractos de hoja fueron obtenidos por maceración del material vegetal con los disolventes de hexano y metanol. La identificación fitoquímica se realizó por Cromatografía en Capa Fina y Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas. La actividad antibacteriana se determinó por el método de microdilución en caldo contra bacterias ATCC y aislados clínicos. El perfil fitoquímico del extracto hexánico determinó la presencia de tres compuestos mayoritarios: 2-metilactosano, ácido sulfuroso, octadecil 2-propil éster y 1-Heptacosanol; mientras que, para el extracto metanólico los compuestos mayoritarios fueron: 4,5-dihidroxi-7-metoxiflavanona y 1-metil-pirrolidina-2-ácido carboxílico. Los extractos presentaron una Concentración Mínima Inhibitoria > de 500 µg/mL contra todas las cepas evaluadas.

**Palabras clave:** *Phoradendron*, actividad antibacteriana, 1-Heptacosanol, 2-metilactosano.

### Abstract

Among the natural resources used in traditional medicine, *Phoradendron* sp. is a parasitic plant often used. It has been reported that extracts obtained from the leaves have antihypertensive, hypoglycemic, anti-cancer and antimicrobial compounds. Objective of this study was to determine phytochemical profile and evaluate antibacterial activity of extracts from *Phoradendron* sp. Leaf extracts were obtained by mashing the plant material with hexane and methanol solvents. Phytochemical identification was performed by Thin Layer Chromatography and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry. Antibacterial activity was determined by the broth microdilution method against ATCC

### Como citar el artículo:

García Vara, J., García Sosa, P. R., Álvarez Fitz, P. y Robledo Quintos, N. R. (2020). Composición química y actividad antibacteriana de extractos orgánicos de *Phoradendron* sp. *Tlamati*, 11(2), 29-32.

bacteria and clinical isolates. Phytochemical profile of hexane extract determined presence of three major compounds: 2-methilactosan, sulfurous acid, octadecyl 2-propyl ester and 1-Heptacosanol; while, for methanol extract, major compounds were, as follows: 4,5-dihydroxy-7-methoxyflavanone and 1-methyl-pyrrolidine-2-carboxylic acid. Extracts presented a Minimum Inhibitory Concentration > of 500 µg / mL against all strains evaluated.

**Keywords:** *Phoradendron*, antibacterial activity, 1-Heptacosanol, 2-methilactosan

## Introducción

La medicina tradicional abarca una amplia variedad de terapias, sus prácticas centenarias han contribuido en gran medida al avance en el cuidado de la salud. El género *Phoradendron* es un muérdago que pertenece al grupo de plantas hemiparásitas y es conocido su uso en la medicina tradicional. Se ha reportado la actividad biológica de algunas especies de *Phoradendron* como: hipoglucemiante antihipertensivo y antimicrobianos (Bastos, Olivera, Rodríguez, Militao, Silva, Turatti y Melo, 2017). Por otro lado, se ha aislado e identificado de diferentes extractos los metabolitos secundarios que poseen el efecto biológico y se ha reportado la presencia de carotenos, triterpenos, esteroides, grupos lactónicos, fenoles, taninos, aminoácidos, flavonoides, antocianinas, saponinas, alcoholes, aldehídos, hidrocarburos, lactinas visco-toxinas y alcaloides (Mamokone y Chauke, 2016). Por lo que el objetivo del presente estudio

fue determinar el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antibacteriana de los extractos hexánicos y metanólicos obtenidos de las hojas de *Phoradendron* sp.

## Materiales y Métodos

### Obtención de extractos

Las hojas de *Phoradendron* sp fueron colectadas del hospedero Aile (*Alnus* sp.) en los alrededores del CICS-Unidad Milpa Alta, ubicada entre los 19° 04' 45" N, 98° 57' 28" W, posteriormente fueron secadas y pulverizadas (100 g), este material fue macerado de manera secuencial con los disolvente hexano y metanol (1 L grado HPLC JT Barker) durante 24 h. Transcurrido el tiempo de maceración el extracto fue filtrado y la fase orgánica fue concentrada en un rotavaporador (Buchi Waterbath B-480) a 65 ° C. Los extractos obtenidos fueron depositados en frascos ámbar hasta su utilización.

### Determinación del Perfil fitoquímico

El perfil fitoquímico de los extractos fue determinado mediante las técnicas de Cromatografía en Capa Fina [CCF] y Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas [CG/EM].

### Cromatografía en Capa Fina.

Los extractos fueron disueltos en el disolvente de extracción y se aplicaron sobre una placa de sílica gel (60 F<sub>254</sub>, Merck, Alemania) de 5 cm de ancho por 15 cm de largo. La placa cromatográfica fue eluída con el sistema 7:3 hexano-acetona; posteriormente se visualizó mediante luz ultravioleta [UV] 365 nm para observar la presencia de compuestos fluorescentes y se reveló mediante reactivos químicos específicos para identificar la presencia de antranas, flavonoides, antraquinonas, alcaloides y compuestos pungentes (Wagner, 2001).

### Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas.

Se utilizaron 10 mg del extracto y fue disuelto en 2 mL de disolvente para su analisis en el CG-EM. El análisis químico de cada extracto se realizó con un CG-EM (Agilent Technologies 7890A/5975C) equipado con una columna capilar DB-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). Se utilizó helio como gas acarreador con un flujo constante de 1 ml min<sup>-1</sup>, con un programa de temperatura inicial de 100 °C, con un incremento de 3 °C min<sup>-1</sup> hasta 300 °C. Se inyectaron 2 µl de cada extracto; el inyector se trabajó en modo Split 5:1 min a una temperatura de 260 °C (Bastos *et al.*, 2017). El EM se trabajó en modo IE (70 EV), en modo SCAN y en un intervalo de masas de 35-550 UMA. Los compuestos se identificaron tomando en cuenta los tiem-

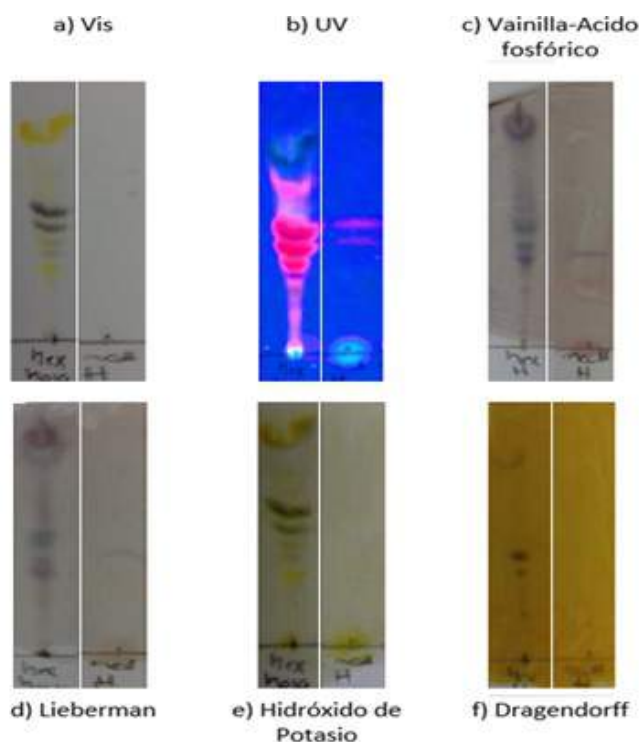


Figura 1. Perfil fitoquímico cualitativo de los extractos hexánico y metanólico de hoja *Phoradendron* sp. a) cromatoplaca vista a luz visible; b) vista en luz UV; c) reactivo vainillina-ácido fosfórico; d) reactivo de Lieberman; e) reactivo de hidróxido de potasio y f) reactivo de Dragendorff.

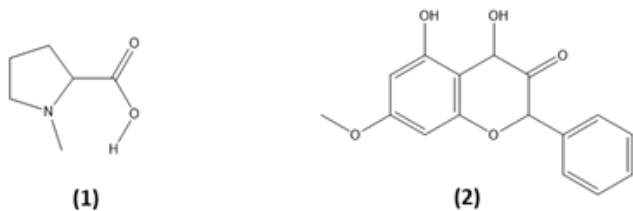


Figura 2. Compuestos identificados en el extracto metanólico de hoja de *Phoradendron* sp

pos de retención, la evaluación de los espectros de masas, así como las comparaciones con la biblioteca NIST (NIST/EPA/NIH 2002).

#### Actividad antibacteriana

##### Microorganismos y preparación del inóculo

Las cepas de los microorganismos fueron obtenidas de la American Type Culture Collection [ATCC]. Todos los microorganismos fueron incubados a 37 °C en agar Mueller Hinton. Los inóculos para los ensayos fueron preparados por suspensión directa de colonias en caldo de cultivo Mueller Hinton ajustando a la turbidez 0.5 de la escala de McFarland ( $1.5 \times 10^8$  CFU/ mL).

##### Concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria [CMI] de los extractos fue determinada por el método de microdilución en caldo en microplacas de 96 pozos. La solución stock del extracto fue preparada con DMSO (200 µL) y agua estéril (800 µL) y se evaluaron concentraciones de 62.5-500 µg/mL.

La microplaca fue inoculada con 3 µL de las soluciones de las bacterias y fueron incubadas a 37 °C por 24 h, transcurrido el tiempo se adicionaron 30 µL de MTT a cada pozo y las placas fueron reincubadas a 37 °C por 15 min. Se determinó la CMI que se define como la concentración más baja que inhibe el crecimiento visible de las bacterias. Como control positivo se empleó el antibiótico amikacina (100 µg/mL).

## Resultados

Los resultados obtenidos por el análisis de CCF detecto en ambos extractos la presencia de flavonoides, sin embargo, en el extracto hexánico se detectaron, triterpenos, saponinas y terpenoides (véase Figura 1).

El análisis por CG/EM del extracto hexánico identificó la presencia de tres compuestos mayoritarios: 2-metiloctacosano (39.3%), ácido sulfuroso, octadecil 2-propil éster (15.59%) y 1-Heptacosanol (7.03%), mientras que, en el extracto metanólico se identificó la presencia de dos compuestos mayoritarios: 4,5-dihidroxi-7-metoxiflavanona (80.13%) y 1-metil-pirrolidina-2-ácido carboxílico (3.92%) (véase Tabla 1) (véanse Figuras 2 y 3).

En la evaluación antibacteriana todos los extractos presentaron CMI >500 µg/mL, contra las cepas *Escherichia coli* 35218 (ATCC), *E. coli* 25923 (ATCC), *Staphylococcus aureus* 25923 (ATCC), *Streptococcus faecalis*, 29212 (ATCC), *Enterobacter cloacae* 700323 (ATCC), *Salmonella dublin* 9676 (ATCC), *Staphylococcus haemolyticus* (aislados clínico), *Staphylococcus hominis* 0433 (aislado clínico), *Klebsiella pneumoniae* 189 (aislado clínico), *E. coli* (aislado clínico), *Staphylococcus aureus* 543 (aislado clínico).

## Discusiones y Conclusiones

En este estudio se dan a conocer compuestos que no habían sido reportados previamente como parte del perfil fitoquímico de *Phoradendron* sp, sin embargo, han sido reportados en otras plantas. Tal es el caso de 1-Heptacosanol, el cual fue identificado en extractos hexánicos y metanólicos de *Strobilanthes crispus* L. con actividad antibacteriana e inhibidora de la enzima acetilcolinesteras. (Chin-Koay, Chong-Wong, Hasnah, Eldeen y Zaini-Asmawi 2013). Por otra parte, se ha reportado la presencia de 4,5-dihidroxi-7-metoxiflavanona en hojas de *Chromolaena subscandens* y *C. tacotana* con actividad antioxidante, (Gúzman, y Rodríguez, 2008; Gómez Calderón y Gutiérrez Otalora, 2016). En la evaluación antibacteriana ninguno de los extractos inhibió el crecimiento, aún evaluando la máxima concentración de 500 µg/mL.

Tabla 1.- Composición química de los extractos metanólicos y hexánicos hoja de *Phoradendron* sp.

TR	Compuesto	Nombre común	PM (g/mol)	Formula molecular	Área (%)	
<u>Metanol</u>						
1	4.161	1-metil-pirrolidina-2-ácido carboxílico	ácido hígrico metilprolina	129.159	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	3.92
2	51.839	4,5-dihidroxi-7-metoxiflavanona	sakuranetin	286.283	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	80.13
<u>Hexano</u>						
1	50.433	2-Metiloctacosano	isononacosano	408.799	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	39.30
2	54.968	Acido sulfuroso, octadecil 2-propil éster	isopropyl octadecyl sulfite	376.64	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub> S	15.59
3	59.326	1-Heptacosanol	Heptacosanol	396.744	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O	7.03



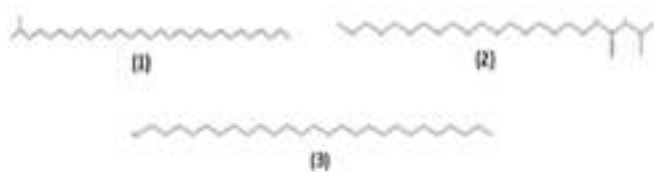


Figura 3. Compuestos identificados en el extracto hexánico de hoja de *Phoradendron* sp.

Sin embargo, existe la posibilidad de que al aumentarse la concentración del extracto se presente una inhibición exitosa por la naturaleza de los compuestos encontrados.

#### Agradecimientos

A la Secretaria de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento otorgado al proyecto 20195961 del cual derivan estos resultados.

Al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CeProBi-IPN) por las facilidades al otorgadas para el uso del equipo Cromatográfico.

A la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGRO) por el apoyo en la realización de las pruebas biológicas.

#### Referencias

Bastos, I. V., Olivera, T. B., Rodríguez, M. D., Militao, G.

C., Silva, T. G., Turatti, I. C. y Melo, S. J. (2017). Use of GC/MS to identify chemical constituents and cytotoxic activity of the leaves of *Phoradendron mucronatum* and *Phoradendron microphyllum* (Viscaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(2), 991-1001.

Chin-Koay, Y., Chong-Wong, K., Hasnah, O., Eldeen, B. y Zaini-Asmawi, M. (2013). Chemical Constituents and Biological Activities of *Strobilanthes crispus* L. *Supporting Information*, 59-64.

Gómez Calderón, L. M. y Gutiérrez Otalora, A. C. (2016). *Actividad antioxidante de flavonoides de las hojas de Chromolaena tacotana (Klatt) RM King & H. Rob* (Tesis). Bogotá, Col: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, 66p.

Guzmán, A. y Rodríguez, O. E. (2008). Flavonoides de *Chromolaena subscandens* (Hieron.) RM King andd H. Rob. *Revista Productos Naturales*, 2(1), 2-5

Mamokone Mahlo, S. y Chauke, H. R. (2016). Antioxidant and antifungal activity of selected medicinal plant extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(4), 216-222.

NIST/EPA/NIH. (2002). *Mass spectral library*. John Wiley & Sons.

Wagner, H. y Bladt S. (2001). *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. New York. USA: Springer, 384p.



## Composición de la microbiota intestinal y su asociación con parámetros antropométricos y bioquímicos en estudiantes jóvenes adultos de la Universidad Autónoma de Guerrero con obesidad y peso normal

Alma Delia Nicolás-Morales<sup>1</sup>  
 Arturo Ramírez-Peralta<sup>2</sup>  
 Ramón Alberto Batista-García<sup>3</sup>  
 Yordanis Pérez-Llano<sup>3</sup>  
 Hugo Castelán-Sánchez<sup>3</sup>  
 Natividad Castro-Alarcón<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Microbiología-UAGro. Av. Lázaro Cárdenas s/n. C.U. Zona Sur. Chilpancingo de los Bravo, México, C.P 39087. Tel: +52 (747) 471 0901.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Investigación en Patometabolismo Microbiano-UAGro.

<sup>3</sup>Centro de Investigación en Dinámica Celular, Instituto de Investigaciones en Ciencias Básicas y Aplicadas-Universidad Autónoma del Estado de México,

\*Autor de correspondencia  
[natividadcastro@uagro.mx](mailto:natividadcastro@uagro.mx)

### Resumen

La obesidad es un trastorno caracterizado por el aumento de tejido graso y se ve acompañada por diversas manifestaciones patológicas; es de etiología multifactorial y actualmente se ha considerado a la microbiota intestinal como un factor de predisposición importante. Este trabajo tuvo como objetivo analizar la composición de la microbiota intestinal y su asociación con parámetros antropométricos y bioquímicos en adultos jóvenes con peso normal y obesidad, analizando las regiones V3 y V4 del 16S ARNr y métodos bioinformáticos, así mismo, la determinación de los parámetros bioquímico se realizó utilizando ensayos colorimétricos Spinreact, Spinlab. Los resultados mostraron alteraciones en todos los parámetros antropométricos en el grupo con obesidad, con valores estadísticamente significativo, el perfil bioquímico mostró que los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol, cLDL y cHDL eran significativamente mayores en jóvenes obesos en comparación con el grupo de peso normal. El análisis de las secuencias del gen 16S RNAr, mostro que la microbiota intestinal de los individuos con peso normal y obesidad está constituida por 14 filos bacterianos diferentes, siendo los filos *Bacteroidetes* y *Firmicutes* los de mayor prevalencia en ambos grupos. Los datos obtenidos hasta ahora en nuestro estudio muestran que un estado de obesidad conlleva a distintas alteraciones metabólicas, así como alteraciones en la composición de la microbiota intestinal.

**Palabras clave:** Obesidad, Microbiota, 16S ARNr

### Como citar el artículo:

Nicolás-Morales, A. D., Ramírez-Peralta, A., Batista-García, R. A., Pérez-Llano, Y., Castelán-Sánchez, H. y Castro-Alarcón, N. (2020). Composición de la microbiota intestinal y su asociación con parámetros antropométricos y bioquímicos en estudiantes jóvenes adultos de la Universidad Autónoma de Guerrero con obesidad y peso normal. *Tlamati*, 11(2), 33-37.

## Abstract

Obesity is a disorder characterized by increase of fatty tissue, and is accompanied by several pathological manifestations, and multifactorial etiology. Gut microbiota has now been considered an important predisposition factor for obesity. Objective of this study is to analyze composition of gut microbiota, and its association with anthropometric and biochemical parameters in young adults with normal weight and obesity, analyzing the V3 and V4 regions of 16S ARNr by means of bioinformatics methods, as well as determination of biochemical parameters using colorimetric tests Spinreact and Spinlab. Results showed alterations in all of the anthropometric parameters in obese group, with significant statistically values, as follows: biochemical profile showed that glucose, triglycerides, cholesterol, cLDL and cHDL levels were significantly higher in obese youth compared to the normal weight group. Analysis of sequences of 16S RNAr gene indicates that gut microbiota of individuals with normal weight and obesity, consists of 14 different bacterial phylum, with *Bacteroidetes* and *Firmicutes* being the most prevalent in both groups. Data obtained so far in our study reveal that a state of obesity leads to different metabolic alterations, as well as alterations in the composition of the gut microbiota.

**Keywords:** Obesity, Microbiota, 16S RNAr

## Introducción

La obesidad es un trastorno caracterizado por el aumento de tejido graso, esta alteración se ve acompañada por diversas manifestaciones patológicas (Duranti, Ferrario, Van Sinderen, Ventura y Turroni, 2017). Entre los mecanismos etiopatogénicos que conducen a la obesidad se encuentran factores genéticos y ambientales, los cuales contribuyen de distintas maneras. Sin embargo, estudios recientes han sugerido que la microbiota intestinal juega un papel importante para el desarrollo de este padecimiento (Van den Berk-Clark, Secrest, S., Walls, J., Hallberg, E., Lustman, P.J., Schneider, F.D., Scherrer, 2018). La microbiota intestinal alberga aproximadamente  $1 \times 10^{14}$  de microorganismos, alojando principalmente bacterias (99%), virus, hongos y protozoos (1%), mismos establecen una relación simbiótica con el huésped. Estos microorganismos son esenciales para el funcionamiento de la mucosa intestinal, la absorción de nutrientes y la homeostasis energética (Nehra Allen, Mailing, Kashyap y Woods, 2016). La composición de la microbiota intestinal se ve influenciada por la carga genética, la inmunidad, las especies microbianas adquiridas al nacer, el uso de antibióticos y la dieta, conllevando a la alteración del metabolismo energético y al almacenamiento de grasa (Arnold, Roach y Azcarate-Peril, 2016).

El impacto de la dieta sobre el metaboloma podría identificarse mediante herramientas moleculares innovadora. Estudios actuales como la metagenómica, se basan en el análisis comparativo de las secuencias del ARN ribosomal 16S [16S ARNr] para la identificación de microorganismos (Angelakis, Armougom, Carrière, Bachar, Laugier, Lagier, Robert, et al., 2015).

El 16S ARNr tiene una longitud de aproximadamente 1500 nucleótidos, este contiene a su vez nueve regiones (V1-V9), menos conservadas o hipervariables que son las que aportan la mayor información para estudios de filogenética y taxonomía. Mediante un análisis *in silico*, se ha determinado que el segmento que incluye las regiones V4/V5 es el más eficiente para la clasificación de la microbiota intestinal.

Esta investigación tuvo como objetivo analizar la alteración de la microbiota intestinal de jóvenes adultos con peso normal y obesidad mediante un análisis metagenómico y su asociación con parámetros antropométricos y bioquímicos,

lo que ayudará a entender con más claridad y precisión las alteraciones en la microbiota intestinal en esta patología y de este modo, se aportará información importante que en un futuro ayude a un mejor tratamiento integral de la obesidad.

## Materiales y Métodos

### Características de la población de estudio

Se realizó un estudio de casos y controles, con una población de 79 jóvenes estudiantes de la Universidad Autónoma de Guerrero de ambos sexos, entre 18 y 30 años, de los cuales 41 estuvieron asociados a peso normal tomando en cuenta un índice de masa corporal (IMC)  $\leq 25$  Kg/m<sup>2</sup> y 38 asociados a obesidad con IMC  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup>.

### Perfil bioquímico.

A partir de sueros sanguíneos se determinaron los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos, cHDL y cLDL, mediante ensayos colorimétricos (SPINREACT; SPIN-

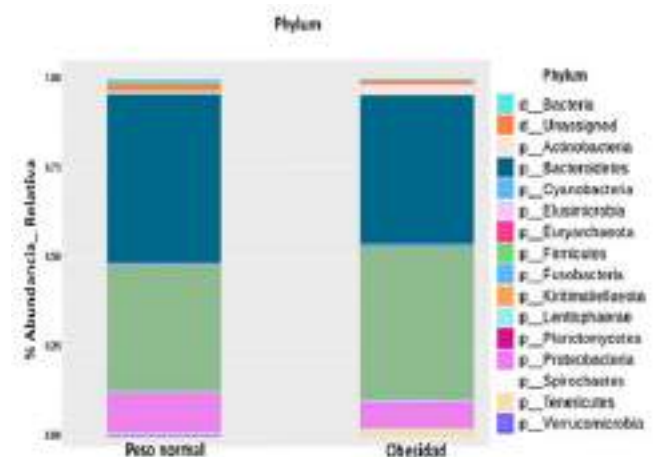


Figura 1. Comparación de la composición de la microbiota intestinal a nivel del filo. Se muestran los % de abundancias relativas (lado izquierdo) y la distribución de los filos bacterianos en los grupos peso normal y obesidad (parte inferior).

Tabla 1. Parámetros antropométricos y bioquímicos de jóvenes adultos con obesidad y peso normal.

Parámetros	Peso normal (n=41)	Obesidad (n=38)	Valor de <i>p</i>
Edad <sup>(a)</sup>	22.1 ± 2.9	22.8 ± 4.8	0.406
Sexo (%) <sup>(b)</sup>			
- Femenino	22 (53.66)	19 (48.72)	0.660
- Masculino	19(46.34)	20 (51.28)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>(c)</sup>	22.67 (20.6-23.5)	32.91 (30.5-35.4)	<0.001
Índice cintura/cadera(cm) <sup>(c)</sup>	0.83 ± 0.05	0.91 ± 0.06	<0.001
Índice cintura/talla (cm) <sup>(c)</sup>	0.49 (0.47-0.52)	0.63 (0.59-0.69)	<0.001
Nacimiento (%) <sup>(b)</sup>			
- Parto normal	35 (85.37)	23 (58.97)	0.008
- Cesárea	6 (14.63)	16 (41.03)	
Glucosa (mg/dL) <sup>(c)</sup>	80.53 (76.7-93.83)	90.74 (84.9-101.2)	0.004
Triglicéridos (mg/dL) <sup>(c)</sup>	114 (99.73-135.7)	142 (116.5-177.9)	0.001
Colesterol total (mg/dL) <sup>(c)</sup>	134.2 (108-155.7)	161 (133.9-183.6)	0.002
c-HDL (mg/dL) <sup>(c)</sup>	39.89 (36.6-55)	36.4 (27.24-41.4)	0.005
c-LDL (mg/dL) <sup>(c)</sup>	82 (69.55-91.3)	99.85 (71.7-127)	0.005

<sup>a</sup>Media ± DE, Prueba t de Student

<sup>b</sup>n (%), Prueba U de Mann-Whitney

<sup>c</sup>Mediana (Percentiles 25th y 75th) Prueba U de Mann-Whitney, diferencia estadística ( $p < 0.05$ ).

LAB, Girona, España), siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### Extracción y cuantificación de ADN

La extracción del ADN se llevó a cabo mediante el kit comercial QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemania) con modificaciones de tiempos en las instrucciones del fabricante.

#### Secuenciación y análisis bioinformático

El ADN extraído de muestras fecales se usó como plantilla para la amplificación las regiones V3 y V4 hiper-

variables del gen del 16S RNAr, la secuenciación se realizó mediante el uso del sistema MiSeq (Illumina).

Los datos de secuenciación fueron procesados por el programa QIIME2 (v. 4.4.19 (1)). La asignación taxonómica se realizó bajo un umbral de confianza del 95% utilizando la base de datos SILVA 132-99-515F/806R (2019).

#### Análisis bioestadístico

Se generó una base de datos en el programa Stata (v.13.0) Las alteraciones metabólicas se analizaron usando las pruebas estadísticas, t de Student, U de Mann—Whitney y Coeficiente de correlación de Spearman, con una diferencia estadísticas de ( $p < 0.05$ ).

La diferencia de las abundancias relativas de los microorganismos entre los grupos (obesidad/peso normal) se llevó a cabo utilizando el programa estadístico RStudio (v.3.4.4).

#### Resultados

##### Análisis del perfil bioquímico y antropométrico de jóvenes con peso normal y obesidad.

Se analizaron un total de 79 muestras de sueros sanguíneos y datos antropométricos de adultos jóvenes con peso normal y obesidad. Se determinó que la edad media en la población estudiada fue de 22 años, sin diferencias significativas entre los grupos, así mismo se observó una frecuencia homogénea en el sexo. El IMC en jóvenes con peso normal fue de 22.67 (20.67-23.51) kg/m<sup>2</sup> en comparación con el grupo de obesidad el cual fue de 32.9 (30.57–35.42) kg/m<sup>2</sup> ( $p < 0.001$ ), de igual manera los valores en

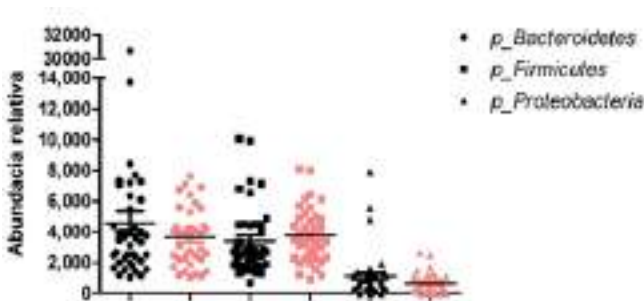


Figura 2. Comparación de filos bacterianos. Grupo de pesos normal (Negro), grupo con obesidad (Rojo). *P\_Bacteroidetes* ( $p = 0.19$ ), *P\_Firmicutes* ( $p = 0.33$ ), *P\_Proteobacteria* ( $p = 0.13$ ). Eje de Y (Abundancias relativas), eje de X (Microorganismos). Prueba t de Student, diferencia estadística ( $p < 0.05$ ).

índice cintura/cadera e índice cintura/talla fueron mayores en el grupo con obesidad ( $p=0.001$ ). El perfil bioquímico mostró que los niveles de glucosa ( $p=0.004$ ), triglicéridos ( $p=0.001$ ), colesterol ( $p=0.002$ ), cLDL ( $p=0.005$ ) y cHDL ( $p=0.005$ ) eran significativamente mayores en jóvenes obesos en comparación con el grupo de peso normal (véase Tabla 1).

*Comparación de la composición de la microbiota intestinal de jóvenes con peso normal y con obesidad.*

Diversos estudios han sugerido que la microbiota intestinal desempeña un papel importante en el desarrollo de la obesidad.

Se analizaron las secuencias hipervariables V3 y V4 del gen 16S RNAr, mostrando que la microbiota intestinal de los individuos con peso normal y obesidad está constituida por 14 filos bacterianos diferentes, se observó una variabilidad entre los grupos con relación a la composición taxonómica. Los filos con mayor abundancia fueron *Bacteroidetes* y *Firmicutes* en ambos grupos, sin diferencias significativas entre los grupos.

En el grupo de jóvenes con peso normal los filos con mayor prevalencia fueron *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*. Así mismo, se observó para el grupo con obesidad una mayor abundancia del filo *Firmicutes*, seguido de los filos *Actinobacterias* y *Tenericutes*. En general, el perfil taxonómico a nivel de filo fue muy similar entre el grupo de peso normal y obesidad (véanse Figura 1 y Figura 2).

### Discusión y conclusiones

Si bien la obesidad es la expresión de un desequilibrio entre la ingesta de energía y el gasto de energía, se sabe que la microbiota intestinal juega un papel importante afectando el equilibrio energético (Orkin, Webb y Melin, 2019). Los resultados obtenidos muestran alteraciones en todos los parámetros bioquímicos, así como alteraciones en todas las medidas antropométricas en el grupo de jóvenes con obesidad, en comparación con el grupo de peso normal. Estos datos son similares con los reportados por Eslami, Shahraki y Shahraki, (2019), quienes reportaron que en estudiantes universitarios obesos el grupo de pacientes masculinos presentaba alteraciones en todos los parámetros lipídicos, asociando el IMC con niveles alterados de cLDL y cHDL. Nuestros resultados no solo de-

muestran las alteraciones en el perfil bioquímico en el grupo con obesidad si no los posibles riesgos a los que estos conlleven, entre los que se encuentran, diabetes mellitus tipo 2, resistencia a la insulina, así como factores de riesgo cardiovascular, como hipertensión y dislipidemia.

### Agradecimientos

Agradecemos a la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

### Referencias

- Angelakis, E., Armougom, F., Carrière, F., Bachar, D., Laugier, R., Lagier, J. C., Robert, C., Michelle, C., Henrissat, B., y Raoult, D. (2015). A Metagenomic Investigation of the Duodenal Microbiota Reveals Links with Obesity. *PLOS ONE* 10(9). Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4565581/>
- Arnold, J. W., Roach, J., y Azcarate-Peril, M. A. (2016). Emerging Technologies for Gut Microbiome Research. *Trends in microbiology*, 24(11), 887–901.
- Duranti, S., Ferrario, C., Van Sinderen, D., Ventura, M., Turrioni, F. (2017). Obesity and microbiota: an example of an intricate relationship. *Genes & Nutrition*. 12, 18.
- Eslami, O., Shahraki, M. y Shahraki, T. (2019). Obesity Indices in relation to Lipid Abnormalities among Medical University Students in Zahedan, South-East of Iran. *International journal preventive medicine*. 10, 15.
- Nehra, V., Allen, J. M., Mailing, L. J., Kashyap, P. C., Woods, J. A. (2016). Gut Microbiota: Modulation of Host Physiology in Obesity. *Physiology Bethesda Md*, 31, 327–335.
- Orkin, J. D., Webb, S. E., Melin, A. D. (2019). Small to modest impact of social group on the gut microbiome of wild Costa Rican capuchins in a seasonal forest. *American Journal of Primatology*. e22985.
- SILVA (Febrero 20, 2019). *SILVA rRNA database Project*. Microbial Genomics and Bioinformatics Research Group. Obtenido de: <http://www.arb-silva.de>
- Van den Berk-Clark, C., Secrest, S., Walls, J., Hallberg, E., Lustman, P.J., Schneider, F. D., Scherrer, J. F. (2018). Association between posttraumatic stress disorder and lack of exercise, poor diet, obesity, and co-occurring smoking: A systematic review and meta-analysis. *Health Psychology journal. American Psychological Association*. 37, 407–416



## Primer reporte del picudo del maguey (*Scyphophorus acupunctatus*) en *Agave cupreata* y su control biológico en el estado de Guerrero, México

Diana I. Orbe-Díaz<sup>1</sup>  
Ana L. Juárez-López<sup>1</sup>  
María Laura Sampedro-Rosas<sup>1</sup>  
Sergio G. Ramírez-Rojas<sup>2</sup>  
Jeiry Toribio-Jiménez<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Centro de Ciencias de Desarrollo Regional, Acapulco, Guerrero, México  
Acapulco, Gro. México.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Laboratorio de Fitopatología del  
(INIFAP), Campo experimental Zacatepec. Zacatepec, Morelos, México

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Facultad de  
Ciencias Químico Biológicas, Av. Lázaro Cárdenas s/n, Cd. Universitaria, C. P. 39070, Chilpancingo, Guerrero,  
México. Tel: (52) + 747 4719310 ext. 4526

\*Autor de correspondencia  
jeiryjimenez2014@gmail.com

### Resumen

El *Agave cupreata* es una planta endémica del estado de Guerrero y es utilizada para producir mezcal, una bebida ancestral. Esta planta es susceptible de ser colonizada e infestada por plagas, en las que destaca la presencia del picudo del agave o *Scyphophorus acupunctatus*. Este coleóptero ha sido reportado en otras especies de agave causando grandes pérdidas económicas y su tratamiento es mediante el uso de compuestos químicos o control biológico. Se hicieron dos colectas de especímenes en el municipio de Mochitlán y en la comunidad del Calvario municipio de Chilpancingo, en el estado de Guerrero, México. Se aislaron cerca de 80 especímenes adultos en plantas jóvenes y adultas que estaban causando estragos en las piñas de las plantas y en algunos casos hasta la muerte. Se aplicó un tratamiento con una mezcla de hongos entomopatógenos de *Bauveria bassiana* (Bals) Vuill., y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (Lote MTZ 2-18), relación 1:1 y después de dos semanas, no se encontraron especímenes adultos de picudo. En conclusión, debemos cuidar y controlar las plagas en agave pero con un manejo adecuado compatible con el ambiente.

**Palabras clave:** *Scyphophorus acupunctatus*, *Agave cupreata*, control biológico

### Como citar el artículo:

Orbe-Díaz, D. I., Juárez-López, A. L., Sampedro-Rosas, M. L., Ramírez-Rojas, S. G. y Toribio-Jiménez, J. (2020). Primer reporte del picudo del maguey (*Scyphophorus acupunctatus*) en *Agave cupreata* y su control biológico en el estado de Guerrero, México. *Tlamati*, 11(2), 38-41.

## Abstract

*Agave cupreata* is an endemic plant of the state of Guerrero and is used for producing mezcal, an ancestral Mexican alcoholic beverage. *A. cupreata* could be colonized and infested with pests as agave's Picudo or *Scyphophorus acupunctatus*. This pest has been reported in other agave species, causing great economic losses and its treated by mean of using chemical compounds or biological control. Two specimen collections were made in the municipality of Mochitlán, Guerrero, and in the community of Calvario, municipality of Chilpancingo, in the state of Guerrero. About 80 adult specimens were isolated in young and adult plants wreaking havoc on plant and their pineapples, in some cases until death. A treatment was applied with a mixture of entomopathogenic fungi from *Bauveria bassiana* (Bals) Vuill., and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin with 1:1 ratio. After two weeks of treatment, no *S. acupunctatus* adults were found. As a conclusion, we must take care and control the pests in agave, but with adequate management compatible with the environment.

**Keywords:** *Scyphophorus acupunctatus*, *Agave cupreata*, biological control

## Introducción

*Scyphophorus acupunctatus*, comúnmente llamado picudo, es un coleóptero polífago de la familia de los Curculionidae, que causa daños severos en cultivos de agave (*Agave cupreata*) en México y su presencia ha sido reportada en estados como: Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Jalisco, Guanajuato, Estado de México, Veracruz, Morelos, San Luis Potosí y Tlaxcala (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [SENASICA], 2015).

Se sabe que cuando este escarabajo infesta una planta de agave es común encontrarlo en la base de las hojas, raíz principal; y dentro de las piñas, principalmente en aquellas que están en proceso de descomposición, y aunque tiene predilección por las plantas adultas, desafortunadamente se ha encontrado en plantas jóvenes.

El picudo se ha reportado plagando las especies de agave de mayor importancia económica en el país como son: *Agave angustifolia*, *Agave tequilana* y *Agave salmiana*, se han documentado las pérdidas que puede ocasionar a las especies ya mencionadas y estas van del 20 al 30% (Bravo, 2003; Solís Aguilar, González Hernández, Leyva Vázquez, Equihua Martínez, Flores Mendoza y A. Martínez Garza, 2001).

En el estado de Guerrero, el picudo es una plaga que afecta los cultivos de *A. angustifolia* y para su control sugieren el uso de pesticidas, sin embargo, es bien sabido que

otra de las especies de agave que se utiliza en el estado para la elaboración del mezcal es *A. cupreata*, debido a su crecimiento e interés económico resulta de gran importancia su monitoreo, cuidado y control. *A. cupreata* es endémica de la Cuenca del Balsas-Mezcala, alcanza su madurez sexual entre los 8 y 12 años de edad, es semélpara y a diferencia del *A. tequilana* esta especie no produce hijuelos, es decir su reproducción únicamente es a través de semilla (Illsley, 2008).

La importancia de *A. cupreata* como sustento económico de los productores guerrerenses dedicados a la cadena de producción agave-mezcal, así como la importancia ambiental que denota una especie endémica es indudable, sin embargo, las bajas tasas de polinización, el difícil acceso a las plantaciones silvestres y el crecimiento muy lento de las plantas dificultan cada vez más la obtención de semillas, aunado a esto las diversas plagas acaban con las plantaciones de manera acelerada.

Por lo mencionado, se denota la importancia de conocer la presencia del picudo del maguey y los estragos que causa en la especie *A. cupreata*, así como las medidas de control biológico para contener los estragos a las plantas de agave.

## Materiales y métodos

Se hizo una búsqueda del picudo (*S. acupunctatus*) en dos colectas directas (mayo y junio de 2109), en el área que funge como reserva de la especie en el ejido de Mo-

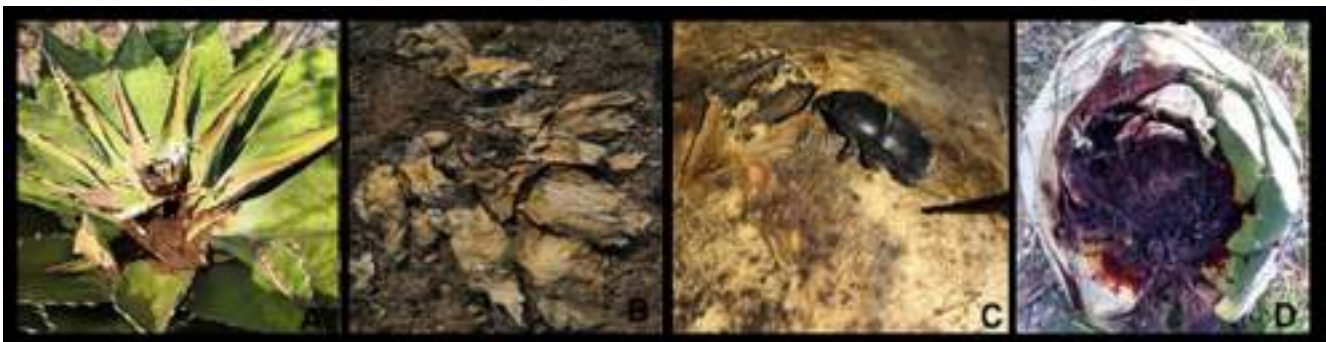


Figura 1. Daños causados por el picudo. A) Agave plagado, B) Agave muerto a causa del picudo, C) Picudo sobre la penca de un agave muerto y D) Piña dañada por picudo.

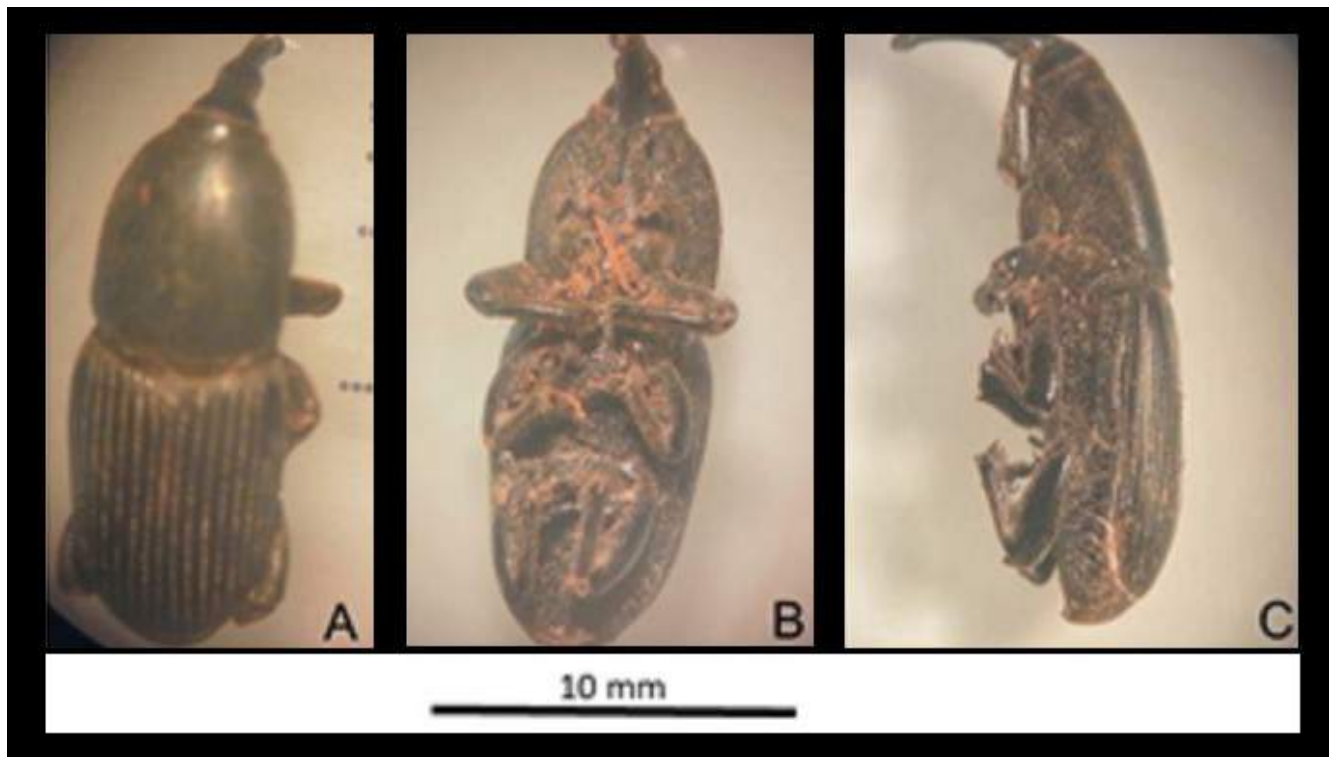


Figura 2. *Scyphophorus acupunctatus*. A) Vista frontal, B) Vista ventral, C) Vista dorsal

chitlán, Guerrero, ubicado en las coordenadas 17° 28'21.9"N y 99°24'00.8"W, a 998 msnm; así también se encontró en una parcela de agaves en la comunidad del Calvario, municipio de Chilpancingo, Guerrero., en las coordenadas 99°50'80.56"N y 17°46'30.56"W y a 1850 msnm. Se revisaron a detalle cerca de 200 plantas de agave con y sin lesiones características de la plaga. Los especímenes fueron colectados a mano y transportados al Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, donde se preservaron en alcohol (70%) y refrigeración, así mismo se enviaron al laboratorio de Entomología para su identificación y colección, con número de colecta FCQB-07072019, ambos laboratorios pertenecen a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, de la Universidad Autónoma de Guerrero. Así mismo en agosto de 2019, se aplicó un tratamiento como control biológico en la parcela del Calvario, con una mezcla microbiana 1:1 embebida en arroz y preparada en el laboratorio empleando a los hongos entomopatógenos del picudo a *Bauveria bassiana* (Bals) Vuill., y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (Lote MTZ 2-18), la mezcla se dejó incubando durante 15 días a temperatura ambiente, posteriormente por cada kilo de arroz embebido se prepararon 200 L en agua. La solución fue aplicada directamente a las plantas de agave con una bomba de 20L de manera manual.

## Resultados

En los dos sitios muestreados de cultivo de *A. cupreata* en diferentes altitudes, se encontraron cerca de 80 especímenes adultos de *S. acupunctatus* plagando especímenes jóvenes y adultos (véanse Figuras 1 y 2); el área designada como reserva natural en Mochitlán, Guerrero, cerca del

80% de todas las plantas (jóvenes y adultos) están muertas y el 20% restante está plagado, en cuanto a la comunidad del Calvario el 10% de las plantas revisadas están colonizadas e infectadas por el picudo, en cuanto al control biológico empleado en plantas adultas de la comunidad El Calvario se observó mayor vigor y coloración, al cabo de un mes no se recuperó ningún espécimen de picudo.

## Discusión

El picudo está considerado como uno de los responsables del declive de la especie *A. cupreata* (SENASICA, 2016), que además del potencial cultural y económico en el estado de Guerrero, esta planta se usa y sobreexplota mediante el saqueo de plantas para producir mezcal y otros productos, pero aún no se encuentra en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT. De seguir esta tendencia, podría ingresar a la lista de especies amenazadas, lo que se traduce en la pérdida del sustento familiar de miles de familias no solo en Mochitlán, también del estado DE Guerrero, por lo que resulta imperativo elaborar y poner en práctica estrategias de rescate y conservación que además sean amigables con el ambiente, de fácil manejo, de bajo costo y que aseguren el bienestar de la plántulas que lleguen a campo.

El control biológico de plantas se enmarca dentro de la estrategias agroecológicas y resulta muy eficaz a la hora de combatir diversas plagas en cultivos de interés. La combinación de hongos entomopatógenos utilizada para combatir plagas en agave resulta eficaz y certera, sin embargo, el complicado acceso a las plantaciones silvestres de *A. cupreata* en las comunidades mezcaleras, dificulta 1) contabilizar el número real de agaves infestados y 2) poder dar



tratamiento a esos agaves, es por ello que se vuelve prioritario tener un canal de comunicación constante con los productores y artesanos mezcaleros.

### Conclusiones

Se reporta por vez primera la colecta de picudo de agave del maguey en dos parcelas del estado de Guerrero y se aplicó un tratamiento con hongos entomopatógenos para su control biológico en el área perturbada.

### Referencias

Bravo, M., E. (2003). Sugerencias para el manejo integrado del picudo del maguey mezcalero *Scyphophorus interstitialis* Gyllenhal. *Folleto Técnico Número 4. Santo Domingo Barrio Bajo, Etila, Oaxaca, México*, 1-27.

Illsley C. (2008). *Manejo campesino sustentable del maguey papalote del Chilapan. Fase II. Grupo de Estudios Ambientales AC. Informe final SNIB-CONABIO* proyecto No. ES004. México D. F.

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010.

(2019). *Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo*. DOF. Gobierno Federal de México.

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2015). *Manual de Plagas y Enfermedades del Agave*. Guanajuato, MX. SENASICA

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2016). *Picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal 1838) (Coleoptera. Dryophthoridae)*. SENASICA-DGSV Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria-Grupo Especialista Fitosanitario. Ficha Técnica. Tecamac, México. 13 p

Solís Aguilar, J. F., H. González Hernández, J. L. Leyva Vázquez, A. Equihua Martínez, F. J. Flores Mendoza y A. Martínez Garza. 2001. *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, Plaga del agave tequilero en Jalisco, México. *Agrociencia* 35 (6): 663-670.



## Registros del zambullidor menor (*Tachybaptus dominicus*) en Omiltemi, Guerrero, México y la importancia de conservar la biodiversidad

Epifanio Blancas-Calva<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero. Instituto de Investigación Científica, Área de Ciencias Naturales, Av. Lázaro Cárdenas s/n., interior del Jardín Botánico, Ciudad Universitaria, C.P. 39087 Chilpancingo, Guerrero, México.

\*Autor de correspondencia  
[ebcalva@yahoo.com.mx](mailto:ebcalva@yahoo.com.mx)

### Resumen

La biodiversidad desempeña un papel clave en el mantenimiento de los ecosistemas, de donde se derivan los servicios que sostienen a la población humana. No obstante la singular importancia de la biodiversidad, existe un serio desconocimiento de la sociedad acerca de ésta. Las razones del desconocimiento son múltiples: una cosmovisión religiosa creacionista, el modelo de apropiación de los recursos naturales, los currículums educativos poco efectivos y las formas tradicionales de uso de los recursos biológicos, entre otras. Estas razones contribuyen en la construcción del imaginario colectivo, donde el concepto de la biodiversidad se encuentra inmerso en la zona de sombra de la sociedad humana. En esta comunicación, se aborda la importancia del cuidado de la biodiversidad y se informa de un registro del zambullidor menor (*Tachybaptus dominicus*), registro adicional que incrementa el inventario de la diversidad avifaunística de Omiltemi, Guerrero, área reconocida como un *hotspot* de biodiversidad en la Sierra Madre del Sur. El registro es destacado porque la presencia de la especie no había sido previamente documentada en el área.

**Palabras clave:** avifauna de Omiltemi, hotspot de biodiversidad, podicipediformes

### Abstract

Biodiversity plays a key role in maintenance of ecosystems, from which derived ecosystem services that support the human population. However, given the unique importance of biodiversity, there is a serious lack of knowledge about it in the society. Reasons for this collective incomprehension are multiple; a creationist religious worldview, a model of appropriation of natural resources, ineffective educational curricula, and traditional forms of use of biological resources, among others. These reasons contribute to the construction of collective imagination where concept of biodiversity is immersed in the shadow zone of human society. In this study, author address importance of caring biodiversity and at the same time, author reports a record of the Least Grebe (*Tachybaptus dominicus*), as an additional record that increases inventory of birds diversity in Omiltemi, Guerrero, México. This area are recognized as a biodiversity hotspot in the Sierra Madre del Sur, México. This record is noteworthy because presence of this specie had not been previously documented in the area of study.

**Keywords:** Omiltemi's birds, biodiversity, podicipedidae

### Como citar el artículo:

Blancas-Calva, E. (2020). Registros del zambullidor menor (*Tachybaptus dominicus*) en Omiltemi, Guerrero, México y la importancia de conservar la biodiversidad. *Tlamati*, 11(2), 42-45.

## Introducción

La biodiversidad es fundamental en el mantenimiento de los ecosistemas y constituye el medio para la producción de los servicios que sustentan a la población humana (United Nations Environment Programme [UNEP], 2016). No obstante, la singular importancia que la biodiversidad representa, existe un serio desconocimiento científico acerca de ésta a nivel colectivo. Hecho que tiene múltiples razones, como son: a) la herencia cultural de una cosmovisión religiosa donde la especie humana (*Homo sapiens*) es considerada producto de la creación con un exclusivo diseño divino y elemento hegemónico en cuyo beneficio fueron creadas el resto de las especies (Sánchez-Morales, 2015); b) la implantación y operación de modelos económicos de apropiación de los recursos naturales donde lo prioritario es la ganancia económica y su impacto, por ejemplo, el cambio climático; c) los currículums poco efectivos de los sistemas educativos a distintos niveles; d) las formas de uso tradicional de los recursos naturales para solucionar las necesidades de sobrevivencia de las comunidades humanas, generalmente en pobreza pero asentadas incluso en medido de los *hotspots* de biodiversidad, entre otras razones. Todo este universo de concepciones contribuye sustantivamente en la construcción del imaginario social colectivo, que justifica y promueve la erosión de la riqueza biológica, misma que es el resultado de procesos histórico-evolutivos, irrepetibles, en una ventana temporal de millones de años (Borregaard, Antonelli, Colwell y Holt, 2019). No obstante que los esfuerzos a distintas escalas en la aplicación de respuestas de algunos sectores de la sociedad a la pérdida de la biodiversidad están aumentando, la pérdida de la riqueza biológica continúa (UNEP, 2016). Diversos estudios sobre de la distribución de la biodiversidad señalan con claridad que los ecosistemas de América Latina, sobre todo en el Neotrópico, que constituyen en su conjunto una de las regiones con la mayor biodiversidad del planeta (Borregaard et al. 2019).

Coherente con valores de la riqueza biológica reconocida para el estado de Guerrero, es claro que éste ocupa una posición destacada en el contexto nacional por su alta biodiversidad, lo cual es estimulante (Navarro-Sigüenza y Escalante, 1998). Sin embargo, las formas de apropiación de los recursos naturales en la entidad dejan poco espacio para el optimismo respecto de la conservación de la biodiversidad; *v.gr.*, los numerosos incendios anuales (Gobierno del Estado de Guerrero, 2019) que se promueven para limpieza de las áreas agrícolas previo a la siembra, la tala ilegal, la ganadería extensiva y la minería a cielo abierto (Tamayo, 2014), entre otras prácticas altamente erosivas de la riqueza biológica local.

La descripción sostenida de nuevas especies biológicas (Flores-Villela y Ochoa-Ochoa, 2016), y la publicación de registros de especies nuevas para la ciencia, contribuyen con los esfuerzos para fortalecer el conocimiento de la biodiversidad del estado. Lo que genera expectativa de que avanzamos en el proceso educativo de ubicar a las especies como parte de una matriz biológica en la que se inserta la especie humana, misma que comparte estrechamente una historia filogenética-evolutiva con todas las especies biológicas (Stringer, 2016; Barahona, 2020).

Respecto de la diversidad de aves para el estado de Guerrero, éste alberga un total de 539 especies (Navarro-

Sigüenza, Rebón-Gallardo, Gordillo-Martínez, Peterson, Berlanga-García y Sánchez-González, 2014), número que recientemente se ha incrementado con nuevos registros de especies (Blancas-Calva, Blancas Hernández, Castro Torreblanca y Cano Nava. 2017; Blancas-Calva, Castro Torreblanca y Briseño-Hernández, 2019; Sierra-Morales, Almazán-Núñez, Meléndez-Herrada, García-Vega, Peñaloza-Montaño, Álvarez-Álvarez, et al., 2019). Una de las especies de la riqueza biológica mencionada, es el zambullidor menor (*Tachybaptus dominicus*), ave del Orden Podicipediformes, Familia Podicipedidae, género *Tachybaptus* (American Ornithologists' Union [AOU], 2020), de afinidad neotropical estrictamente acuática, asociada a cuerpos de aguas calmadas dulces o salobres, generalmente con vegetación flotante, puede asociarse en grupos reducidos para pescar y, bucea tanto para pescar como para huir (Germain y Ruiz-Bruce, 2016). *Tachybaptus dominicus* presenta una longitud entre 22 y 27 cm y un peso que oscila entre 81 a 182 g. El adulto posee los ojos color amarillo oro, pico recto negro, corona oscura, cara y cuello negro deslavado, partes inferiores café y flancos café grisáceo. Los juveniles tienen los ojos color negro, pico pálido, cabeza gris con bandas oscuras y el resto del cuerpo con plumaje color gris (Howell y Webb, 1995; Peterson y Chalif, 1998; The Cornell Lab, 2020). La especie se distribuye en cuerpos de agua temporales o permanentes en las planicies costeras de Guerrero (Navarro-Sigüenza, 1998), así como de algunos espejos de Aguas quietas del interior del estado (eBird, 2020). En esta comunicación informamos de tres registros del zambullidor menor en una localidad adyacente a Omiltemi, Guerrero, área donde no había sido previamente registrado. Los registros son destacados porque corroboran la presencia de la especie en el área considerada *hotspot* de biodiversidad en la Sierra Madre del Sur del estado de Guerrero, México y abordamos la necesidad de difundir la importancia de conservar la biodiversidad.

## Observaciones

La observación de los ejemplares la realizamos con binoculares Nikon 8 x 42, y fueron fotografiados con una



Figura 1. Ejemplar de zambullidor menor (*Tachybaptus dominicus*) forrajeando en un pequeño cuerpo de agua en una localidad vecina a Omiltemi, Guerrero (Foto: E. Blancas-Calva 17/05/2020).



Figura 2. Zambullidor menor adulto seguido por sus crías (Foto: E. Blancas-Calva, 21/06/2020).

cámara Nikon D5100, lente Nikon de 50-300 mm. Para su identificación utilizamos guías para las aves de México (Howell y Webb, 1995; Peterson y Chalif, 1998) y la guía de Aves de las Lagunas Costeras de Oaxaca, México: Guía Fotográfica de Aves Acuáticas y Rapaces (Germain y Ruiz-Bruce, 2016). El nombre científico de la especie se corroboró en el *checklist* de AOU (2020), y el nombre común de las aves de México (Escalante, Sada y Robles-Gil, 2014). Se consultó la página de eBird (2020) para observar los registros realizados de la especie incluidos en el área de estudio. Las observaciones fueron realizadas como parte de un curso de entrenamiento para observadores de aves. El día 17 de mayo de 2020, a las 18:10 h, avistamos un ejemplar de zambullidor menor (*T. dominicus*), en un pequeño cuerpo de agua cercano al paraje conocido como El Resumidero (17°33'15.62" N, 99°37'25.17" O, 1945 msnm), un área adyacente a la localidad de Omiltemi (véase Figura 1). El 22 de mayo de 2020 a las 17:30 h, regresamos al sitio señalado, para confirmar la presencia del taxón. En esta observación documentamos la presencia de un adulto y dos juveniles, éstos de tamaño aproximado al individuo adulto, el primero procurando cuidados parentales a los polluelos (véase Figura 2). El cuerpo de agua donde los observamos es de reciente creación, ya que en visitas previas fue observado como un estanque temporal. Este cuerpo de agua está enclavado en la depresión intermontaña que se presenta desde el Este de Omiltemi hasta el Noreste de Xocomatlán. La vegetación arbustiva que puebla las orillas del cuerpo de agua está compuesta por matorral de jarilla (*Baccharis salicifolia*), rodeada por vegetación de encino-pino, con especies como *Quercus magnoliifolia*, *Quercus castanea*, *Pinus lawsonii*, *Cupressus lindleyi*, *Vachellia farnesiana*, *Agave cupreata* y *Brahea dulcis*, entre otras especies.

### Discusión

La localidad de Omiltemi en el estado de Guerrero, México, es un sitio histórico reconocido a nivel mundial, debido a la contribución pionera que sobre su diversidad biológica realizó Humboldt (1826) en 1803, además de otros estudios sobre biodiversidad realizados ahí por naturalistas destacados. A finales del siglo pasado se publicó el libro: *Historia Natural del Parque Ecológico Estatal, Omiltemi, Chilpancingo, Guerrero, México* (Luna y Llo-

rente, 1998). Sustentándose en la información biológica generada por un equipo técnico *ad hoc*, integrado por especialistas sobre diversos grupos de organismos, sirvió para constituir el expediente para promover el área hacia el estatus de Parque Ecológico Estatal, debido a su alta riqueza biológica, proyecto que no tuvo efecto legal.

Los grupos biológicos estudiados fueron hongos macroscópicos, plantas vasculares, mariposas, insectos ectoparásitos, anfibios, reptiles, aves y mamíferos. En esa obra se presentó un listado de 1 247 especies que constituyen una muestra de la riqueza biológica excepcional de Omiltemi, Guerrero. Respecto de la diversidad biológica de las aves reconocida para Omiltemi, ésta se compone por 160 especies con presencia confiable (Navarro-Sigüenza y Escalante, 1998).

Omiltemi sigue siendo de interés biológico por su alta biodiversidad y el endemismo de linajes biológicos que alberga, además, es el lugar de un tipo de especie de córvido conocido como chara guerrerense (*Cyanolyca mirabilis*), especie carismática cuasiendémica de Guerrero (González-García y Gómez de Silva, 2002), y es parte del área de distribución geográfica del rascador (*Arremon kuehnerii*), especie descrita recientemente con localidad tipo en Carrizal de Bravo (Navarro-Sigüenza et al. 2016). Para el caso de la especie *T. dominicus* existe un registro previo, efectuado por M. Carmody, aproximadamente a 1.8 km al suroeste de Omiltemi, el 29 de marzo de 2019 (eBird, 2019).

Los registros aquí expuestos corroboran la presencia de *T. dominicus* en el área, taxón que aunado con la especie de chivirín cola oscura (*Thryomanes bewickii*) recientemente registrada para el área de Omiltemi (Sierra-Morales et al. 2019), y la especie de rascador *A. kuehnerii* (Navarro-Sigüenza et al. 2016), antes mencionada.

Se incrementa en tres el número de especies, con lo que el listado de especies de aves para Omiltemi se compone actualmente de 163 especies.

Es recomendable realizar trabajos de muestreo de la biodiversidad en el área de Omiltemi a casi 30 años de que fue realizado el inventario de los vertebrados del área (Luna y Llorente, 1998), con el objetivo de conocer si la riqueza biológica persiste.

Es necesario difundir la importancia de la conservación de la riqueza biológica del área, ya que Omiltemi constitu-

ye un área de captación acuifera que provee de agua potable a la localidad de Amojileca y parte del oeste de la ciudad de Chilpancingo, Guerrero.

### Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento a los revisores anónimos que con sus aportaciones contribuyeron en la mejora del manuscrito

### Referencias

- American Ornithologists' Union. (2018). *Checklist of North and Middle American Birds*. AOU. Obtenido de: <http://checklist.aou.org/>.
- Barahona, A. (2020). Origen y evolución del ser humano. ¿Cómo ves? 32:1-14.
- Blancas-Calva, E., Blancas Hernández, J. C. Castro Torreblanca M. y Cano Nava, G. A. (2017). La tångara azul gris (*Thraupis episcopus*) en el estado de Guerrero, México. *Huitzil Revista Mexicana de Ornitología* 18 (2): 232-237. DOI: 10.28947/hrmo.2017.18.2.283
- Blancas-Calva, E., M. Castro Torreblanca, I. Briseño-Hernández. (2019). El charrán de Sandwich (*Thalasseus sandvicensis*) en la costa de Guerrero, México. *Huitzil Revista Mexicana de Ornitología* 20(1):1-5. DOI: 10.28947/hrmo.2019.20.1.381
- Borregaard, M.K., A. Antonelli, R. K. Colwell y B. Holt. (2019). Building mountain biodiversity: Geological and evolutionary processes. *Science* 365: 1-6. DOI: 10.1126/science.aax0151
- eBird. (2020). *eBird: An online database of bird distribution and abundance*. Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, New York, EUA. Obtenido de: <http://ebird.org/ebird/map/>.
- Escalante, P., A. M. Sada y J. Robles-Gil. (2014). *Listado de nombres comunes de las aves de México*. 2a. edición. CIPAMEX, UNAM. México.
- Flores-Villela, O. y L. Ochoa-Ochoa. (2016). Estado de conocimiento y conservación de la herpetofauna de la Sierra Madre del Sur. pp. 367-380. En Luna-Vega, I., D. espinosa y R. Contreras-Medina. *Biodiversidad de la Sierra Madre del Sur: Una síntesis preliminar*. Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN 978-607-02-7906-5
- Germain, P., Ruiz-Bruce, M.. (2016). *Aves de las lagunas costeras de Oaxaca, México: guía fotográfica de aves acuáticas y rapaces*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ciudad de México. 288 p.
- Gobierno del Estado de Guerrero. (2019). *Altas posibilidades de que la temporada de incendios forestales sea más intensa*. Secretaría de Protección Civil. Protección Civil Estatal. Obtenido de: <http://proteccioncivil.guerrero.gob.mx/2019/02/22/altas-posibilidades-de-que-la-temporada-de-incendios-forestales-sea-mas-intensa-proteccion-civil-estatal/>.
- González-García, F. y H. Gómez de Silva G. (2002). Especies endémicas: riqueza, patrones de distribución y retos para su conservación. pp. 150-194. En Gómez de Silva, H. y A. Oliveras de Ita. (eds.). *Conservación de aves experiencias en México*. CIPAMEX. México, D. F. 408 p.
- Humboldt, A. (1826). *Viaje a la regiones equinociales del Nuevo Continente*. Paris, FR. Casa de Rosa.
- Howell, S.N.G. y Webb, S. (1995). *A guide to The Birds of Mexico and Northern Central America*. Oxford University Press Inc., New York, EUA.
- Luna-Vega, I. y Llorente-Bousquets, J. (comp.). (1998). *Historia Natural del Parque Ecológico Estatal Omiltemi, Chilpancingo, Guerrero, México*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 588p.
- Navarro-Sigüenza, A.G. y Escalante, P. 1998. Aves. En Luna, V. I. y J. Llorente B. (comp.). (1993). *Historia Natural del Parque Ecológico Estatal Omiltemi, Chilpancingo, Guerrero, México*, 443-501. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 588p.
- Navarro-Sigüenza, A. G. (1998). *Distribución geográfica y ecológica de la avifauna del estado de Guerrero*, México. Tesis de doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 182p.
- Navarro-Sigüenza, A.G., Rebón-Gallardo, Ma. F., Gordillo-Martínez, A., Peterson, A.T., Berlanga-García H. y Sánchez-González, L. A. (2014). Biodiversidad de aves en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. (85), suppl., S476-S495. 476-495. DOI: 10.7550/rmb.41882
- Peterson, R.T. y Chalif, E. L. (1998). *Guía de campo de las Aves de México*. Ed. Diana, México, D.F. 473 p.
- Sánchez Morales, H. (2015). Génesis y desarrollo del concepto de evolución. *Pensamiento* (71): 119-140.
- Sierra-Morales, P, Almazán-Núñez, R. C., Meléndez-Herrada, a., García-Vega, C. S., Peñalozza-Montaño, M. A., Álvarez-Álvarez, E. A., Contreras-Rodríguez, A. I. y Fuentes-Vega, A. S. (2019). Nuevos registros e información sobresaliente sobre la distribución de algunas aves del estado de Guerrero, Méxi-co. *Huitzil*. 20(2):1-13.
- Stringer, C. (2016). The origin and evolution of the Homo sapiens. *Philosophical Transactions*. Royal Society B 371: 20150237. 1-12.
- Tamayo, L. (2014). La Minería a cielo abierto en México: una nueva forma de colonialismo. *Nómadas. Revista Crítica de Ciencias Sociales y Jurídicas* 44 (4): [http://dx.doi.org/10.5209/rev\\_NOMA.2014.v44.n4.49291](http://dx.doi.org/10.5209/rev_NOMA.2014.v44.n4.49291)
- The Cornell Lab. (2020). *All about birds Least Grebe*. Obtenido de: <https://www.allaboutbirds.org/guide/Least-Grebe/overview>.
- United Nations Environment Programme (2016). *El Estado de la Biodiversidad en América Latina y el Caribe. Una evaluación del avance hacia las metas de AICHI para la diversidad biológica*. UNEP. 131p. Obtenido de: <https://www.cbd.int/gbo/gbo4/outlook-grulac-es.pdf>.



## De la biotecnología a la producción sostenible: Innovar desde las cadenas productivas

Leonardo J. López-Damián<sup>1</sup>  
 Diana I. Orbe Díaz<sup>1</sup>  
 Yanet Romero-Ramírez<sup>2</sup>  
 Erubiel Toledo-Hernández<sup>2</sup>  
 Jeiry Toribio-Jiménez<sup>1, 2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero. Doctorado en Ciencias Ambientales, CCDR, Privada de Laurel No. 13 Col. El Roble, C.P. 39640, Acapulco, Gro., México;

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Guerrero. Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, UAGro., Av. Lázaro Cárdenas S/N, col. Haciendita, C.P. 39089 Chilpancingo. Gro., México.

\*Autor de correspondencia  
[jtoribio@uagro.mx](mailto:jtoribio@uagro.mx)

### Resumen

El Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero desarrolla la identificación, aislamiento y producción de microorganismos con aplicaciones tecnológicas. En los últimos 5 años desarrollamos procesos de innovación que aún se encuentran en fase de implementación en tres cadenas productivas: lechuga (*Lactuca sativa*), jitomate orgánico (*Solanum lycopersicum*) y mezcal. En nuestra experiencia, los factores que favorecen y obstaculizan la transferencia de tecnologías, y su adopción son: la formación previa de los productores y/o la comunicación entre ellos y la percepción de los costos que tiene el productor ante los esfuerzos de innovación. Una vez puestas en práctica, la adopción de las innovaciones depende de la rapidez y magnitud con que se pueda obtener resultados visibles. Ya sea que estos resultados se observen en mayor cantidad o calidad de producción y en la simplificación de procesos que ellos llevan a cabo comúnmente. Llegados a este punto, para garantizar los resultados es necesario ayudar a los productores a pasar de unas finanzas intuitivas a un plan de negocios que puedan seguir a mediano y largo plazo. Fue la necesidad de garantizar la adopción de innovaciones lo que nos llevó a involucrarnos en prácticamente todos los eslabones de cada cadena productiva, obligándonos a pasar de un modelo de transferencia de tecnología instantánea a un proceso más lento pero efectivo, de transferencia participativa.

**Palabras clave:** Innovación, biotecnología, lechuga, jitomate orgánico, mezcal,

### Como citar el artículo:

López-Damián, J. L., Orbe Díaz, D. I., Romero-Ramírez, Y., Toledo-Hernández, E. y Toribio-Jiménez, J. (2020). De la biotecnología a la producción sostenible: Innovar desde las cadenas productivas. *Tlamati*, 11(2), 46-50.

## Abstract

Laboratory of Molecular Microbiology and Environmental Biotechnology in Faculty of Chemical-Biological Sciences of the Autonomous University of Guerrero develops identification, isolation and production of microorganisms with technological applications. In last 5 years they have developed innovation processes that are still in implementation phase for three production chains: lettuce (*Lactuca sativa*), organic tomato (*Solanum lycopersicum*) and mezcal. In their experience, factors that favor and hinder transfer of technologies and their adoption are, as follows: previous training of producers and/or communication between them and perception of costs that producer has in the face of innovation efforts. Once implemented, adoption of innovations depends on the speed and magnitude with which visible results can be obtained, whether these results are observed in greater quantity or quality of production as in simplification of processes which producers commonly carry out. At this point, to guarantee results, it is necessary to help producers move from intuitive finances to a business plan that they can follow in the medium and long term. It was a need to guarantee adoption of innovations, which led us to get involved in practically all the links of each productive chain, forcing us to move from a model of instant technology transfer to a slower but more effective process of participatory transfer.

**Keywords:** Innovation, biotechnology, lettuce, organic tomatoes, mezcal

## Introducción

En el panorama de modernización actual se considera que las Instituciones de Educación Superior [IES], deben ser agentes de cambio y se requiere de ellas la transferencia de conocimientos a los sectores productivos, para adquirir una posición económica y geopolítica competitiva (Alonso Bajo y Retamoza-López, 2015). En ese sentido, el Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas [LMMMyBA] de la Universidad Autónoma de Guerrero [UAGro], desarrolla constantemente la identificación regional, aislamiento y producción de microorganismos con aplicaciones tecnológicas en la forma principalmente de bio-fertilizantes, bio-insecticidas y bio-plaguicidas, entre las más frecuentes. Esta producción académica normalmente resulta en publicaciones científicas, documentos de tesis y la formación de recursos humanos. Sin embargo, el éxito de estos esfuerzos debería alcanzarse cuando estas tecnologías desarrolladas sean llevadas hasta su adopción por los productores, que son sus usuarios finales. Es decir, que representen una innovación entendida como el desarrollo de impactos económicos, sociales y ambientales directos e indirectos (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 2016).

Instituciones con amplia tradición, como el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias [INIFAP], define la transferencia de tecnología como el proceso a través del cual la información técnica, los genotipos y los instrumentos agrícolas mejorados por el sistema de investigación, se validan en el contexto agroeconómico y social donde se van a aplicar, se difunden los resultados a los productores-objetivo del área y se promueve su uso entre éstos con la intervención directa de los servicios prestados por el Estado a la producción (Cadena Iñiguez, Morales Guerra, González Camarillo, Berdugo Rejón y Ayala Sánchez, 2009). El énfasis institucional con el que se ha abordado esta transferencia de tecnologías se ha centrado en las herramientas y figuras de interacción entre la generación del conocimiento y su aplicación como tecnologías, así como las labores en materia de política gubernamental para promover la vinculación entre los sectores académico, público y privado (Rojas, 2017). Sin embargo,

debe reconocerse que para el caso de México las publicaciones, seminarios, conferencias, servicios de consultoría especializada y pruebas de laboratorio, son actividades de transferencia con mayor nivel de desarrollo en las universidades, sobre todo las publicaciones, seminarios y conferencias, las que no necesariamente tienen un impacto en el sector productivo (Vázquez, 2017).

Durante los últimos 5 años en el LMMMyBA, nos hemos visto impulsados a acercarnos a tres cadenas productivas: lechuga (*Lactuca sativa*), jitomate orgánico (*Solanum lycopersicum*) y mezcal, que han resultado en procesos de innovación que aún se encuentran en fase de implementación. Las cadenas productivas (véase Figura 1) son diferentes entre sí, si se considera que el número de eslabones correspondientes a procesos observados y/o definidos por los propios productores son más cortas o largas, dependiendo si se involucra o no la transformación de lo producido o la duración del ciclo, dependiendo de qué tan perecedero sea el producto. Las cadenas productivas de jitomate y lechuga se completan en períodos de aproximadamente 3 meses, mientras que la del mezcal puede llevar entre 8 y 10 años en concluirse. En este trabajo, buscamos extraer de las experiencias y los factores que han contribuido a la aplicación real de las tecnologías desarrolladas.

## Materiales y Métodos

El presente proyecto fue desarrollado en parte como contribución al “Seminario Interdisciplinario sobre Innovación Rural”, llevado a cabo los días 6 y 7 de junio de 2019, organizado por el Centro de Investigaciones en Geografía Ambiental [CIGA] de la Universidad Nacional Autónoma de México [UNAM] en Morelia, Michoacán. En este Seminario se pretendió identificar los factores que inciden en las dinámicas de innovación múltiple en contextos rurales y cómo estos operan e interactúan en comunidades y cooperativas campesinas en territorios “en desventaja”, con alta exclusión social. Dentro de esa amplia perspectiva, y con el objetivo de identificar los factores favorables para la adopción de innovaciones desarrolladas en el LMMMyBA, nos avocamos a recapitular, describir y analizar nuestros casos de estudios exitosos.

Como un primer ejercicio, la información fue recuperada de manera no sistemática, a partir de entrevistas infor-

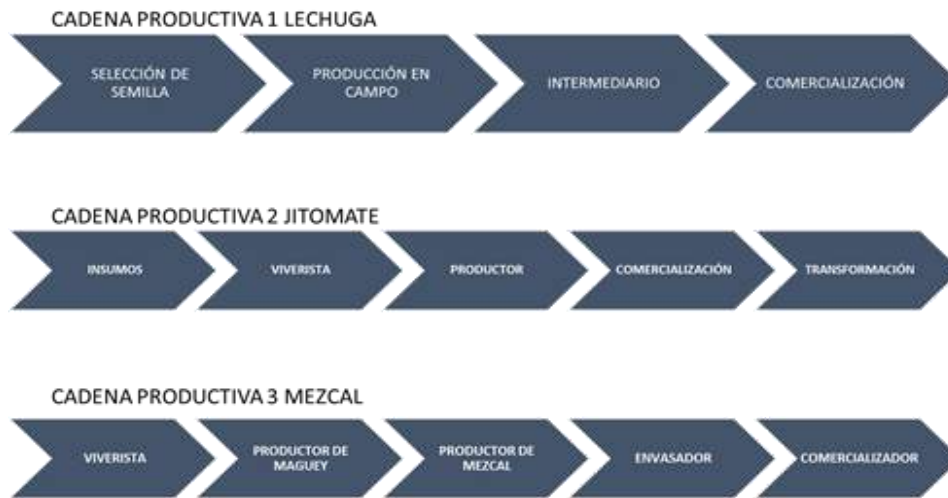


Figura 1. Eslabones de las 3 cadenas productivas de los casos de estudio definidas a partir de la descripción de procesos de los productores participantes.

males durante el trabajo de campo con los productores, quienes se ofrecieron voluntarios para poner a prueba en sus parcelas nuestras tecnologías desarrolladas. Durante el desarrollo de estos proyectos independientes entre sí, se dio la realización de talleres con la participación de los productores y en ocasiones de autoridades locales, como condición de posibilidad en los distintos ámbitos de acción de los participantes. Esto es, se usó el intercambio cultural entre investigadores y participantes de las cadenas productivas como bosquejos de conocimiento y acción significativos.

## Resultados

A grandes rasgos, consideramos algunos logros como indicadores de éxito de estas experiencias, como sigue: lechugas más grandes alcanzando hasta los 800g por unidad, jitomates orgánicos de 400g de un sabor agradable (sin datos cuantitativos) y una sensación de satisfacción percibida por los productores. En un par de casos, notamos que al alejarnos del productor la tendencia no es a quedarse con la tecnología, sino a abandonarla. Estas circunstancias y la previsión de que pudieran ocurrir en otros ejercicios, fueron las que nos llevaron a ir más allá del eslabón específico en que se aplicaría nuestra tecnología, hasta abarcar casi todos los eslabones de cada cadena productiva (véase Figura 2).

Por poner un ejemplo, una vez produciendo más de lo que consumían surgía el problema de encontrar nuevos clientes; cosas como éstas nos obligaron a no ser solamente los desarrolladores de la tecnología, sino también los auxiliares para formar su propio plan de negocios. En el caso particular de la participación con una organización de mujeres productoras de mezcal del estado de Guerrero, nos ha llevado incluso hasta el registro de marca y todo el plan de negocios que ocupan.

A partir de nuestras experiencias, hay dos factores principales de las tecnologías que desarrollamos, mismas que propician la interacción entre los productores como usuarios finales y nuestro laboratorio, que tiene una fuerte participación académica y de formación de recursos humanos. Sin alguna de éstas, la vinculación entre lo que hacemos y

su adopción en las cadenas productivas no sería posible, estas son:

### La formación previa de los productores voluntarios:

Para los productores que participan en foros, talleres, simposios y otros eventos similares, se les facilita encontrar puntos de referencia en común, un lenguaje familiar y una perspectiva favorable ante la idea de trabajar con investigadores.

### La comunicación entre los propios productores:

Cuando un productor se siente satisfecho de lo obtenido en la relación con el laboratorio, generalmente se vuelve un promotor voluntario de esta interacción, al hablar de ella favorablemente ante otros productores. Ambas características nos han permitido establecer vínculos de confianza para el trabajo en conjunto con los productores.

Una vez pasado el primer filtro, entra en juego un tercer criterio de elección a través del cual, los productores deciden si participan o no, esta es la **percepción de costos asequibles o inexistentes**. En las críticas condiciones actuales del país, en “los territorios olvidados” y las áreas rurales con mayor rezago social, el sistema de producción es principalmente de subsistencia. Esto es, que lo poco que se produce se vende apenas para alcanzar a llegar al siguiente ciclo productivo anual. Al estar cerca de su límite económico de desempeño, la inversión en dinero suele verse como un obstáculo. Hemos encontrado que modificar esta visión desde una perspectiva meramente económica (*¿Cuánto hace falta?*), a una más centrada en la consecución de las metas (*Podemos conseguir tal material o entre todos sacamos el trabajo a tiempo*), tiene el efecto de crear una percepción de que los costos de la incorporación de las nuevas tecnologías son fáciles de cubrir y en ocasiones se estiman inexistentes, en el sentido de que para el productor se trata de una circunstancia en la que se logre o no el objetivo común, él solamente puede ganar.

Hasta este punto, los productores suelen estar entusiasmados ya que utilizan sus conocimientos, ofrecen sus tierras y sus esfuerzos para conseguir el objetivo, pero es aquí en donde todo puede salir mal. Una participación no comprometida o meramente técnica del *transferólogo* o del personaje vinculante entre el productor y las tecnolo-



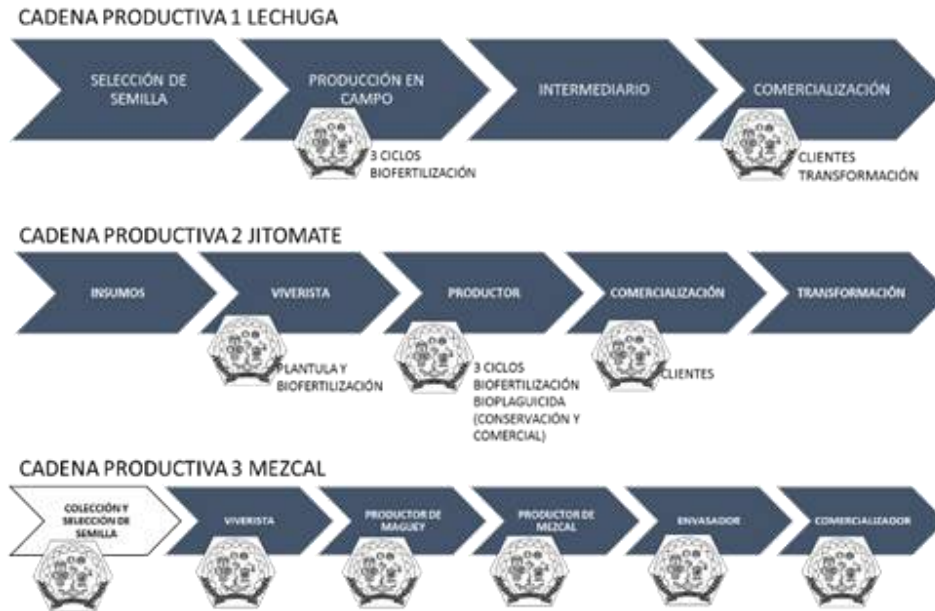


Figura 2. Las cadenas productivas en estudio, donde se señalan con el logotipo los eslabones en los que el LMMMyBA participó finalmente, modificando o introduciendo nuevos procesos. Observe que tras la interacción IES-productores en la cadena productiva de mezcal, se propuso un nuevo eslabón.

gías que se pretenden adoptar, pueden minar completamente el lazo de confianza creado, afectando incluso posteriores participaciones entre esos productores y otros investigadores. Hay una diferencia notable entre el compromiso que perciben los productores cuando alguien les da instrucciones como “hagan un cuadro de tal tamaño y ahí ponen la semilla”, y otro les dice “venimos varias personas, entre todos vamos rescatar las plántulas que salen y vamos a plantarlas”. Cuando los investigadores se involucran hombro a hombro, con los productores, estos no solamente se sienten respaldados sino que perciben el compromiso del laboratorio por obtener el resultado esperado.

Las parcelas experimentales que han ofrecido los productores, han sido una fuente importante de **resultados visibles**. El hecho de obtener lechugas o jitomates más grandes, bonitos y sin plaga o que los productores pasaran de crear completamente perdida una cosecha de maguey a obtener 5 mil plántulas listas para ser plantadas para el siguiente ciclo agrícola, no solamente les produce un alivio ante la incertidumbre de si lo que hacían estaba bien, les genera una confianza tanto en el laboratorio como en los esquemas de participación con otros investigadores; y los convierte casi automáticamente en unos entusiastas promotores de este tipo de interacciones.

En otros casos, ha sido la **simplificación de procesos** la que ha estimulado la adopción de tecnologías. Curiosamente, a pesar del uso generalizado de fertilizantes y otros compuestos sintéticos aplicados a los cultivos, que son considerados como peligrosos ya que requieren de algunas medidas de seguridad que a veces son difíciles de lograr en campo, encontramos que cuando parte de la tecnología que les ofrecemos en biofertilizantes requiere de medidas de protección menos estrictas y engorrosas, los productores de inmediato se vuelven más propensos a adoptarlas y a seguir aplicándolas a largo plazo.

Sin embargo, todo el entusiasmo generado alrededor de las experiencias exitosas debe ser acompañado por un seguimiento de los resultados. Los sistemas de producción agrícola rural están regidos principalmente por personas que llevan unas **finanzas intuitivas**, ya que viven al día y reaccionan ante los cambios del mercado y se enfrentan además, a las dificultades de distribución, de creación de consumidores y de un escaso valor agregado a su producción. Esto les lleva a veces a que, a pesar de los mejores resultados, terminen por abandonar las innovaciones adoptadas en un esfuerzo por seguir haciendo lo que conocen bien, aún con resultados menores a los óptimos. En estas circunstancias es que, como una estrategia para escalar el impacto que tenemos nosotros como desarrolladores de tecnologías, hemos tenido que involucrarnos también en acompañar el desarrollo de su organización como productores y la creación de **planes de negocios** que puedan seguir a mediano y largo plazo. Ayudarles a crear y registrar sus organizaciones, crear sus propias marcas y establecer sus estándares de calidad, son actividades que originalmente no estaban consideradas en la simple transferencia de tecnología, pero que actualmente forman parte de lo que nuestro laboratorio impulsa a los productores a lograr.

### Discusión y conclusiones

Nuestras observaciones de que los factores denominados: (1) Formación Previa, (2) Comunicación entre los propios productores, (3) Percepción de costos como asequibles o inexistentes, (4) Resultados visibles, y (5) Simplificación de procesos, parecen ser consistentes con la tesis de Rogers (1995), que sostiene que la decisión de adoptar una determinada innovación está sujeta a 5 características básicas:

- (i) deben proporcionar una ventaja relativa
- (ii) presentar compatibilidad con los actores y procesos existentes
- (iii) implican una complejidad con respecto a su aplicación
- (iv) tienen como característica la imitabilidad que les permite escalar su aplicación y diseminarse en toda la industria
- (v) se basan en la propensión a mostrar los beneficios o impactos de la innovación.

Dado que éstas, al hacerse evidentes en las interacciones entre investigadores y productores, evidencian que son las personas y cómo interactúan entre sí, quienes proporcionarán la esperada mejora (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2019)

Los procesos de toma de decisiones de los productores que en este trabajo llamamos finanzas intuitivas, no son evidentes desde una lógica capitalista. Deberían ser analizados con mayor profundidad, probablemente desde perspectivas como la llamada economía campesina (Heynig, 1982), mismas que quedan fuera del alcance de este análisis. Se ha postulado que la mayoría de los productores están más preocupados por sobrevivir que por innovar (Alonso Bajo y Retamoza-López, 2015), sin embargo, la combinación de los factores mencionados arriba, lleva a una percepción de “riesgo cero” para los productores o los lleva por lo menos a crear lazos de confianza, al establecer los riesgos de probar nuevas tecnologías como un riesgo compartido.

No obstante lo expuesto en este trabajo, creemos importante mencionar que no se debe asumir que el gobierno juega el papel de un ente pasivo, ofreciendo mecanismos institucionales para articular las opciones estratégicas de acuerdo a las prioridades sectoriales, sino que debe convertirse en un actor del proceso de generación de innovación tecnológica junto con los productores e instituciones de educación superior.

En conclusión, asumimos que la preocupación de nuestro equipo de trabajo por lograr adopción permanente de innovaciones, fue lo que nos llevó a involucrarnos en prácticamente todos los eslabones de cada una de estas cadenas productivas. Y fue a través de alinear objetivos con los productores que se pudo crear una red de intercambio de información, en la que por prueba y error se procedió hasta lograr la adopción de nuestras tecnologías y algunas otras adecuaciones. En cierta forma, nos obligamos a pasar de

un modelo de transferencia de tecnología instantánea a un proceso más lento, pero efectivo de transferencia participativa, el cual esperamos pueda demostrarse en trabajos posteriores, con indicadores tanto de la adopción de las tecnologías como de su impacto innovador, al ser incorporadas a la generación de ingresos, mejoras en el bienestar percibido de los participantes y reducción de los impactos ambientales de cada cadena de producción.

### Agradecimientos

Se agradece la participación activa de los productores de lechuga y jitomate en Tixtla de Guerrero, Coaxtlahuacan, Tlacotitlanapa y el Calvario, Guerrero, y la Asociación de Mujeres del Agave y Mezcal de México, capítulo, Guerrero en la cadena de agave.

### Referencias

- Alonso Bajo, R. y Retamoza-López, A. (2015). Vinculación y transferencia de tecnología: propuesta de un modelo para el estado de Sinaloa. *Ra Ximhai*, 11(3), 131-144.
- Cadena Iñiguez, P., Morales Guerra, M., González Camarillo, M., Berdugo Rejón, J. G. y Ayala Sánchez, A. (2009). *Estrategias de transferencia de tecnología, como herramienta del desarrollo rural. Libro técnico núm. 2*. MX. INIFAP-CIRPAS, 112 p.
- Heynig, K. (1982) Principales enfoques sobre la economía campesina. *Revista de la CEPAL*, 16, 115-142.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (Mayo 22, 2019). *Innovación en la FAO*. Obtenido de: <http://www.fao.org/innovation/es/>
- Organización de las Naciones Unidas. (2016) *Agenda 2030 y los Objetivos de desarrollo sostenible una oportunidad para América Latina y el Caribe*. ONU. Comisión Económica para América Latina y el Caribe [CEPAL], 48 p.
- Rogers, E. M. (1995) 6 Attribute of innovation and the rate of adoption. *Diffusion of innovations*. New York, USA. The Free Press.
- Rojas, J. L. (2017). Las oficinas de transferencia de tecnología y su papel en la estructuración de proyectos de innovación: el caso de una oficina mexicana. *ALTEC 2017. XVII Congreso Latino-Iberoamericano de Gestión Tecnológica*. 15.
- Vázquez, E. R. (2017) Transferencia del conocimiento y tecnología en universidades. *Revista de Ciencias Sociales y Humanidades*, 83(38), 75-95.



## Marketing ecológico y los productos orgánicos comestibles certificados: Un enfoque del consumidor hidalguense

Eduardo Muñoz Bautista<sup>1\*</sup>  
Alejandra Vega Barrios<sup>1</sup>  
Arlen Cerón Islas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Económico Administrativas. Circuito La Concepción Km 2.5. Col. San Juan Tilcuautla. San Agustín Tlaxiaca Hidalgo, México. C. P. 42160.

*\*Autor de correspondencia*  
[eduardo\\_munoz5599@uaeh.edu.mx](mailto:eduardo_munoz5599@uaeh.edu.mx)

### Resumen

Diversos artículos mencionan una relación entre la responsabilidad ambiental, la protección de la salud y los productos orgánicos, los cuales deben seguir siendo estudiados para verificar la evidencia de la preocupación en el comportamiento del consumidor, por lo que el objetivo de este trabajo fue el de identificar como intervienen los factores culturales en la compra de productos orgánicos comestibles de la población de 20 a 64 años de 7 municipios del estado de Hidalgo.

Se realizó estudio descriptivo correlacional de corte transversal por edad pruebas de chi-cuadrado de Pearson, Medidas simétricas (Phi y V. de Cramer) con un universo entre 20 a 64 años de edad de 7 municipios del estado de Hidalgo, la muestra fue de 1080 personas evaluadas, considerándose la variable dependiente la compra de productos orgánicos comestibles y como variable independiente factores culturales, dando como resultados la prevalencia del conocimiento de certificación de productos orgánicos de solo el 41.4% de los encuestados. En cuanto a la prevalencia de la producción en el estado de Hidalgo, únicamente el 30.0% de los encuestados conocen los productos orgánicos comestibles que se producen en el estado, mientras que al 33.9% no les interesa saber en dónde se producen. En cuanto a la información en medios de comunicación, un 41.1% de los encuestados conocen los beneficios de los productos orgánicos comestibles. En beneficios a la salud, el 46.1% están de acuerdo en que la salud de la población mejoraría con el consumo de productos orgánicos comestibles, ya que los productos orgánicos certificados comestibles favorecen al medio ambiente, mientras que como conclusiones, se observa que existen asociaciones entre los productos orgánicos y los factores culturales.

**Palabras clave:** Marketing ecológico, productos orgánicos, factores culturales.

### Como citar el artículo:

Muñoz Bautista, E., Vega Barrios, A. y Cerón Islas, A. (2020). Marketing ecológico y los productos orgánicos comestibles certificados: Un enfoque del consumidor hidalguense. *Tlamati*, 11(2), 51-58.

## Abstract

Several articles mention a relationship between environmental responsibility, health protection and organic products, which should continue to be studied in order to verify evidence of concern in consumer behavior. Objective of this study was to identify how cultural factors intervene in the purchase of edible organic products of population aged from 20 to 64 years of 7 municipalities in the state of Hidalgo. A descriptive correlational cross-sectional study by age was carried out, Pearson's chi-square tests, Symmetric measurements (Phi and Cramer's V.) with subjects between 20 and 64 years of age from 7 municipalities in the state of Hidalgo. Sample was of 1080 people evaluated, considering as dependent variable the purchase of edible organic products, and cultural factors as the independent variable, giving as results the prevalence of knowledge of organic product certification of only 41.4% of the respondents. Regarding prevalence of production in the state of Hidalgo, only 30.0% of those surveyed are aware of edible organic products that are produced in the state, while 33.9% are not interested in knowing where they are produced. Regarding information in media, 41.1% of those surveyed know the benefits of edible organic products. In health benefits, 46.1% agree that health of the population would improve with consumption of edible organic products, since edible certified organic products favor the environment, while as conclusions, it is observed that there are associations between organic products and cultural factors.

**Keywords:** Ecological marketing, organic products, cultural factors

## Introducción

Las organizaciones productoras ya sea de bienes o servicios deben de mantener una orientación a la responsabilidad ambiental, así como la protección a la salud y seguridad de los consumidores, alineándolos a crear una conciencia del cuidado al medio ambiente. El marketing ecológico en un papel innovador promueve los productos con un mayor valor de marca encaminadas a la sustentabilidad (Kotler, Kartajaya y Setiawan, 2010). En la actualidad hay más consumidores que están prefiriendo marcas con un eco-etiquetado siendo relevantes para su estilo de vida (Khare, Mukerjee y Goyal, 2013), lo que implica que la decisión de compra de los consumidores se basa en el cuidado a su salud y al medio ambiente

### Antecedentes

Rugel; Nicolalde y Alava, (2015), citan a Cubillo y Cerviño, quienes estipulan que el marketing ecológico nace por la preocupación del medio ambiente y está concibiendo cambios en el consumidor. El marketing ecológico mantiene su enfoque natural al ser aplicado en su mezcla de mercadológica (producto, precio, plaza y promoción), pero orientadas al cuidado del medio ambiente, encontrándose dentro de la responsabilidad social, ya que ayuda a mejorar el sistema ambiental (Lorenzo, 2002). Es por esto que debe estar afin a la sustentabilidad, en beneficio a la sociedad, protección del medio ambiente y de manera económica. "...es un concepto que forma parte de la tendencia de las sociedades del mundo, donde se busca dar solución a la inminente amenaza de autodestrucción que condiciona el estilo de vida actual" (Hernández, Escorihuela, y López, 2011: 65).

En el año 2015, Bernstein y Jaime (2015), en su artículo *El valor de la economía verde y la sustentabilidad*, enfatizan el enfoque marketing verde, el cual ve a los consumidores como verdaderos seres humanos, entendiéndolos en sus necesidades y determinando que el valor de la marca les genera una ganancia objetiva y efectos positivos en la salud.

En referencia a los productos orgánicos, México es el cuarto productor mundial de alimentos orgánicos con 169 mil hectáreas dedicadas a este tipo de cultivo agrícola, de las cuales 88,300 han sido certificadas, siendo los estados Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Chihuahua y Guerrero los que abarcan el 82% de esta superficie. México se encuentra entre los 20 países que exportan estos productos, orientado principalmente a Estados Unidos de América, Japón y Unión Europea (Secretaría de Agricultura, Ganadería [SAGARPA], 2017).

Los productos orgánicos comestibles certificados parten de la producción agrícola orgánica, que es un sistema donde se utiliza al máximo los recursos naturales, enfatizando en la fertilidad del suelo y los aspectos biológicos, no utilizando agroquímico sintéticos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2018), protegiendo la salud del ser humano y del medio ambiente. Los *alimentos mucho más naturales y saludables para el consumo humano* (Procuraduría Federal del Consumidor [PROFECO], 2018), se identifican por una etiqueta o sello de certificación que afirma la calidad del producto, cumpliendo con los requisitos de proceso de producción hasta su comercialización, de tal forma que no perjudique al medio ambiente. En México se cultivan más de 45 alimentos orgánicos, destacando el café cereza con 32.5%; Maíz con 11.7%; Aguacate con 9.09%; Pasto

Tabla 1 Muestra ponderada por edad. Fuente: elaboración propia

Edad	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64
Muestra	166	141	145	148	137	110	103	73	57

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2 considera que los productos orgánicos comestibles cuentan con un certificado de calidad otorgado por un organismo acreditador por edad

	Rangos de edades									
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	Total
<b>Totalmente de acuerdo</b>	60	43	42	32	48	33	25	27	28	338
<b>De acuerdo</b>	66	55	48	50	69	59	52	27	21	447
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	27	23	33	40	14	11	14	9	3	174
<b>En desacuerdo</b>	11	13	16	17	5	6	8	9	3	88
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	2	6	6	9	1	1	4	1	2	32
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

7.59%; Alfalfa 5.8% Frijol con un 3.8%; Agave con 3.5%; otros con un 16.7% de acuerdo a la SAGARPA en 2016.

#### *El consumo regional de productos orgánicos comestibles*

La producción de estos alimentos es más lenta y por ende se da en menor cantidad, ya que no es impulsada por fertilizantes u hormonas de crecimiento, lo que impacta directamente en su precio, siendo de 11 a 337% más alto que los convencionales (PROFECO, 2018).

En el estudio realizado por el programa *Quien es quien en los precios*, realizado en enero del 2018, resalta el comparativo de los productos convencionales y los orgánicos; por ejemplo, en el aceite de oliva extra virgen, arroz blanco, huevo blanco, y en pechuga de pollo con y sin hueso, su precio se duplica; en pollo entero se triplica y en harina de trigo se cuadruplica; en referencia a los vegetales y frutas, el ajo refleja un 104% de aumento, la cebolla blanca un 72%; el jitomate saladette 207%; papa alfa un 5.3% y la toronja un 4.5%.

La comercialización se ha incrementado en el mercado doméstico, ya que se pueden encontrar en tiendas de auto-servicio y establecimientos especializados, aunque su con-

sumo es muy bajo. Por otro lado, la oferta de estos productos a través de tianguis y mercados orgánicos está presente en diversos estados de acuerdo a la revista *El Poder del Consumidor* (2019), tales como Veracruz, Oaxaca, Estado de México, Ciudad de México, Morelos, Jalisco, Puebla, Baja California Sur, Tlaxcala, pero no se identifica alguno en el estado de Hidalgo

Debido a esta situación, se reconoce que las familias del estado de Hidalgo consumen menos estos productos, ya sea por su precio alto, porque desconocen sus beneficios (más saludables y no contaminan el medio ambiente) o porque no se ofrecen en mercados populares, ya que no hay una cultura social que determine el conocimiento de los beneficios y el apoyo al medio ambiente de los productos orgánicos comestibles. Sostiene Sólon (2013) que "...una cultura es una personalidad de una sociedad e influye en la formación de nuestra identidad como individuos", en este sentido, el consumo está influenciado por ideas y valores al adquirir ropa o comida.

El objetivo de esta investigación es el de identificar como intervienen los factores culturales en la compra de productos orgánicos comestibles de la población de 20 a

Tabla 3. Sostiene que los productos orgánicos comestibles son aquellos que en el proceso de producción no contiene fertilizantes químicos por edad.

	Rangos de edades									
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	Total
<b>Totalmente de acuerdo</b>	57	49	39	37	44	25	27	31	32	341
<b>De acuerdo</b>	69	55	65	70	70	60	47	28	17	481
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	34	20	17	19	12	16	19	6	4	147
<b>En desacuerdo</b>	3	11	16	9	6	7	7	5	4	68
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	3	5	8	12	5	2	3	3	0	41
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4 Considera que los productos orgánicos certificados comestibles, desde su producción hasta su distribución traen beneficios al medio ambiente por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	47	37	24	40	49	36	29	34	36	332
<b>De acuerdo</b>	71	61	68	55	62	52	40	29	17	455
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	43	28	34	29	18	20	25	6	3	206
<b>En desacuerdo</b>	4	5	10	14	7	2	6	3	0	51
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	1	10	9	10	1	0	3	1	1	36
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Conoce los beneficios de los productos orgánicos certificados comestibles por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	35	40	30	26	33	29	22	11	23	249
<b>De acuerdo</b>	56	57	62	55	67	54	45	24	24	444
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	50	30	38	35	14	17	23	16	6	229
<b>En desacuerdo</b>	21	8	10	23	19	8	8	15	3	115
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	4	6	4	9	4	2	5	7	1	42
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 6. Conoce los productos orgánicos certificados comestibles que se producen en estado de Hidalgo por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	34	25	12	8	30	27	20	3	13	172
<b>De acuerdo</b>	63	30	35	20	53	35	54	18	16	324
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	42	67	82	73	22	32	17	18	13	366
<b>En desacuerdo</b>	17	13	8	29	21	11	5	21	8	133
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	10	6	8	18	11	5	7	13	7	85
<b>Total</b>	166	141	145	148	137	110	103	73	57	1080
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 7. Sostiene le gustaría tener mayor información de los productos orgánicos certificados comestibles por medio de impresos como cartel, tríptico, volante, etc. por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	42	34	42	47	31	31	11	32	22	292
<b>De acuerdo</b>	77	61	61	67	78	47	58	34	26	509
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	28	36	32	26	22	23	20	4	8	199
<b>En desacuerdo</b>	18	6	7	4	6	4	9	3	0	57
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	1	3	3	4	0	5	5	0	1	22
<b>Total</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

64 años de edad, de 7 municipios del estado de Hidalgo, México.

### Métodología

La muestra ponderada es de 1080 personas de 20 a 64 años de edad, que viven en 7 municipios del estado de Hidalgo. El tipo de muestreo es probabilístico o al azar, aplicando un cuestionario con cinco ítems de escala de Likert, del cual se obtuvo la información de opinión. La variable dependiente es la compra de productos orgánicos comestibles y como variable independiente, los factores culturales. Se hizo un análisis descriptivo mediante tablas cruzadas por edad, pruebas de chi-cuadrado de Pearson, Medidas simétricas (Phi y V. de Cramer), cuyos datos se muestran en los resultados (véase Tabla 1).

### Resultados

Se desarrolló un análisis descriptivo por tablas cruzadas por edad, con pruebas de chi-cuadrado de Pearson y Medidas simétricas (Phi y V. de Cramer), de los factores culturales que influyen en el comportamiento del consumidor de 20 a 64 años de edad, frente a la compra de productos orgánicos comestibles.

Los factores culturales son: Conocimiento de certifica-

ción, Producción en el estado de Hidalgo, Información en medios de comunicación, Beneficios a la salud y Beneficios al medio ambiente.

En la tabla 2 se puede observar que del 100% un 41.4% de los encuestados están de acuerdo en que los productos orgánicos comestibles deben contar con un certificado de calidad, de los cuales el 53.6% son de un rango de edad de 45 a 49, el chi-cuadrado de Pearson 84.845a con asociación .062 y las medidas simétricas son: Phi .280 y V. de Cramer .125

Se puede observar en la tabla 3 que del 100% de los encuestados, un 44.5% de estos están de acuerdo en que los productos orgánicos comestibles no contienen fertilizantes químicos, teniendo un 54.5% un rango de edad de 45-49 años, el chi-cuadrado de Pearson es 82.347a con asociación .201 y las medidas simétricas son: Phi .276 y V. de Cramer .113

En la tabla 4 se identifica que del total de los encuestados solo un 42.1% de estos están de acuerdo en que los productos orgánicos comestibles traen beneficios al medio ambiente, un 47.3% tienen un rango de edad de 45 a 49 años. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 105.358a con asociación .000 y las medidas simétricas son: Phi .312 y V. de Cramer .156

La tabla 5 refleja que un 41.1% de los encuestados se

Tabla 8. Le gustaría tener mayor información de los productos orgánicos certificados comestibles por medio de recursos electrónicos por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	61	39	45	54	50	26	13	18	26	332
<b>De acuerdo</b>	53	55	64	56	55	47	61	34	25	450
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	32	38	27	33	23	24	17	13	6	213
<b>En desacuerdo</b>	18	6	9	4	8	10	6	7	0	68
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	2	3	0	1	1	3	6	1	0	17
<b>Total</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 9. La salud de la población hidalguense mejoraría con el consumo de productos orgánicos certificados comestibles por edad.

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	45	49	40	59	40	25	32	30	15	335
<b>De acuerdo</b>	76	53	73	54	76	58	49	27	32	498
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	41	25	26	24	18	23	20	11	10	198
<b>En desacuerdo</b>	4	10	5	7	2	4	2	3	0	37
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	0	4	1	4	1	0	0	2	0	12
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 10. Considera que los productos naturales si son abonados con fertilizantes perjudiquen a los individuos que lo consumen por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	42	28	25	48	30	23	23	30	10	259
<b>De acuerdo</b>	62	51	56	39	56	42	52	26	22	406
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	52	36	47	43	30	31	20	14	18	291
<b>En desacuerdo</b>	9	15	6	7	13	8	5	1	5	69
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	1	11	11	11	8	6	3	2	2	55
<b>Total</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

Tabla 11. Considera que la población debería de tomar mejor conciencia de consumir productos orgánicos certificados comestibles opinión por edad.

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	48	45	40	45	52	24	28	29	20	331
<b>De acuerdo</b>	74	36	66	52	57	56	47	33	30	451
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	32	30	22	30	23	22	17	6	6	188
<b>En desacuerdo</b>	10	20	8	2	4	4	5	2	1	56
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	1	9	8	18	1	4	6	3	0	50
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia



Tabla 12. Al producir alimentos orgánicos certificados se favorecen al desarrollo sustentable opinión por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	47	52	41	43	43	30	24	28	17	325
<b>De acuerdo</b>	62	48	63	69	70	48	46	37	30	473
<b>Ni en cuerdo ni en desacuerdo</b>	43	31	27	30	20	28	17	5	10	211
<b>En desacuerdo</b>	12	8	4	2	4	3	7	0	0	40
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	1	2	10	3	0	1	9	3	0	29
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

encuentran de acuerdo en que conocen los beneficios de los productos orgánicos comestibles, con un rango de edad de 45 a 49 años, teniendo un porcentaje de 49.1%. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 82.437a con asociación .377 y las medidas simétricas son: Phi .276 y V. de Cramer .124

La tabla 6 refiere que solo el 30.0% de los encuestados se encuentran de acuerdo en que conocen los productos orgánicos comestibles que se producen en el estado de Hidalgo, pero al 33.9% no les interesa saber en dónde se producen, asumiendo con un rango predominante de 50 a 54 años de edad con un porcentaje de 52.4%. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 204.928a con asociación .281 y las medidas simétricas son: Phi .436 y V. de Cramer .218

La tabla 7 refleja que del total de los encuestados, el 47.1% se encuentran de acuerdo en que les gustaría tener mayor información de los productos orgánicos comestibles por medios impresos y un rango de edad de 40 a 44 años con el 56.9% que apoya esto. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 82.083a con asociación .036 y las medidas simétricas son: Phi .276 y V. de Cramer .123

La tabla 8 muestra que del total de los encuestados, el 41.7% se encuentran de acuerdo en que les gustaría tener mayor información de los productos orgánicos comestibles por medio de recursos electrónicos y con el 59.2% del ran-

go de 50 a 54 años. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 77.972a con asociación .968 y las medidas simétricas son: Phi .269 y V. de Cramer .134

En la tabla 9 se expresa que del total de los encuestados, el 46.1% están de acuerdo en que la salud de la población mejoraría con el consumo de productos orgánicos comestibles, en su mayoría son de un rango de edad de 60 a 64 años que ocupan el 56.1%. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 55.326a con asociación .141 y las medidas simétricas son: Phi .226 y V. de Cramer .006

En la tabla 10 se explica que del total de los encuestados, solo un 37.6% están de acuerdo en que si los productos naturales son abonados, perjudican a los individuos, la mayoría de estos son de 50 a 54 años de edad con el 50.5%. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 64.024a con asociación .118 y las medidas simétricas son: Phi .436 y V. de Cramer .001

En la tabla 11 se refleja que del total de los encuestados, el 41.8% se encuentran de acuerdo en que la población debería tomar mayor conciencia al consumir productos orgánicos certificados comestibles, en su mayor parte son personas con 60 a 64 años de edad con un 52.6%. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 107.341a con asociación .006 y las medidas simétricas son: Phi .315 y V. de Cramer .129

Tabla 13. Al consumir la población alimentos orgánicos certificados se favorecen al medio ambiente opinión por edad

	Rangos de edades									Total
	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	
<b>Totalmente de acuerdo</b>	59	47	50	46	44	25	22	32	20	345
<b>De acuerdo</b>	63	56	45	62	72	57	57	29	31	472
<b>Ni de acuerdo ni en desacuerdo</b>	30	31	37	30	12	23	16	7	5	191
<b>En desacuerdo</b>	9	5	5	6	6	5	6	0	0	42
<b>Totalmente en desacuerdo</b>	5	2	8	4	3	0	2	5	1	30
<b>Muestra ponderada</b>	<b>166</b>	<b>141</b>	<b>145</b>	<b>148</b>	<b>137</b>	<b>110</b>	<b>103</b>	<b>73</b>	<b>57</b>	<b>1080</b>

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 12 se sostiene que del 100% de los encuestados, el 43.8% respondió que está de acuerdo en que los productos orgánicos certificados comestibles favorecen al desarrollo sustentable, con un 52.6% del rango de edad de 60-64. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 85.770a con asociación .086 y las medidas simétricas son: Phi .282 y V. de Cramer .126

En la tabla 13 se identifica que del 100% de los encuestados, el 43.7% respondió que está de acuerdo en que los productos orgánicos certificados comestibles favorecen al medio ambiente, en su mayoría con un rango de edad de 60-64 años con el 54.4%. En cuanto a chi-cuadrado de Pearson 67.058a con asociación .191 y las medidas simétricas son: Phi .249 y V. de Cramer .125

## Conclusiones

Dando respuesta al objetivo planteado en esta investigación el cual fue “Identificar como intervienen los factores culturales en la compra de productos orgánicos comestibles de la población de 20 a 64 años de edad de 7 municipios del estado de Hidalgo”, se encontró que en cuanto a Conocimiento de certificación, solo el 41.4% de los encuestados están de acuerdo en que los productos orgánicos comestibles deben de contar con un certificado de calidad, mientras que el 41.8%, está de acuerdo en que la población debería tomar mayor conciencia al consumir productos orgánicos certificados comestibles. Por otra parte, los resultados de la producción en Hidalgo muestran que solo el 30.0% de los encuestados conocen los productos orgánicos comestibles que se producen en el estado, mientras que el 33.9% no les interesa saber en dónde se producen; en cuanto a la información en medios de comunicación, un 41.1% de los encuestados conocen los beneficios de los productos orgánicos comestibles, mientras que al 47.1% les gustaría tener mayor información de los productos orgánicos comestibles por medio de impresos y al 41.7% les gustaría tener mayor información de los productos orgánicos comestibles por medio de recursos electrónicos.

En cuanto a los beneficios a la salud, el 46.1% están de acuerdo en que la salud de la población mejoraría con el consumo de productos orgánicos comestibles, sin embargo, el 37.6% están de acuerdo en que si los productos naturales son abonados, estos perjudican a los individuos; además de esto se ha determinado que un 42.1% están de acuerdo en que los productos orgánicos comestibles y los productos orgánicos certificados comestibles, favorecen al medio ambiente.

## Referencias

Berenstein, M. y Jaime, J.M. (2015). El valor de la economía verde y la sustentabilidad. *Forbes*. Obtenido de: [https://www.forbes.com.mx/el-valor-de-la-economia-](https://www.forbes.com.mx/el-valor-de-la-economia-verde-y-la-sustentabilidad/)

- verde-y-la-sustentabilidad/  
El poder del consumidor (2019). *Tianguis y mercados orgánicos*. Obtenido de: <https://elpoderdelconsumidor.org/tianguis-y-mercados-organicos/>
- Hernández, Y., Escorihuela, A. y López, D. (2011). La negociación como herramienta para las estrategias de marketing ecológico. *Centro de Investigación de Ciencias Administrativas y Gerenciales [CICAG]*, 8(2), 64-76. Obtenido de: <file:///C:/Users/Dr.%20Eduardo/Downloads/Dialnet-LaNegociacionComoHerramientaParaLasEstrategiasDeMa-5028120.pdf>
- Kotler, P., Kartajaya, H., y Setiawan, I. (2011). *Marketing 3.0*. Madrid: ESP. LID Editorial. 224p.
- Khare, A., Mukerjee, S., y Goyal, T. (2013). “La influencia social y el marketing verde: Un estudio exploratorio sobre los consumidores indios”, *Journal of Customer Behaviour*, 12(4): 361-381.
- Lorenzo, M. (2002). *Marketing ecológico y sistemas de gestión ambiental*. Universidad de Vigo. España.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). *¿Qué es la agricultura orgánica?* FAO. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/007/ad818s/ad818s03.htm>
- Procuraduría Federal del Consumidor. (2018). *Alimentos orgánicos*. PROFECO. Obtenido de: <https://www.gob.mx/profeco/documentos/alimentos-organicos?state=published>
- Rugel, D; Nicolalde M. y Alava, C. (2015). Plan de Marketing Ecológico para mitigar los impactos ambientales en la Universidad Politécnica Salesiana. *Revista Retos* (9) 55 – 72 Obtenido de: <file:///C:/Users/Dr.%20Eduardo/Downloads/Dialnet-PlanDeMarketingEcologicoParaMitigarLosImpactosAmbi-6119300.pdf>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2016). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Atlas Agroalimentario 2016*. SAGARPA. Obtenido de: [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2016/Atlas-Agroalimentario-2016](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2016/Atlas-Agroalimentario-2016)
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2017). *Producción de alimentos orgánicos, tendencia exitosa para México*. SAGARPA. Obtenido de: <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/produccion-de-alimentos-organicos-tendencia-exitosa-para-mexico?idiom=es>
- Solomon, M. (2013). *Comportamiento del consumidor*. CDMX, MX. Edit Pearson. 640p.
- Solleiro J.L. y Mejía, O. (2016) La agricultura orgánica en México y sus retos de innovación. *Revista TecnoAgro* . Obtenido de: <https://tecnoagro.com.mx/revista/2016/no-112/la-agricultura-organica-en-mexico-y-sus-retos-de-innovacion/>