7 ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORES 2019

IDEAS JÓVENES PARA IMPULSAR EL CRECIMIENTO DEL PAÍS

CONCYTEQ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Octubre 2019

Universidad Autónoma de Querétaro
Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Rectora

Dra. Teresa García Besné
Secretaria de Extensión Universitaria
Dr. Aurelio Domínguez González
Secretario Académico
Lic. Verónica Nuñez Perusquía
Secretaria de la Rectoría
Mtro. Luis Alberto Fernández García
Secretaria Particular de la Rectoría
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado
Mtra. Karina Villarauz Camargo
Coordinadora de Difusión y Enlace de Investigación y Posgrado

Mtra. Maura Jarubi Chávez López
Diseño

Mtra. Maura Jarubi Chávez López
Mtra. Karina Villarauz Camargo
Comité editorial

Dra. Azucena de la Concepción Ochoa Cervantes
Dra. Tércia Cesária Réis de Souza
Dr. Alberto de Jesús Pastrana Palma
Comité organizador

Publicación especial No.7 de la Dirección de Investigación y Posgrado
Universidad Autónoma de Querétaro
Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n
Código Postal 76010, Querétaro, Qro., México
Primera edición, noviembre de 2016
Hecho en México

PRESENTACIÓN

La Universidad Autónoma de Querétaro, tiene el compromiso de formar estudiantes competitivos y con habilidades que les permitan consolidar su formación como futuros investigadores. Los directivos, profesores e investigadores de las distintas instituciones de educación superior del Estado de Querétaro, incentivan la formación y desarrollo de competencias en los jóvenes que difundirán y divulgarán conocimiento en su transitar a través de la sociedad.

El foro académico denominado **"Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Querétaro",** se crea como estrategia para formar recursos humanos de alta calidad en diversas áreas de investigación. Es así que, los proyectos que desarrollan estudiantes de licenciatura durante estancias de verano o proyectos de tesis, son expuestos ante un comité científico especializado en el tema y al "publico" general; con el fin de estimular la vocación científica, la innovación y la transferencia de conocimiento entre distintas instituciones.

El 7º Encuentro de Jóvenes Investigadores contó con la asistencia y participación de 160 personas; entre las que se encontraban 84 ponentes pertenecientes a cuatro diferentes instituciones de Querétaro, 27 investigadores que integraron al Comité Científico (50) y al Jurado (27), quienes se encargaron de evaluar trabajos escritos y orales. Los trabajos escritos se evaluaron con base en: objetivos, claridad, coherencia, antecedentes, metodología, presentación de resultados y conclusiones presentadas. En los trabajos orales se evaluó: el dominio del tema, coherencia y fuerza argumentativa, expresión oral adecuada y calidad de la presentación. Los ganadores de las diferentes áreas del conocimiento fueron aquellos que obtuvieron la calificación más alta en el trabajo *in extenso* y la presentación oral. Los trabajos expuestos se encuentran en la presente memoria, la cual, respeta el estilo y redacción de los trabajos.

Cabe mencionar que con el apoyo de las trece Facultades y el Colegio de Bachilleres de la Universidad Autónoma de Querétaro, se logró realizar el 7° Encuentro de Jóvenes Investigadores, cuya finalidad es seguir generando eventos que sirvan de foro para el intercambio y evaluación de la investigación que desarrollan los jóvenes. También reafirma el compromiso social que tienen las instituciones e investigadores como gestores de generar espacio que fortalezca la inquietud de los jóvenes en su formación como investigadores, punto clave para el desarrollo científico y tecnológico que requiere la complejidad social de nuestro país. También agradecemos al CONCYTEQ por su participación en este Encuentro.

"Educo en la verdad y en el honor"
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

ÍNDICE

Área I: Físico Matemáticas y Ciencias de la Tierra	7
Área II: Biología y Química	47
Área III: Medicina y Salud	141
Área IV: Biotecnología y Agropecuarias	232
Área V: Ingeniería e Industria	355
Área VI: Humanidades, Psicología y Educación	411
Área VII: Sociales y Económicas	561

AGRADECIMIENTOS

COMITÉ CIENTÍFICO

Dr. Aldo Amaro Reyes	Facultad de Química, UAQ
Dr. Arturo González Gutiérrez	Facultad de Informática, UAQ
Dr. José Gabriel Ríos Moreno	Facultad de Ingeniería, UAQ
M. en C. Fabiola Hernández Hernández	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Gabriel Corral Velázquez	Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, UAQ
Dr. Gerardo Manuel Nava Morales	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dr. Héctor Raymundo Vera Ávila	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dr. José Luis Reyes Araiza	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Juan José Lara Ovando	Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, UAQ
Dr. Mario Trejo Perea	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Alondra Anahí Ortíz Verdín	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Ricardo Francisco Mercado Curiel	Facultad de Medicina, UAQ
Dr. Pablo García Solís	Facultad de Medicina, UAQ
Dr. Andrés Déctor Espinoza	Universidad Tecnológica de San Juan del Río
Dra. Alejandra E. Urbiola Solís	Facultad de Contaduría y Administración, UAQ
Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Araceli Aguilera Barreyro	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dra. Denise Gómez Hernández	Facultad de Contaduría y Administración, UAQ
Dra. Diana Beatriz Rangel Peniche	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dra. Donna Jackson Maldonado	Facultad de Lenguas y letras, UAQ
Dra. Elsa Cristina Navarrete Ochoa	Facultad de Bellas Artes, UAQ
Dra. Ester Bautista Botello	Facultad de Lenguas y Letras, UAQ
Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda	Facultad de Medicina, UAQ
Dra. Janet Ledesma García	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Juana Isela Rojas Molina	Facultad de Química, UAQ
Dra. María Carlota García Gutiérrez	Facultad de Medicina, UAQ
Dra. María del Carmen Gpe Díaz Mejía	Facultad de Psicología, UAQ
Dra. Hilda Romero Zepeda	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Oliva Solís Hernández	Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, UAQ
Dra. Pamela Garbus	Facultad de Psicología, UAQ
Dra. Rosario Barba González	Facultad de Lenguas y Letras, UAQ
Dra. Mónica Sanaphre Villanueva	Facultad de Lenguas y letras UAQ
Dra. Valeria A. Belloro	Facultad de Lenguas y letras, UAQ
Dr. José Salvador Arellano	Facultad de Filosofía, UAQ
M.C. Alicia Prieto Uscanga	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dra. Blanca Yasmín Montúfar Corona	Facultad de Psicología, UAQ
Dr. Enrique Leonardo Kato Vidal	Facultad de Contaduría y Administración, UAQ
Dra. Ma. Luisa Leal García	Facultad de Enfermería, UAQ
Dra. Sandra Luz Guerrero Ramírez	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Carmen Imelda González Gómez	Facultad de Ciencias Políticas y Sociales, UAQ
Dr. Juan Alberto Pichardo Hernandez	Facultad de Derecho, UAQ
Dr. José Guadalupe Gómez Soto	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dr. Reynaldo Hernández Maldonado	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Tércia Cesária Réis de Souza	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dra. Rosa Martha Pérez Serrano	Facultad de Medicina, UAQ
Dra. Sandra Luz Canchola Magdaleno	Facultad de Informática, UAQ

Dr. Arturo Toscano Giles	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dra. Ma. Teresa de Jesús Gómez Lemus	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dra. Esparza Rodríguez Morales	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dra. Teresa López Lara	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Juan Bosco Hernández García	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Eduardo Enrique Pérez Ramírez	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dr. Rufino Nava Mendoza	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Andrea Margarita Olvera Ramírez	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dr. Alberto de Jesús Pastrana Palma	Facultad de Contaduría y Administración, UAQ
Dr. Felipe Alejandro Hernández García	Universidad Politécnica de Querétaro
Dra. María de la Luz Reyes Vega	Dirección de Investigación y Posgrado
Dr. Raúl Ramírez López	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dra. Diana Amaya Cruz	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Azucena de Concepción Ochoa Cervantes	Facultad de Psicología, UAQ
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña	Facultad de Química, UAQ
Dra. María del Carmen Mejía Vázquez	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dr. Julián V. Reyes López	Facultad de Medicina, UAQ

STAFF DE APOYO

Dirección de Investigación y Posgrado

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Dra. Azucena de Concepción Ochoa Cervantes
Dra. Tércia Cesária Réis de Sousa
Dra. María de la Luz Santillán Guardiola
Dra. Alberto Pastrana Palma
María Aurora Martínez Álvarez
Rosa María Lujan Rico
Rocío Martínez Guardiola
Magda Mancebo del Castillo Trejo
Lidia Cabrera Olvera
Mariana Pérez Espinosa
Maria de la Luz Reyes Vega
Karina Villarauz Camargo
Maura Jarubi Chávez López

7 ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORES 2019

IDEAS JÓVENES PARA IMPULSAR EL CRECIMIENTO DEL PAÍS

I

Física, Matemática y Ciencias de la Tierra

CONCYTEQ

Índice

Desarrollo de animaciones para el entendimiento de fenómenos físicos
Mónica Noelia Castillo Santos, Alberto Hernández Almada

Identificación del alfabeto manual de la Lengua de Señas Mexicana utilizando Tensorflow y Transfer learning
Jaime Rodrigo González Rodríguez, Roberto Cruz Lozano, Sandra Luz Canchola Magdaleno, Ma. Teresa García Ramírez

Cálculo Ab-Initio de Propiedades Electrónicas de Nanocristales de InP
Diego Paul Gutiérrez González, Ma. Lucero Gómez Herrera, Daniel Olguín-Melo, Julio G. Méndoza-Álvarez

Análisis del modelo ωCDM como sistema dinámico
Leopoldo Herrera Zamorano, Alberto Hernández Almada

Estudio de dinámica de espín en materiales ferromagnéticos desde primeros principios
Marco Antonio Olguín Sánchez, José Alonso López Miranda

El Universo en la TV: Antenas Satelitales como Radiotelescopios
Naela Berenice Razo López, Julieta Díaz Azúa, Rocío Salas Medina, Kevin Uriel Solís Becerril, Aldrin Meliton Cervantes Contreras

Desarrollo de animaciones para el entendimiento de fenómenos físicos.

M. Castillo-Santos *, A. Hernández-Almada**

Abstract

Motivated by the problems that exist at upper secondary level and first upper level stages of engineering degrees and basic sciences such as physics, mathematics and chemestry, which is the lack of interest from the students in the areas already mentioned, and based on the programming languaje Python, we developed some animations that show the evolution of the physics phenomena just as freefall and parabolic shot. The general results are the bases for a possible interactive platform that will allow teachers to improve their pedagogical methods and also show their students the animations in class so the students can arouse their curiosity for basic sciences which will be traslated as technological and science development.

Key words: Physical phenomena, pedagogical methods, basic sciences.

Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de Querétaro
Centro Universitario: Cerro de las Campanas 76010
Querétaro, México
*mcastillo26@alumnos.uaq.mx
** ahalmada@uaq.mx

Resumen

Motivados por la problemática que se tiene a nivel medio superior y primeras etapas de nivel superior de las carreras de ingeniería y ciencias básicas tales como física, química y matemáticas, la cual es la falta de interés por parte de los alumnos en dichas áreas, y apoyados en el lenguaje de programación Python, se desarrolló una serie de animaciones que muestran la evolución de fenómenos físicos tales como caída libre y tiro parabólico. Como resultado general se tienen las bases para una posible plataforma interactiva que permita a los docentes mejorar sus métodos pedagógicos e implementar las animaciones antes mencionadas en sus clases y los alumnos puedan despertar su curiosidad por las ciencias básica, lo cual se traduciría en avance en científico y tecnológico.

Palabras clave: Fenómenos físicos, métodos pedagógicos, ciencias básicas.

Introducción

Uno de los principales problemas en México es que el número de estudiantes con interés por la ciencia y la tecnología es bajo, según cifras del INEGI, en 2015 solo el 51.7% de los estudiantes mexicanos tenía un cierto interés en el área físico-matemática, mientras que en 2017 las estadísticas mostraron que este interés se redujo al 47.3% [1]. Por otro lado, según el periódico virtual INFOBAE, los estudiantes egresados de alguna de las 32 ramas de Ingeniería representan el 19.04% comparados solo con los egresados de algunas de las ramas de la Psicología [2].

Esta falta de interés por las ciencias de parte de los alumnos de educación básica según lo expresado por el autor Fernando Flores Camacho en su libro "La enseñanza de la ciencia en la educación básica en México", se debe a que en las escuelas primarias y secundarias del país se tiene un promedio de entre 24 y 32 horas mensuales dedicadas a la enseñanza de la ciencia en tales como Biología, Física, Matemáticas y Química, lo cual no permite al alumno despertar su curiosidad e interés por

cualquiera de las ramas de estas ciencias. La segunda parte de esta problemática es la forma en la que los docentes imparten las clases, pues carecen de perspectiva, ya que las preguntas y respuestas planteadas a lo largo de una clase dependen completamente del punto de vista del docente, por lo que los temas no se explican con claridad y mucho menos se pone énfasis en que el alumno realmente este entendiendo lo que se quiere comunicar [3].

Está comprobado que existe una relación directa entre el número de artículos científicos que se publican en un país y su desarrollo económico, y esto está vinculado directamente al tipo de educación que se imparte en las aulas de éstos países, un claro ejemplo es Estados Unidos de América, país que tiene un alto desarrollo científico, pues en 2015 se obtuvieron 355.000 publicaciones científicas, y en las escuelas de este país se motiva a la creación de experimentos científicos y a la innovación en cuanto a tecnología.

Cinemática

El origen de la cinemática viene de la astronomía antigua, con astrónomos como Galileo Galilei observaba los movimientos de esferas en planos inclinados y caída libre para entender el movimiento de los objetos celestes, para después brindarle las bases a Isaac Newton para formular sus tres leyes del movimiento.

La cinemática es la rama de la mecánica que explica el movimiento de los objetos en el espacio y en el tiempo, sin importar las causas que lo producen, ya que se necesita de tres elementos básicos: espacio, tiempo y una partícula que se desplace, y toma en cuenta solo su trayectoria. Se hace uso de una ecuación general (ecuación 1), la cual puede modelar los siguientes fenómenos:

- Movimiento rectilíneo uniforme.
- Movimiento rectilíneo uniformemente acelerado.
- Movimiento armónico simple.
- Tiro parabólico.
- Movimiento circular uniforme.
- Movimiento circular uniformemente acelerado.
- Movimiento armónico complejo. [4]

$$x_f = x_0 + v_o t + \frac{1}{2} a t^2 \qquad \textit{(1)}$$

Donde:
x_f es la posición de la partícula.
x_0 es la posición inicial de la partícula.
v_o es la velocidad inicial de la partícula.
a la aceleración que experimenta la partícula.
t es el tiempo transcurrido.

Objetivo

Desarrollar animaciones de fenómenos físicos que permitan a los docentes implementar métodos dinámicos para la enseñanza de las ciencias básicas tales como química, matemáticas y física, con lo cual se pretende despertar el interés por las ciencias antes mencionadas en las generaciones que cursan la preparatoria, para que en un futuro consideren las carreras de ingeniería y ciencias básicas como su vocación, así como brindar al docente y al alumno una herramienta que permita comparar la teoría aprendida en clase con el comportamiento real del fenómeno.

Además, se espera introducir los lenguajes de programación como un método confiable y económico para replicar experimentos y poder predecir comportamientos que representen un gran costo en trabajos de laboratorio.

Por último, se planea que las y sus códigos puedan convertirse en un manual, el cual sirva como material de apoyo para poder usarlo en los primeros semestres de las carreras de ingeniería, para que se impulse el desarrollo de la programación científica.

Metodología

Materiales

- Computadora.

Materiales complementarios

- Python (El cual actúa como apoyo virtual).
- VPython (Módulo de Python sobre el cual se realizan las animaciones).

Métodos

Basados en las leyes de la cinemática desarrollamos la simulación de tres de los fenómenos que son analizados en educación media superior y primeras etapas de las carreras de ingeniería, las cuales son tiro parabólico y caída libre, a continuación, se hará el análisis de los métodos usados en cada uno de los fenómenos antes mencionados.

Tiro parabólico

Es un movimiento en dos dimensiones, un movimiento rectilíneo uniforme en el eje horizontal (eje x), y un movimiento uniformemente acelerado en el eje vertical (eje y) y el cual resulta en una trayectoria en forma de parábola.

En las figuras que se muestran a continuación podemos observar la evolución del fenómeno, es decir como la posición de la bola varía con el tiempo.

Para este caso se hizo uso de la ecuación:

$$x_f = v_o t + \frac{1}{2} g t^2 \qquad (2)$$

Donde:
g es la gravedad.

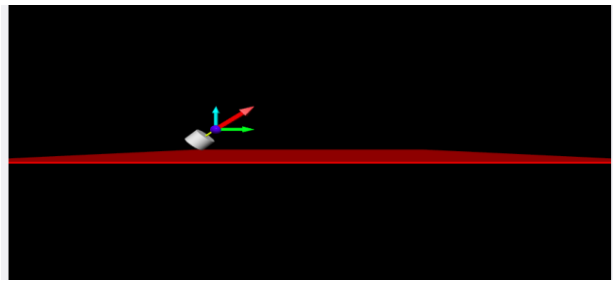


Figura 1. El objeto sale con una velocidad inicial, la flecha verde representa la dirección en **x** *(el movimiento hacia adelante), la flecha azul es la velocidad en la dirección en* **y** *(el movimiento hacia arriba), mientras que la flecha roja representa el movimiento real (la velocidad de la trayectoria.)*

En la figura 1, vemos como la bola sale disparada del proyectil, marcando con una flecha verde la velocidad en dirección ***x***, con una flecha azul la velocidad en dirección ***y*** y en rojo la velocidad resultante del movimiento, es decir, la velocidad real con la que se mueve la bola.

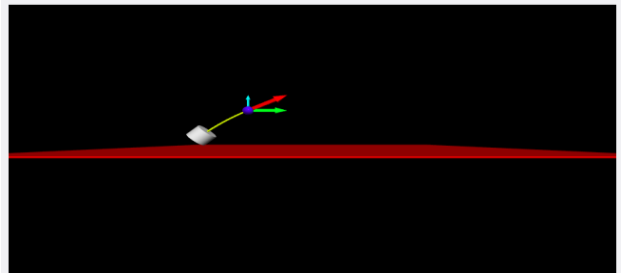
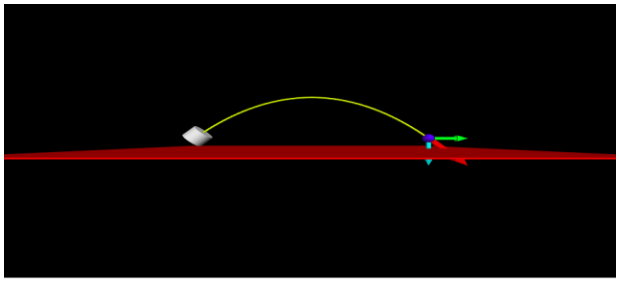


Figura 2. Representación de la forma de moverse del objeto después de que ha pasado cierto tiempo. Se empiezan a ver efectos en las velocidades, debido a las características del movimiento.

En la figura 2 podemos observar como la velocidad en ***y*** va disminuyendo debido al efecto de la gravedad, que hace que el objeto pierda velocidad,



pero la velocidad en ***x*** permanece constante.

Figura 3. Final de movimiento, en la imagen se puede apreciar la posición final del objeto, además de la trayectoria de éste, la cual es trazada por una línea.

En la figura 3, podemos apreciar el final del movimiento, teniendo en cuenta que el ángulo con que se lanzó el proyectil es el mismo con el que llega al suelo, también podemos ver la trayectoria total del movimiento, que está marcada por la línea amarilla, así como la dirección final de las velocidades en cada una de las direcciones.

Caída libre

Es un movimiento uniformemente acelerado, en este caso la aceleración es la gravedad ***g***, donde un objeto cae desde una altura ***h*** sin tomar en cuenta cualquier rozamiento que pueda tener con el aire u otro obstáculo que pudiera presentarse El movimiento que se realiza es en una sola dimensión, en este caso el eje y, que corresponde a la dirección vertical. La ecuación utilizada en este caso es:

$$y = h - \frac{1}{2} g t^2 \qquad (3)$$

Donde:
y es la posición final de la partícula.
h es la altura a la que se encuentra la partícula.
g es la gravedad.
t es el tiempo que ha transcurrido.

En este caso la gravedad es negativa, pues esta actúa en dirección contraria al movimiento, en seguida veremos como el movimiento varía con el tiempo.

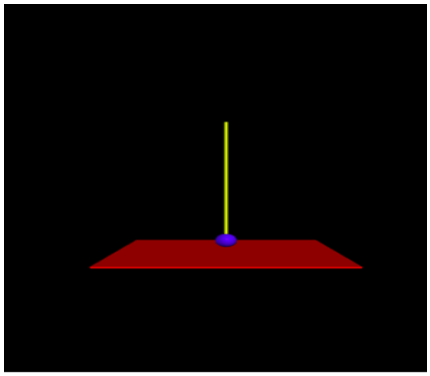


Figura 4. Final de movimiento, en la imagen se puede apreciar la posición final del objeto, además de la trayectoria de éste, la cual es trazada por una línea.

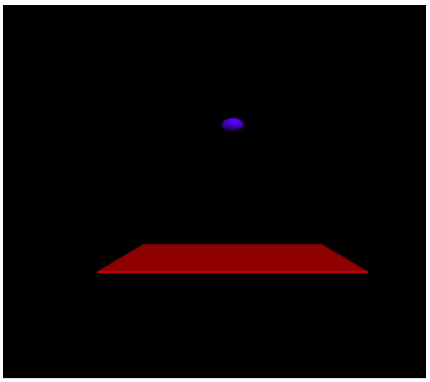


Figura 5. Condiciones iniciales (punto inicial desde done el objeto comenzará a moverse).

Adicionalmente se agrego una gráfica que muestra como es que se comporta la velocidad ***v*** con respecto al tiempo ***t***.

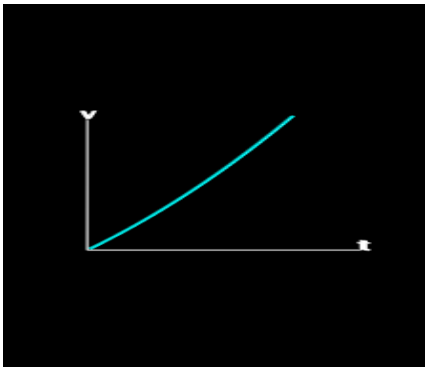


Figura 6. Gráfica variación velocidad vs tiempo.

Las simulaciones de los fenómenos físicos permiten al alumno explorar de una manera fácil y concreta como es que se lleva a cabo el movimiento, pues se pueden varias las condiciones iniciales tales como velocidad inicial, ángulo con el cual sale disparado y altura de la cual se deja caer el objeto con widgets (deslizadores y menús) que fueron agregados a las animaciones, lo que las convierte en una manera didáctica de interactuar y familiarizarse con la parte experimental de la física.

Resultados

Después de la creación de las simulaciones antes mencionadas, se obtuvo como resultado dos animaciones que permiten tanto al docente como al estudiante analizar de forma detallada, crítica y sencilla los fenómenos físicos, ya que, con la evolución del sistema, esta va dejando un rastro de cómo es la forma que toma el sistema conforme pasa el tiempo, además de que nos muestra hacia donde se dirigen las fuerzas y como es que aumentan o disminuyen.

Es importante también que los alumnos puedan observar la variación del movimiento cuando se modifican las condiciones iniciales, se agregaron botones, deslizadores y menús que permiten cambiar las condiciones iniciales de forma sencilla, lo que hace que se vuelvan didácticas y los alumnos despierten su curiosidad por las ciencias básicas y las ingenierías.

Tomando en cuenta que los docentes de educación media superior y algunos de educación superior no cuentan con los conocimientos de programación necesarios para manipular los códigos, así como que las simulaciones sean de fácil acceso para los alumnos, se pretende realizar una página web, la cual incluirá también la teoría de cada una de los fenómenos físicos. Para lograr esto, se requiere apoyo tanto económico, como de alumnos de otras áreas tales como psicología e ingeniería en software.

A continuación, se muestra el resultado final obtenido.

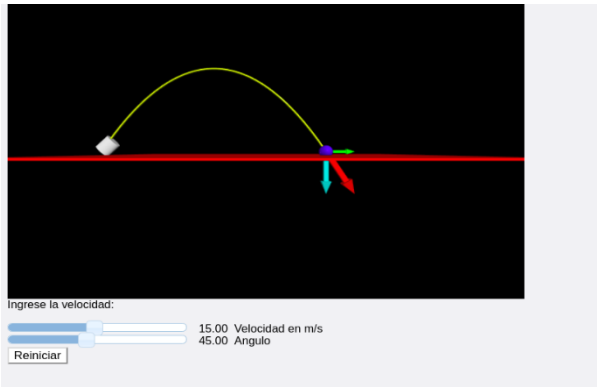


Figura 7. Resultado final tiro parabólico.



Figura 8. Resultado final caída libre.

En las figuras 7 y 8 podemos ver los widgets que se agregaron a las animaciones con el objetivo de facilitar su comprensión y manipulación, además de que la simulación se podrá reiniciar las veces que el usuario desee con las condiciones iniciales de su preferencia.

Conclusiones

En la actualidad la tendencia de la educación es que se base en aprendizajes mixtos, es decir, que los alumnos aprendan tanto de fenómenos reales como de dispositivos electrónicos, como son la computadoras, celulares y tabletas electrónicas, es por eso que es de suma importancia digitalizar los fenómenos físicos, con la finalidad de facilitar al docente la explicación de la teoría impartida en clase, y que con las tecnologías de la información y comunicación (TIC's), que representan un herramienta útil para su aprendizaje y buen desempeño escolar, se complemente este conocimiento para que el alumno pueda observar de manera concisa lo aprendido en clase y así el aprendizaje sea significativo.

Por último, es de suma importancia que los alumnos de educación media superior consideren las ingenierías y carreras científicas como su futuro, pues esto permitirá al país avanzar en economía.

Agradecimientos

A la universidad Autónoma de Querétaro y al CONCYTEQ, por la oportunidad de participar en este proyecto, así como por el apoyo otorgado para la realización de esta estancia de verano.
Al doctor Alberto Hernández Almada, por el apoyo brindado a lo largo de este proyecto.

Referencias

[1] INEGI. (2017). Percepción sobre ciencia y tecnología. México. Extraído de: http://www.beta.inegi.org.mx/temas/pecyt/

[2] Fernández M. (24/ Enero/2018). INFOBAE: Egresan 8 mil ingenieros frente a 34 mil de psicología. México. Extraído de: https://www.infobae.com/educacion/2018/01/24/psicologos-y-abogados-pero-no-ingenieros-en-algunas-disciplinas-clave-se-reciben-menos-de-25-alumnos/

[3] Flores-Camacho, Fernando (Coord.) (2012). La enseñanza de la ciencia en la educación básica en México. México: INEE.

[4] Vásquez M. (2007). Cinemática. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Extraído de: https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa2/n2/m5.html

IDENTIFICACIÓN DEL ALFABETO MANUAL DE LA LENGUA DE SEÑAS MEXICANA UTILIZANDO TENSORFLOW Y TRANSFER LEARNING

Jaime Rodrigo González Rodríguez. Universidad Autónoma de Querétaro. jgonzalez87@alumnos.uaq.mx
Roberto Cruz Lozano. Universidad Autónoma de Querétaro. robertocruzlozano97@hotmail.com
Sandra Luz Canchola Magdaleno. Universidad Autónoma de Querétaro. sandra.canchola@uaq.mx
Ma. Teresa García Ramírez. Universidad Autónoma de Querétaro. teregar@uaq.mx

RESUMEN
El reconocimiento de patrones es uno de los problemas computacionales más complejos que existen en la actualidad, y dentro de esta categoría podemos encontrar el reconocimiento del alfabeto manual de la ***Lengua de Señas Mexicana*** (LSM). Para poder lograr solucionar este problema debemos innovar en las técnicas conocidas y utilizar nuevas herramientas que estén a nuestro alcance como lo es ***TensorFlow***, el cual, combinándolo con la técnica de ***Transfer learning*** nos permite realizar un entrenamiento satisfactorio, con una cantidad muy limitada de muestras, del modelo de ***red neuronal*** "SSD-MobileNet-V1" para la identificación de las señas de LSM en tiempo real, y gracias a la arquitectura que emplea y la optimización de capas, nos abre la posibilidad de implementarlo en plataformas WEB, móviles y embebidas.

ABSTRACT
Pattern recognition is one of the most complex computational problems that exist today, and within this category, we can find the recognition of the manual alphabet of the ***Mexican Sign Language*** (MSL). To be able to solve this problem we must innovate in the know techniques and use new tools that are within our reach such as ***TensorFlow***, which, combining it with the ***Transfer learning*** technique, allow us to perform a satisfactory training, with a very limited amount of samples, of the ***neural network*** model "SSD-MobilNet-V1" for the identification of MSL signals in real-time, and thanks to the architecture that it employs and the optimization of layers, it opens the possibility of implementing it on WEB, mobile and embedded platforms.

INTRODUCCIÓN
Las máquinas que el hombre crea buscan imitar el comportamiento de nuestros cerebros, pero esto implica resolver algunos de los problemas computacionales más complejos que existen, como lo es, el reconocimiento de patrones en tiempo real. La identificación de la Lengua de Señas Mexicana es un problema que está presente dentro de esta categoría, pero al cual, no se ha dado una solución totalmente satisfactoria. Las técnicas utilizadas para tratar de solucionar este problema parten de las formas tradicionales de procesamiento de imágenes dejando a un lado las nuevas herramientas que se han desarrollado en estos últimos años, como lo es, TensorFlow. Esta API nos da las funciones necesarias para poder aplicar técnicas modernas en el desarrollo y entrenamiento de modelos de redes neuronales, los cuales, a través del entrenamiento supervisado, son una gran opción para solucionar el problema de reconocimiento de patrones con la posibilidad de implementarlo en plataformas web, móviles y embebidas.

OBJETIVO
Entrenar una red neuronal para lograr identificar satisfactoriamente la Lengua de Señas Mexicana en tiempo real a través de la técnica "Transfer Learning" y el uso de la API de "TensorFlow".

MARCO TEÓRICO
La definición del primer modelo de una neurona artificial no es algo reciente. La primera vez que se dio un planteamiento fue en 1943 por McCulloch (neurocientífico) y Walter Pitts (Lógico), el cual intentaba explicar, de manera matemática, el comportamiento de nuestro sistema nervioso, a partir de un conjunto de elementos primitivos de cómputo, que son abstracciones de las propiedades de las neuronas y de sus conexiones, con base en el conocimiento fisiológico y psicológico que se tenían de ellas en esa época. (Prieto, R. 2001), ver

figura 1. Más adelante en 1950, Frank Rosenblatt, propuso una versión mejorada basando en el modelo MuColloch-Pitts, llamado "Perceptrón", el cual, dentro de machine learning es un algoritmo de ***supervised-learning*** para problemas de clasificación binaria, ver figura 2.



Fig. 1. Diagrama del modelo neuronal de MuCulloch-Pitts 1943. Elaboración propia 2019.

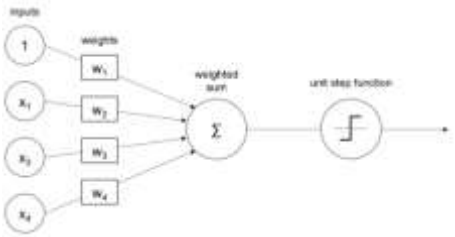


Fig. 2. Diagrama del modelo neuronal de Rosenblatt mejor conocido como "Perceptrón" .https://www.oreilly.com/library/view/deep-learning-for/9781788295628/33d24719-7e83-41c1-983e-59310eacdd50.xhtml

La limitación más importante de este modelo fue la posibilidad de solo aplicarlos a problemas de regresión lineal o de clasificación binaria reduciendo los posibles campos de aplicación. Un ejemplo de esta limitación es la resolución del problema lógico XOR, el cual la única forma de resolverlo era conectando más de una neurona dando paso a una *red neuronal, ver figura 3,* permitiendo así el planteamiento de modelos matemáticos que con *funciones de activación no lineales* permitían una clasificación satisfactoria y más semejante a los problemas del mundo cotidiano. Gracias a la capacidad de resolución de problemas que tienen las rede neuronales se convirtió en una de las técnicas fundamentales dentro de la ***Inteligencia artificial*** (IA). "Podemos determinar que cuando en un problema específico no se puede programar un algoritmo que resuelva todos los casos que se presentan es necesario la implementación de una red neuronal". (Sossa, 2019).

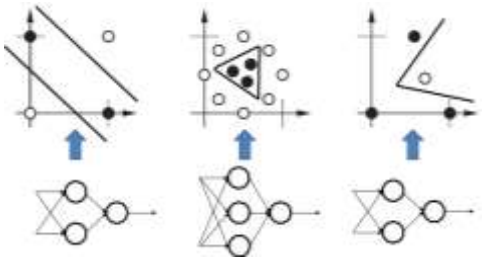


Fig. 3. Representación de una red neuronal. Sossa, Humberto 2019.

La inteligencia es fundamental para los seres humanos, ya que nos ha permitido manejar, entender, predecir y manipular este mundo. El campo IA no se limita en solo entender ¿cómo es que pensamos? si no también en lograr crear entes inteligentes. Podemos definir la IA como "El arte de crear máquinas que realizan funciones que requieren inteligencia cuando son realizadas por personas." (Kurzweil, 1990), dentro de este campo de estudio podemos encontrar distintos enfoques como lo son, la robótica, procesamiento del lenguaje natural (P.L.N), procesamiento de voz y visión computacional. Para lograr estos objetivos, a través del tiempo, se han desarrollado distintas técnicas como lo es ***machine learning*** (ML), que nos permite formar *redes neuronales*, la cuales de manera automática se ajustan, aprendiendo de los distintos casos con los que fue entrenada, para dar como resultado un modelo que representa la solución de un problema definido. Ver figura 4.

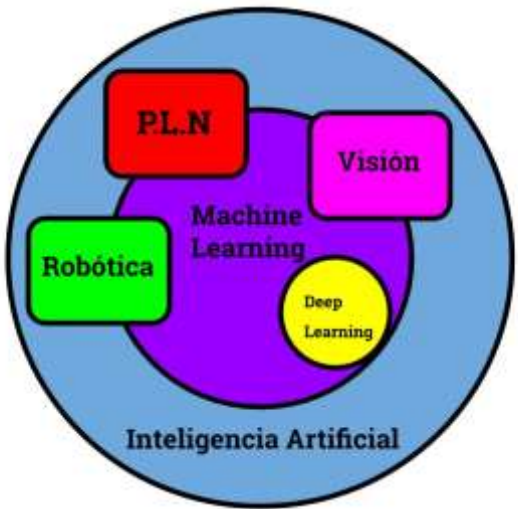


Fig. 4. Enfoques y técnicas de la inteligencia artificial. Elaboración propia 2019.

Podemos definir ML como "...el área de estudio que da a las computadoras la habilidad de aprender sin la necesidad de ser explícitamente programadas".

(Samuel, A. 1959). En los últimos años, la tendencia por aplicar ML ha ido en aumento debido a las grandes ventajas que nos permite obtener esta técnica de IA, "ha tenido grandes avances en distintas áreas, y podemos atribuir esto a la invención de modelos cada vez más sofisticados de machine learning". (Abadi, M. et al. 2016). El simple hecho de lograr que una máquina pueda aprender dependiendo de las entradas que recibe y la salida que debe obtener es simplemente sorprendente y debido a este auge ha dado paso al desarrollo de herramientas que facilitan la entrada a este mundo a investigadores, desarrolladores y estudiantes.

Tensorflow es una plataforma open source para machine learning. Tiene un ecosistema de herramientas comprensible y flexible, librerías y recursos en su gran comunidad que permite a los investigadores desarrollar en el estado del arte ML y a los desarrolladores crear y desplegar fácilmente aplicaciones, "... es el sucesor de DIstBelief, el cual es el sistema distribuido para el entrenamiento de redes neuronales que Google había utilizado desde 2011". (Dean, J. 2012). Gracias a TensorFlow el diseño, entrenamiento y despliegue de modelos de redes neuronales a producción, ver se realiza de una manera muy amigable además de la gran escalabilidad de implementarlo dependiendo del hardware disponible, por ejemplo, el hecho de que existen distintas versiones como, TensorFlow-CPU, TensorFlow-GPU, TensorFlow.js, etc. Ver figura 5.

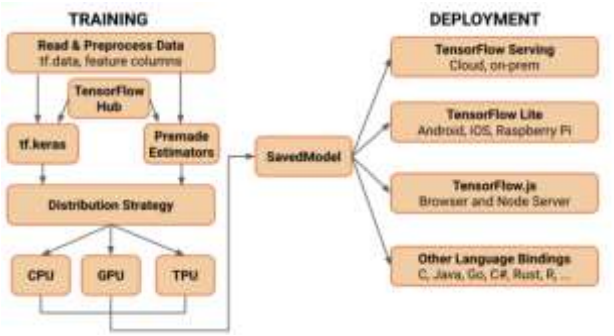


Fig. 5. Arquitectura de TensorFlow 2.0. https://medium.com/tensorflow/whats-coming-in-tensorflow-2-0-d3663832e9b8

El hecho de que la comunidad de TensorFlow crece día con día, nos permite asegurar su soporte y documentación dando pie al desarrollo de más proyectos utilizando esta plataforma. Gracias al soporte que se le da, podemos tener acceso a distintos modelos *pre-entrenados* de los cuales, dependiendo del problema a resolver, o en nuestro caso lograr identificar el alfabeto manual del LSM, podemos aplicar la técnica de *Transfer Learning* que es, "... la mejora del aprendizaje de una nueva tarea a través de la transferencia del conocimiento de una tarea relacionada que ya se ha aprendido". (Torrey, L. y Shavlik, J. 2010). Esto nos da distintas ventajas al momento de entrenar una red neuronal, podemos destacar cuatro, se tiene un conocimiento previo desde donde inicia el reentrenamiento, la cantidad de muestras para entrenar se reducen considerablemente, se reduce los tiempos de entrenamiento y el "perfomance" de la red neuronal aumenta considerablemente. Debido a esto y a los recursos con los que se contaban al inicio de la investigación se consideró como la opción más factible para lograr entrenar una red neuronal que identificaría el alfabeto manual de LSM de manera satisfactoria.

METODOLOGÍA

El primer obstáculo con el que nos enfrentamos fue el no tener la materia prima con la que íbamos a entrenar nuestro modelo, las imágenes de las señas del alfabeto manual, por lo que tuvimos que generar nuestra propia *dataset* con la cantidad suficiente de muestras para poder realizar un entrenamiento satisfactorio. Se recolectaron distintas muestras con distintas personas con el objetivo de obtener la mayor cantidad de variantes posibles, de esta manera el modelo sería entrenado de una forma más "general" por lo que el reconocimiento de las distintas señas podría realizarse con distintas personas y en distintos entornos. Cada imagen fue etiquetada de manera manual para poder generar los archivos necesarios para el entrenamiento de nuestro modelo. Se reentrenó el modelo SSD-MobileNet-V1 el cual está optimizado para su despliegue en dispositivos móviles, sistemas embebidos y plataformas WEB para que de esta forma el producto desarrollado, en un futuro, sea desplegado en la mayor cantidad de plataformas posibles.

Manos que hablan

La "materia prima" de todo el proyecto eran imágenes, en internet podemos encontrar distintas fuentes de datasets con la cantidad suficiente de muestras para realizar un entrenamiento de un modelo de red neuronal, pero debido a lo específico del problema no se encontró ninguna fuente de donde se pudiesen obtener estas muestras. Debido a esto nos dimos a la tarea de recolectar nuestras propias imágenes, que a su vez daban pie al inicio de una dataset con las señas estáticas del alfabeto manual de LSM para investigaciones posteriores. Las imágenes recolectadas fueron de distintos voluntarios en distintos entornos para que de esta forma se generarán la mayor cantidad de variantes entre seña y seña, para que al momento de entrenar nuestro modelo fuese de una manera "general" permitiendo su uso a cualquier persona en cualquier entorno. Ver figura 6.



Fig. 6. Pasos generales del proyecto. Elaboración propia 2019.

Preprocesamiento de los datos

Para poder generar un dataset útil se tenía que realizar distintos procedimientos a las imágenes con las cuales trabajaríamos. Se verificó imagen por imagen para determinar a qué clase de nuestro clasificador pertenecía, en este caso manejamos 27 categorías (A-Z), se determinó la calidad de la imagen con una regla muy sencilla, si en dos segundos o menos no se identificaba la seña a la que pertenecía, es muy probable que el modelo no la identificaría. También, las imágenes fueron redimensionadas para reducir la cantidad de memoria de almacenamiento y la memoria gráfica utilizada durante el entrenamiento del modelo con tarjetas de video gracias a TensorFlow-GPU, las imágenes pasaban de un tamaño original de 1420*2800 a 800*600 pixeles de resolución. Los scripts se desarrollaron con Python y son parte del entregable del proyecto.

Etiquetado de las imágenes

El etiquetado de las muestras es una parte fundamental en el preprocesamiento de datos, se debe realizar manualmente para identificar cada una de las clases que aparecen en cada una de nuestras imágenes, para desarrollar esta tarea existen distintas herramientas para llevarlo a acabo, en nuestro caso utilizamos el programa Labelimg el cual es open-source. Ver figura 7.



Fig. 7. Interfaz del programa LabelImg. Elaboración propia 2019.

Cada una de las categorías que aparecían en las imágenes se identificaban y encerraban en un rectángulo, el programa Labelimg generaba un archivo XML el cual era asociado a la imagen de donde fue creado, en este archivo se determinaba la ruta a la imagen, el nombre de la clase que aparecía y las coordenadas del rectángulo dibujado para la identificación de la clase. Ver imagen 8.

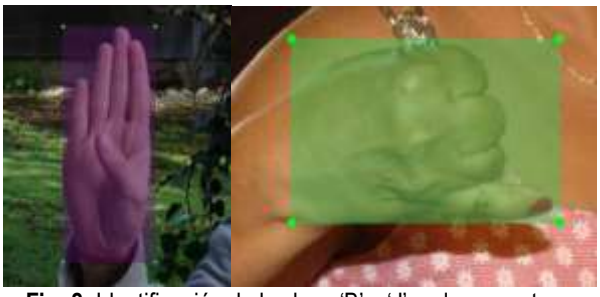


Fig. 8. Identificación de la clase 'B' y 'J' en las muestras. Elaboración propia 2019.

Transfer Learning

La técnica de Transfer Learning nos da distintas ventajas al momento de entrenar una red neuronal, podemos destacar cuatro, se tiene un conocimiento previo desde donde inicia el reentrenamiento, la cantidad de muestras para entrenar se reducen

considerablemente, se reduce los tiempos de entrenamiento y el "perfomance" de la red neuronal aumenta considerablemente. Debido a esto y a los recursos con los que se contaban al inicio de la investigación se consideró como la opción más factible para lograr entrenar una red neuronal que identificaría el alfabeto manual de LSM de manera satisfactoria. Ver figura 9.

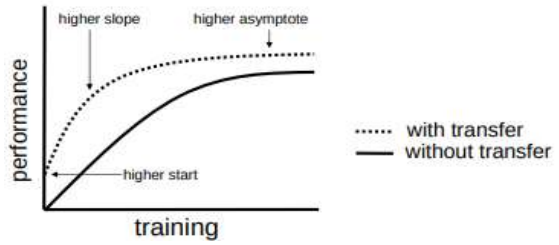


Fig. 9. Relación tiempo de entrenamiento y perfomance aplicando Transfer Learning. Torrey, L., & Shavlik, J. (2010).

SSD-Mobile-Net-V1

El modelo que se decidió reentrenar fue el "SSD-MobileNet-V1", gracias a la arquitectura que emplea y la optimización de capas, nos abre la posibilidad de implementarlo en plataformas WEB, móviles y embebidas. El modelo preentrenado y el archivo de configuración son proporcionados directamente por los repositorios de TensorFlow junto con la documentación necesaria para su implementación y correcto entrenamiento, El modelo fue entrenado con 2772 muestras, de las cuales, el 10% fue para "testing" y el 90% para "training". Se estimó que la red neuronal necesitaría alrededor de 200 000 pasos para lograr converger, se tomó esta cantidad debido a la documentación y resultados de entrenamiento de otros modelos que nos brinda TensorFlow. Ver figura 10.

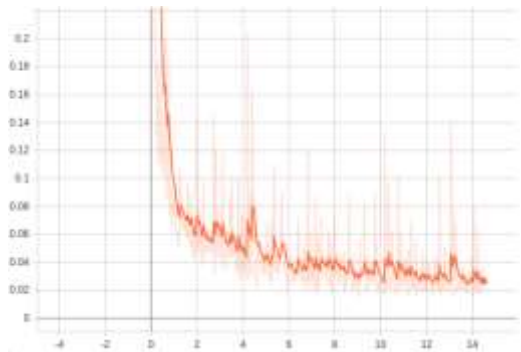


Fig. 10. Tiempo contra pérdida, momento en que converge la red. Elaboración propia 2019.

Materiales

Para elaborar de manera adecuada el proyecto que se realizó durante el verano, se usaron:

1. Cámara fotográfica (Canon EOS Rebel T3).
2. Computador portátil (Acer Nitro 515):
    a. Intel® Core™ i7-7700HQ
    b. NVIDIA® GeForce® GTX 1050 de 4 GB
    c. 8GB DDR4 SDRAM
    d. Capacidad Total del Disco Duro 1 TB Serie ATA
    e. Unidad de Estado Sólido (SSD) 256 GB Serie ATA/600
    f. Sistema Operativo Linux Mint Cinnamon 19
3. Servidor Coatlicue (@coatlicue.uaq.mx):
    a. Intel® Xeon® CPU E5-2630 v3 @ 2.40GHz 32 núcleos
    b. 64 GB de RAM DDR4
    c. NVIDIA, una GeForce GTX 1080 y Tesla K40c
    d. Sistema Operativo CentOS 7
    e. 2 TB de almacenamiento
4. Servidor Huitzilopochtli (Synology NAS DS1817) (@huitzil.pascal.uaq.mx):
    a. Tipos de unidades de almacenamiento admitidas: Unidad de disco duro, SSD.
    b. Tamaño de la unidad de almacenamiento: 2.5/3.5".
    c. Frecuencia del procesador: 2,4 GHz.
    d. Familia de procesador: Intel® Atom™.
    e. Modelo del procesador: C2538.
    f. Memoria interna: 8 GB.
    g. Tipo de memoria interna: DDR3.
    h. Ethernet LAN X4, velocidad de transferencia de datos: 10,100,1000 Mbit/s.
    i. Protocolos de red compatibles: CIFS, AFP, NFS, FTP, WebDAV, CalDAV, Telnet, SSH, SNMP, VPN (PPTP, OpenVPN, L2TP).

Resultados

Dentro de los resultados obtenidos podemos destacar los siguientes:

1. Creación de *dataset*: se creó una *dataset* del alfabeto manual de la Lengua de Señas Mexicana, la cual, contiene más de 2700 muestras. Se etiquetó cada una de las imágenes para poder obtener los archivos de entrenamiento para el modelo de nuestra *red neuronal*. La mayoría de las imágenes recolectadas fueron obtenidas gracias a la comunidad de la Universidad Autónoma de Querétaro y civiles del estado de Querétaro. Ver figura 11.



Fig. 11. Foto tomada en la plática de bienvenida del verano de la ciencia UAQ 2019. Elaboración propia 2019.

2. *Red neuronal* entrenada: con los archivos obtenidos (TfRecords) de la dataset creada, se pudo entrenar un modelo de red neuronal *SSD-MobileNet-V1*. La primera prueba de entrenamiento del modelo duró solamente 15 min, obteniendo resultados deficientes. Ver figura 12. Posteriormente se entrenó nuevamente, esta vez durante 15 horas, se logró la identificación de las vocales de manera satisfactoria. Ver figuras 13 y 14. Por último, proceso de entrenamiento del modelo más robusto hasta el momento, el tiempo que tardó en converger la neurona, fue de aproximadamente 84 horas, obteniendo un ***valor de pérdida promedio*** de 0.64 aproximadamente. En la literatura se puede encontrar que cuando el *valor de pérdida promedio* es menor a uno, se puede considerar un entrenamiento lo suficientemente completo para el problema a tratar. Todo el procesamiento y entrenamiento de la *red neuronal* se desarrolló en el servidor ***Coatlicue*** de la facultad de informática de la Universidad Autónoma de Querétaro. Se logró el reconocimiento, en su totalidad, del alfabeto manual de la Lengua de Señas Mexicana, de forma estática (fotografías) como en tiempo real (video). ver figura 15 y 16.



Fig. 12. Primera prueba del modelo entrenado. Elaboración propia 2019.



Fig. 13. Identificación de la vocal 'O' del LSM. Elaboración propia 2019.



Fig. 14. Identificación de la vocal 'U' del LSM. Elaboración propia 2019.

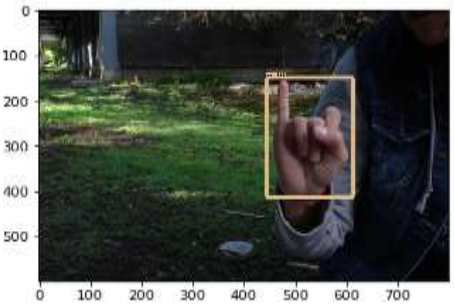


Fig. 15. Reconocimiento de la letra 'I' con el modelo entrenado. Elaboración propia 2019.



7

Fig. 16. Porcentaje de probabilidad de pertenencia a la clase 'I'. Elaboración propia 2019.

3. Repositorio en GitHub y sitio web: toda la investigación, data set y red neuronal será subida y montada sobre un repositorio en GitHub, el cual será de libre acceso y uso sin fines de lucro. La página web servirá como difusión y medio para la recopilación de más muestras para la datasez. (https://github.com/jairock282/ittamaitl) (https://ittamaitl.ml/)

Actualmente el modelo de *red neuronal* sigue en entrenamiento en el servidor *Coatlicue*. Ver figura 17.

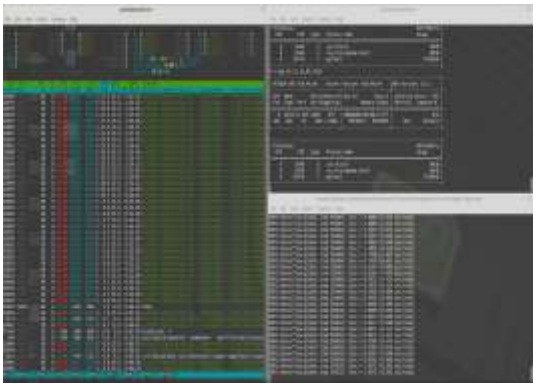


Fig. 17. Proceso de entrenamiento del modelo dentro del servidor Coatlicue. Elaboración propia 2019.

Se decidió nombrar al proyecto como *"Ittamaitl"*, esto fue debido a que al momento de crear el repositorio se nos pidió proporcionar un nombre, "Ittamaitl" que su etimología viene del náhuatl "itta" que significa ver y "maitl" que significa mano por lo tanto se puede deducir que "Ittamaitl" significa ver mano, nombre muy adecuado a nuestro proyecto.

Conclusiones

El reconocimiento de patrones es uno de los problemas más complejos de la computación y cada vez se encuentra de forma más cotidiana en nuestra vida. Gracias a esta tendencia, ha permitido el desarrollo de nuevas herramientas como lo es *Tensorflow*, el cual, de una manera más sencilla nos permite un acercamiento a la inteligencia artificial. El reconocimiento de patronos busca resolver problemas cada vez más específicos como lo es reconocimiento de señas particulares de la Lengua de Señas Mexicana. A pesar de que nuestro modelo logra reconocer de forma óptima las señas, no logramos la velocidad de reacción deseada, estimamos que es debido a la cantidad de muestras que se utilizaron además del tiempo que se empleó para poder entrenarla ya que ambos puntos fueron muy limitados. Cabe mencionar que el proyecto "Ittamaitl" se planea seguir trabajando en proyectos y eventos futuros.

Agradecimientos

Queremos agradecer, en primera instancia, a nuestras familias, por toda la paciencia y apoyo que nos han brindado durante toda la carrera y ahora más en el verano de la ciencia UAQ 2019. Así como a nuestros amigos por el apoyo en nuestras locuras y proyectos.

De igual forma queremos agradecer a la Dra. Sandra Canchola, por el apoyo, paciencia, asesoramiento y fe en nuestro proyecto ya que ella ha sido pilar en nuestra aventura como investigadores.

Y a ti, por el simple hecho de estar ahí apoyándome y creyendo que todo esto era posible.

Bibliografía

- Kurzweil, R., Richter, R., Kurzweil, R., & Schneider, M. L. The age of intelligent machines. Cambridge, MA: MIT press 1990.
- Acosta, L., Calvo, T., Maya, D., & Sanabria, E. Diccionario español-lengua de señas mexicana. DIELSEME. Dirección de Educación Especial, SEP. México, DF. 2004.
- Géron, A. Hands-on machine learning with Scikit-Learn and TensorFlow: concepts,

tools, and techniques to build intelligent systems. O'Reilly Media, Inc. 2017.
- Torrey, L., & Shavlik, J. Transfer learning. In Handbook of research on machine learning applications and trends: algorithms, methods, and techniques. IGI Global. 2010.
- Rothman, D. Artificial intelligence by example. 2nd ed. Birmingham, UK. 2018.
- Russell, S. J., & Norvig, P. Artificial intelligence: a modern approach. Malaysia. 2016.
- Minsky, M., & Papert, S. A. Perceptrons: An introduction to computational geometry. MIT press. 2017.
- Sossa Azuela, J. "Neural Networls: From Classic to Modern Methods". Mexican Conference of Pattern Recognition. Santiago de Querétaro, Querétaro, junio 2019.
- Abadi, M., Barham, P., Chen, J., Chen, Z., Davis, A., Dean, J., & Kudlur, M. "Tensorflow: A system for large-scale machine learning", pp. 265-283. Disponible en https://www.usenix.org/system/files/conference/osdi16/osdi16-abadi.pdf [Consultado en 2019].
- J. Dean, G. S. Corrado, R. Monga, K. Chen, M. Devin, Q. V. Le, M. Z. Mao, M. Ranzato, A. Senior, P. Tucker, K. Yang, and A. Y. Ng. Large scale distributed deep networks. In Proceedings of NIPS, pp 1232–1240. Disponible en https://research.google.com/archive/large deep networks nips2012.pdf [consultado en 2019].
- Howard, A., Zhu, M., Chen, B., Kaleninchenko, D., Wang, W., Weyand, T., Andreetto, M. and Adam, H. MobileNets: Efficient Convolutional Neural Networks for Mobile Vision Applications. Vol. 1. Disponible en https://arxiv.org/abs/1704.04861 [Consultado en 2019].
- Gómez Flores, W. Reconocimiento de objetos en fotografías. Tamaulipas: CINVESTAV. Disponible en https://www.tamps.cinvestav.mx/~wgomez/toptamps/presentacion.pdf [Consultado en 2019].
- Carrasco Ochoa, J. Reconocimiento de patrones. INAOE. Disponible en https://ccc.inaoep.mx/~ariel/recpat.pdf [Consultado en 2019].
- Huang, J., Rathod, V., Sun, C., Zhu, M., Korattikara, A., Fathi, A., Fischer, I., Wojna, Z., Song, Y. and Guadarrama, S. Speed/accuracy trade-offs for modern convolutional object detectors. Google Research. Disponible en https://arxiv.org/abs/1611.10012 [cusultado en 2019].
- Prieto, R., Herrera, A., Pérez, L., & Padrón, A. El modelo neuronal de McCulloch y Pitts: Interpretación comparativa del modelo. Disponible en http://medicinaycomplejidad. org/pdf/reciente/r31459. pdf [Consultado en 2019].
- Jantzen, J. Introduction to perceptron networks. Technical University of Denmark, Lyngby, Denmark, Technical Report. Disponible en: http://saba.kntu.ac.ir/EECD/FATEHI/LECTURES/INTELLIGENT%20SYSTEMS/NeuNet/Papers/NeuralNetworksTutorial.pdf [Consultado en 2019].
- Torrey, L., & Shavlik, J. Transfer learning. In Handbook of research on machine learning applications and trends: algorithms, methods, and techniques. IGI Global, 2010.

7° Encuentro de Jóvenes Investigadores
Universidad Autónoma de Querétaro

Cálculo Ab-Initio de Propiedades Electrónicas de Nanocristales de InP

D. Paul Gutiérrez-González[1], Ma. Lucero Gómez-Herrera[2], Daniel Olguín-Melo[3] y Julio G. Méndoza-Álvarez[4].
[1,2]Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de Querétaro. Cerro de las Campanas S/N, Santiago de Querétaro 76010, México.
[1]dgutierrez08@alumnos.uaq.mx
[2]lucero.gomez@uaq.mx
[3,4] Departamento de Física. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Av. IPN 2508, Cuidad de México 07360.
[3]daniel@fis.cinvestav.mx
[4]juliogma@gmail.com

***Resumen*—**Con la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT) y en el marco pseudopotencial, se calculó la estructura electrónica de nanocristales semiconductores esféricos (NC) de Fosfuro de Indio (InP) en función al tamaño de partícula. En primer lugar, se calcularon las propiedades del InP en bulto (propiedades estructurales, estructura electrónica y relación de dispersión de fonones) para demostrar la precisión de nuestros cálculos con los reportados en la literatura. Posteriormente, con un previo procedimiento de pasivación superficial, se modelaron los nanocristales con diámetros entre 1.50-3.0 nm; los resultados computacional fueron empleados para examinar y deducir las propiedades electrónica, la densidad de estados (DOS) y los orbitales localizables HOMO y LUMO.

***Abstract*—**Using the Density Functional Theory (DFT), we have studied the electronic structure and optical as function of the size of InP quantum dots (QDs). In a first step, we have calculated the InP bulk properties (structural parameters, electronic structure and phonons relation dispersion) to demonstrate the accuracy of our model. Then, we have modeled stoichiometric InP QDs with diameter sizes in the range between 1.50-3.0 nm. Next, the computational results were used to examine and deduce the electronic properties, density of state (DOS) and localized molecular orbitals HOMO and LUMO. From this analysis, the quantum confinement and its improvement with the passivation effect on the quantum dots will be demonstrated. Also, we have calculated the phonons dispersion and their dependence with the size for each modeled QD

***Palabra clave*— Física del Estado Condensado, Nanomateriales, Nanoestructuras, Quantum Dots, Ab Initio, Semiconductores, Teoría de los Funcionales de la Densidad.**

Keywords— Solid State Physics, Nanostructures, Quantum Dots, ab initio models, Semiconductor Materials, Density Functional Theory.

I. INTRODUCCIÓN

Un **P**unto **C**uántico (**PC**), también conocido como **N**anocristal *(***NC***)* (en inglés, ***Q****uantum* ***D****ot*) o *átomos artificiales*, es un cristal de carácter semiconductor constituido por algunos cientos y miles de átomos [Zhang Z, 2014]. Sus propiedades electrónicas y ópticas, , originadas por el confinamiento cuántico en las tres dimensiones de la función de onda electrónica (fenómeno no presente en su contraparte en *bulto),* han generado una intensa investigación en los últimos años (Ministro, 2014).

En semiconductores, el régimen del confinamiento cuántico resulta del hecho de que los portadores de carga se encuentran restringidos en un pozo de potencial esférico de altura finita (cuya dimensión lo determina el material constituyente al **PC**). Se presenta cuando la dimensión del nanocristal es menor a la longitud de onda del portador de carga o a al radio del excitón del Bohr (r_B),

Como resultado, se genera una discretización del espectro energético con profundos efectos en las propiedades ópticas de tales materiales (Efros, 2016): un aumento en el valor del band gap de energía a medida que tamaño del punto cuántico disminuye.

Un hecho experimental bien reportado es el drástico aumento del band gap (E_g) del semiconductor **F**osfuro de **I**ndio (**InP**) de su estado habitual en *bulto* de 1.35 eV (Cargnello, 2014) a una amplio espectro de entre 2.32 a 2.93 eV en nanocristales con diámetros de 4.2 a 1.3 nm (Mendoza Álvarez, et al., 2015)

Algunas de las potenciales aplicaciones de estos nuevos fenómenos físicos en PCs están ampliamente dirigidos para el desarrollo de técnologias y dispositivos : emisores en marcadores biológicos (Zhou, 2015), LEDs (Colvin, 2016), lásers (Klimov, 2013), transistores (Shen, 2014), ondas de guía (Holm, 2015) ,celdas solares (Cattley, 2015), etc.

El impacto de la dependencia de las propiedades en el tamaño de partícula en las diversas aplicaciones de nanocristales ha reunido un considerable interés de los físicos y químicos por estudiar la estructura electrónica y la relación con su dimensionalidad.
La **T**eoría de los **F**uncionales de la **D**ensidad (**DFT**) permite, como método de *primeros principios*, una aproximación teórica exacta (sin la introducción de algún parámetro experimental) de las propiedades electrónicas de sistemas cuánticos de muchos cuerpos a partir de la densidad electrónica en el estado fundamental ($\mathbf{n_0}$). El desarrollo de esta metodología en una base de ondas planas y una eficiente paralelización con sistemas de supercómputo, se ha convertido en una poderosa herramienta para la simulación de sistemas que superan los cientos, e incluso, miles de átomos, haciendo descripciones más realistas de una variedad de materiales, como los materiales nanoestructurados del presente trabajo.
Este trabajo está basado en la simulación mediante primeros principios de nanocristales semiconductores esféricos que han sido preparados, en el experimento, mediante métodos químicos.

II. Metodología

Detalles Computacionales

Todos los cálculos estructurales y electrónicos fueron llevados a cado sobre la metodología **DFT** implementada en la *suit* del software libre *Abinit (versión 8.8.6)* en el marco de pseudopotenciales de norma-conservativa de acuerdo a la contrucción sugerida por Troullier-Martins.
En primer lugar, se calcularon las propiedades del sistema **InP** en *bulto* con un grupo espacial T^2_d o estructura cúbica centrada en las caras (en inglés, **F**ace-**C**entred **C**ubic, **FCC**). Para el procedimiento de optimización, los estudios numéricos sugirieron una energía de corte ($\mathbf{E_{cut\text{-}off}}$) de 15.0 Ha y un tamaño de malla de puntos *k* Monkhorst-Pack de 6 x 6 x 6 con las aproximaciones LDA y GGA. Después, con el cálculo de la energía interna $E_0(V)$ en función al volumen de la celda unidad, se realizó un ajuste por mínimos cuadrados de la ecuación de Estado de Birch-Murnaghan para determinar el parámetro de red optimo $\boldsymbol{a_0}$ a una presión cero, el módulo de bulto $\boldsymbol{B_0}$ y su primera derivada respecto a la presión $\boldsymbol{B'_0}$. Por tanto, utilizando $\boldsymbol{a_0}$, se determino la estructura de bandas electrónicas bajo las orbitales de **K**ohn-**S**ham (**KS**) con el método de campo auto-consistente. Para mejorar las precisión de los cálculos electrónicos en la fase en *bulto*, se utilizaron la aproximación de la densidad lineal (**LDA),** funciones de Green **(GW)** y el potencial modificado de Becke-Johnson (**meta-GGA).** Además, usando la Función-Respuesta implementado en Abinit, se calcularon la dispersión de bandas de fonones.

Posteriormente, se procedió a modelar cinco nanocristales con estequimetría 1:1 entre las especies In y P de acuerdo a la composición química $(InP)_xH_y$, with (x,y)= (6,20), (13,30), (18,40), (34,66) , (43,78) ay (66,99), para preservar la neutralidad del sistema.
Se uso el **M**étodo de **S**upercelda y con las apropiadas condiciones periódicas de fronteras (Koole, 2014)
Para mejorar la eficiencia de los cálculos de puntos cuánticos, se requirió de un segundo nivel de paralelización entre el tamaño de la base de ondas planas y el número de orbitales de **K**ohn-**S**ham (KS).
Nuestros cálculos, basados en puntos cuánticos sintetizados en medio coloidal [Mendoza A., 2015], preservaron una geometría esférica.
Cada **NC** aislada fue relajada sobre la condición de que las fuerzas de **H**ellmann-**F**eyman fueran menores a 0.0015 eV/Å por cada átomo en la nanoestructura. Además, para remover los

estados interbanda que aparecen como consecuencia de los enlaces rotos (o *activos*) en la superficie de cada nanoestructura, se emplearon átomos hidrogenoides, los cuales son ampliamente reportados de ser buenos agentes para pasivar superficies.

III. Resultados y Discusión

- *InP en bulto*

Se bien reportado que las formulaciones **LDA** y **GGA** no reproducen con buena precisión el band-gap de energía de semiconductores. Como una solución empírica para este problema, se utilizó el potencial **mBJLDA**, el cual es una modificación del potencial de intercambio-correlación de Becke-Johnson (BJ). Este potencial reproduce el E_g con una precisión de varias órdenes de magnitud mejor. Sin embargo, es importante mencionar que un problema con este potencial es la inexistencia de un funcional de intercambio-correlación E_{xc}, por lo tanto, no hay un procedimiento de optimización definido para este potencial.

La *figura* y *tabla 1* muestran los parámetros de red obtenidos y los reportados en la otros autores. Nuestro cálculo proporciona un parámetro de red

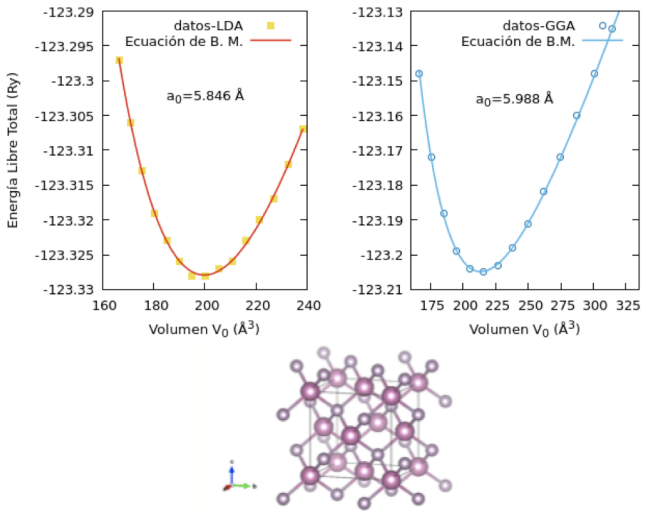


Figura 1. Energía total libre E_0 (Ry) como función del volumen de la celda unidad (Å^3) para la estructura tipo Zinc-blenda del semiconductor InP en bulto. Se usaron las aproximaciones LDA (izquierda) y GGA (derecha) sobre el cálculo DFT (puntos) y un ajuste usando la ecuación de estado de Murnaghan (línea continua)

con una subestimación en la aproximación LDA del 12 % (a_0^{LDA}=5.846 Å) , mientras que GGA (a_0^{GGA}== 5.988 Å) se encuentra 20 % por encima del parámetro de red experimental, reportado por 5.8657 Å.

La tendencia de esta sub- y sobrestimación de ambas aproximaciones con el parámetro estructural es un hecho bien reportado

Tabla1. Parámetro de red optimizados

Aproximación	*Parámetro de red* (Å)
LDA	5.8460
GGA	5.9772
Experimental V.	$5.8657_{4,8K}$

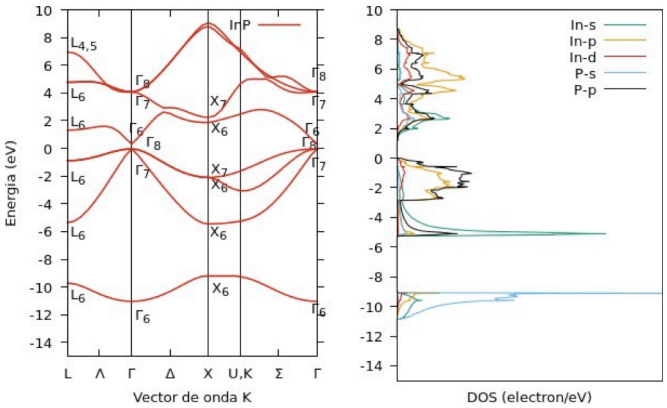


Figura 2. (Izquierda.) Estructura de bandas y (derecha) densidad de estados (PDOS) del fosfuro de indio (InP).

Se calculó la estructura de bandas electrónicas y la densidad de estados parcial (**PDOS**) dentro de la aproximación **LDA (figura 2)** por proporcionar mejores resultados en las propiedades estructurales que el funcional **GGA**. Adicionalmente, se uso el potencial mBJLDA.

Observando la estructura de bandas obtenida con

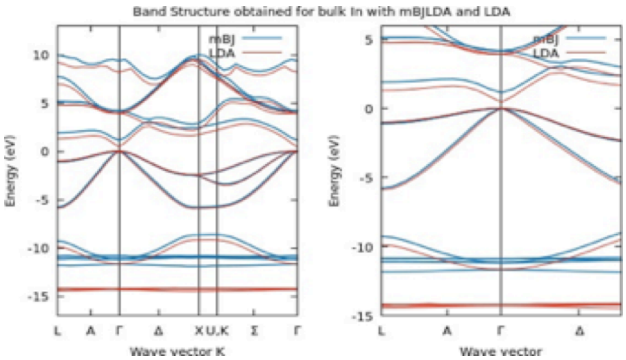


Figura 3. (a) Estructura electrónica obtenidas con el potencial mBJLDA en el sistema InP. (b) Izquierda: es posible observar un rigido desplazamiento de la banda de conducción hacia mayores de energía.

mBJLDA con mayor detalle (figura 3), puede apreciarse una rígido desplazamiento de la banda de conducción hacia mayores niveles de energía, cuyo efecto mejora su precisión con el valor de E_g experimental. Por tanto, es posible establecer una mejora para el band gap de 0.478 a 1.176 eV para LDA y mBJLDA, respectivamente.

Ahora, usando la *teoría perturbativa de los funcionales de la densidad* (**DFPT**), es estudiaron las propiedades vibracionales del del InP en bulto, en este caso, la dispersión de fonones. La constante de fuerza interatómica de las matrices dinámicas para el InP se obtuvieron con una malla de 5 x 5 x 5 puntos k especiales de acuerdo al método de Monkhorst-Pack. La figura 4 muestra las bandas de dispersión de fonones, así como el gap de frecuencia ente las ramas ópticas y acústicas debido al carácter polar de dicho semiconductor. Este resultado viene del hecho que la masa del átomo de In es mayor que la del átomo de P . Éste cálculo muestra en excelente relación con los valores experimentales obtenidos en técnicas de

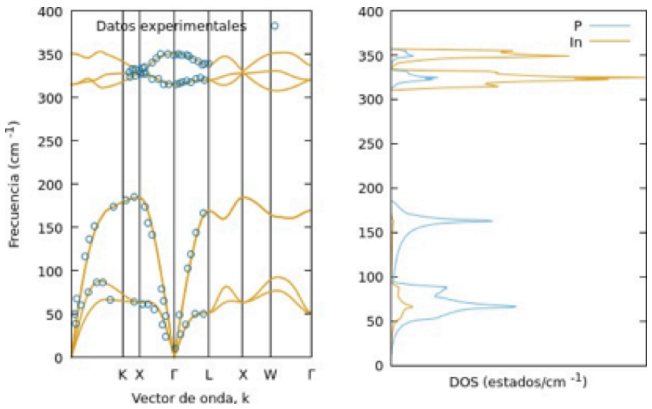


Figura 4. (Izquierda) Relaciones de dispersión de fonones calculados (línea continua) y valores experimentales (puntos). (Derecha). Densidad de estados de fonones (PHDOS).

dispersión inelástica de neutrones y espectroscopia ramman .

- *InP-Nanocristales*

La figura 5 muestra las estructuras relajadas de los NCs usadas en nuestro cálculo. Después de de optimizar el volumen de la supercelda y a cada punto cuántico de acuerdo al criterio de fuerzas, se observa que la estructura blenda de zinc (fcc) aún se conserva. Las longitudes de enlaces del In-P en el interior del **NC** son ligeramente más pequeñas (entre 2.534-2.501 Å), que las uniones superficiales (2.55-2.58 Å). Este hecho puede ser consecuencia de una mayor tensión entre los átomos que constituyen el cuerpo del punto cuántico.

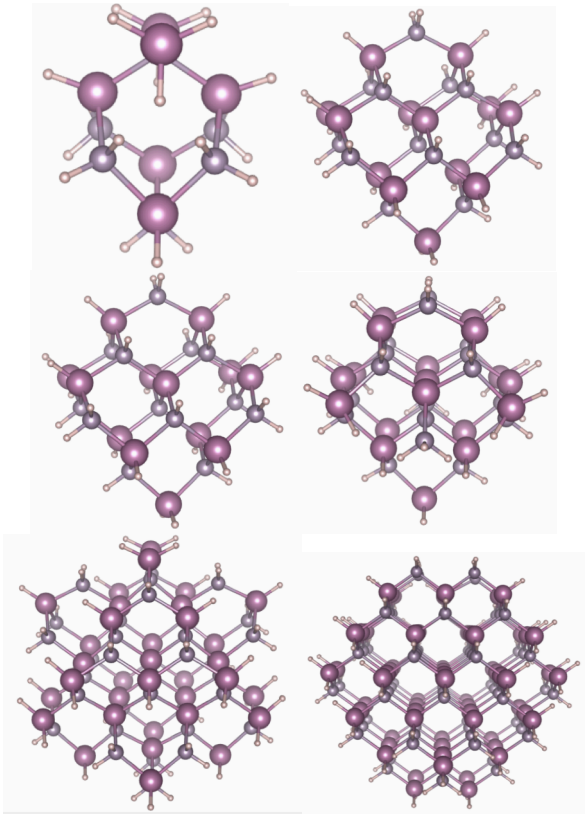


Figura 5. Nanostructuras esféricas después de la relajación con la apropiada composición químicas $In_2P_7H_{21}$ and $In_6P_{16}H_{41}$; $(InP)_xH_y$, donde (x,y)= (13,30), (18,40), (34,66) , (43,78) y (66,99), respectivamente.

La simulación de sistemas aislados semiconductores (clusters, nanocristales, etc.) ha sido restringida por la falta de un simple esquema de pasivación superficial. En bajas dimensiones, las propiedades de superficie se vuelven cruciales debido al aumento de la relación superficie-volumen. La superficie de un punto cuántico contiene estados electrónicamente activos (*enlaces rotos*) que son introducidos como estados superficiales entre la región de band gap. Por tanto, una apropiada pasivación ayudará unir químicamente nuevamente estos enlaces "colgantes" sin modificar el carácter intrínseco de los *orbitales moleculares ocupados de mayor energía* (HOMO) y los *orbitales moleculares desocupado de menor energía* (LUMO). Para completar esta tarea, se utilizaron átomo de hidrógeno (con el adecuado

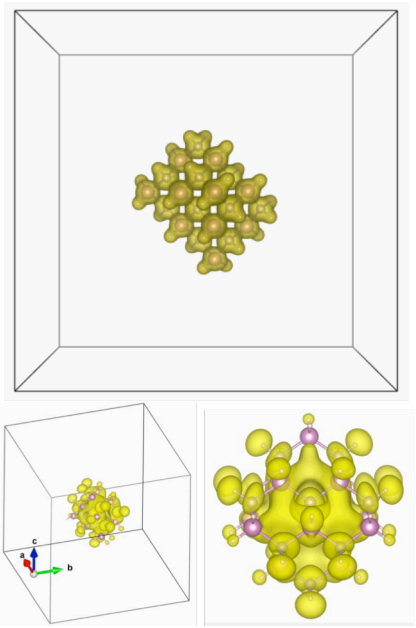


Figura 6. (arriba) Isosuperficie de la densidad electrónica para un punto cúantico $InP)_{13}H_{30}$ inmerso en una supercelda. (abajo) Orbitales moleculares tipo HOMO and LUMO for an isolated QD ($(InP)_{13}H_{30}$) preservan su carácter intrínseco después de la

número de valencia) para formar un enlace químico covalente.

Para asegurar la calidad de la pasivación, se puede apreciar el modulo al cuadrado de la función de onda molecular (figura 6) y un mapa de contorno de la densidad de carga electrónica (figura 7).

El gráfico de contorno de la densidad electrónica muestra el carácter del enlace químico: en la secuencia superior, sobre el enlace H-P (figura 7), la densidad electrónica esta ligeramente distorsionada de la forma esférica originalmente

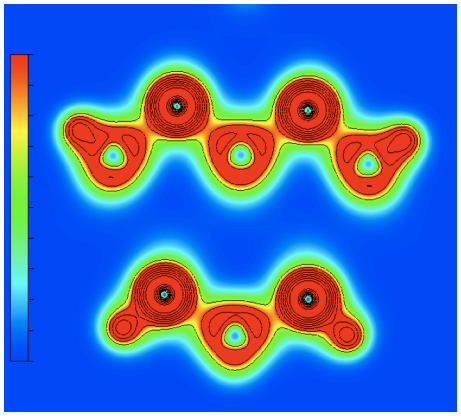


Figura 7. Mapa de contorno de la densidad de carga para la nanoestructura $(InP)_{13}H_{30}$ sobre el plano (110). Sobre una vista de izquierda a derecha: (arriba) secuencia de enlaces (arriba) **H-P-In-P-In-P-H**. (abajo): **H-In-P-In-H**.

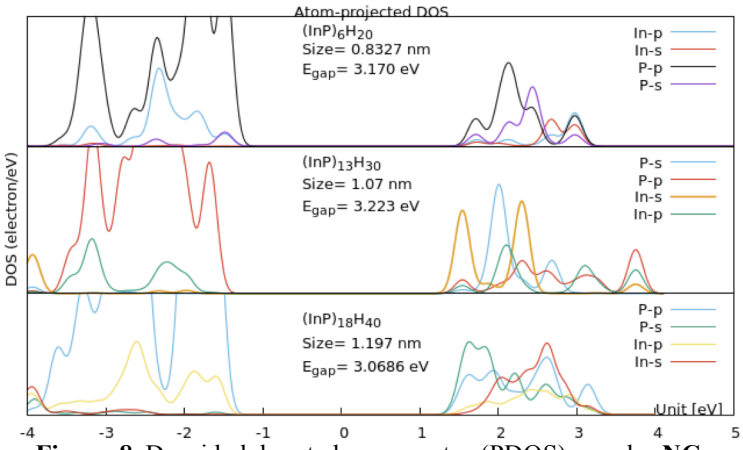


Figura 8. Densidad de estados proyectos (PDOS) para las **NCs.**

concebida , indicando un enlace con un *ligero carácter* covalente polar (con una diferencia de electronegatividad de 2.1). En el caso del enlace H-In, (secuencia inferior, H-In-P-In-H, de la figura 7), la densidad electrónica de la especie H, es casi esférica, indicando un alto grado de polaridad en la unión H-P. Estudiando el enlace In-P, la densidad de carga del átomo de P presenta una mayor distorsión como efecto de su mayor electronegatividad que la especie In. Por tanto, de este gráfico puede afirmarse una adecuada pasivación superficial en términos de la polaridad de los enlaces químicos.

En la figura 8 se muestra la densidad de estados proyectada por cada átomo (PDOS) para tres *nanoestructuras* modeladas. Cuando aumenta el diámetro del punto cuántico, el band-gap disminuye. Esto es, cuando el tamaño de cada **NC** incrementa, el *orbital molecular ocupado de mayor energía* (HOMO) se recorre ligeramente a mayores valores de energía, mientras que el *orbital molecular desocupado de menor energía* (LUMO) se desplaza a menores estados energéticos. De acuerdo al esquema de la hibridación tipo sp^3 entre las especies In-P, el gráfico de PDOS muestra que los niveles HOMO y LUMO preservan el carácter usual del estado 3p para la especie de P.
De otra manera, el nivel LUMO retiene el carácter 5s del átomo de In. Sin embargo, para el orbital LUMO, un estado vacío tipo 4s del átomo P, cuya energía es mayor que el orbital 3s del mismo átomo está igualmente mezclado con el estado 5s del In sobre LUMO.
La figura 9 muestra el valor del band gap para las nanoestructuras $(InP)_6H_{20}$, $(InP)_{13}H_{30}$, $(InP)_{18}H_{40}$ y

$(InP)_{34}H_{55,}$ cuyos valores calculados fueron 3.192,

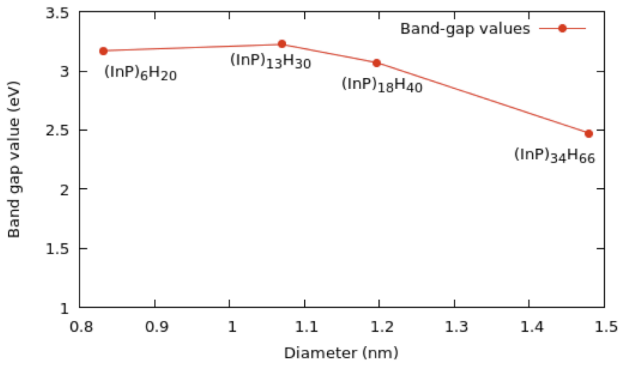


Figura 9. Valores del band-gap E_g (eV) como función del diámetro D (nm) de cada nanocristal de InP.

3.223, 3.068 y 2.473 eV, respectivamente. Es posible observar el efecto del confinamiento cuántico en los **PCs** entre el tamaño de partícula y el valor del E_g (Guyot-Sionnest, 2015). Sin embargo, estos cálculos tienen una inherente subestimación del E_g con respecto al valor experimental como consecuencia de usar la aproximación LDA; hecho bien reportado en los cálculos en el marco de DFT.

IV. Conclusión

Los cálculos teóricos bajo la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT) fueron llevados a cabo de manera exitosa, obteniendo resultados precisos de las propiedades estructurales, electrónicas y ópticas del semiconductor InP en bulto.

Usado el método de supercelda fue posible modelar las nanoestructuras aisladas con un buen efecto de pasivación empleando átomos hidrogenoides.

Los cálculos de la densidad de estados (DOS) de nanoestructuras esféricas (con un diámetro entre 0.826 a 1.68 nm) han sido obtenidos, mostrando una relación apropiada al efecto de confinamiento cuántico entre el band-gap y el tamaño de partícula. Cuando el diámetro de punto cristal incrementa, E_g es reducido, respectivamente.

VI. Referencias

- [1] Zhang Z.J. (2014). Optical Properties and Spectroscopy of Nanomaterials (Singapore: World Scientific).
- [2] José Ministro (2014). A study on the synthesis and the optical properties of InP-based quantum dots. (Tesis para obtener el grado en Maestro en Ciencias) Departamento de Química-Física Inorgánica. (Pág.5)
- [3]Arias-Cerón J.S., González-Araoz M.P., Baustista-Hernández A., Sánchez R., Herrera-Pérez J., y Méndoza –Álvarez J.G (2015). Semiconductor Nanocrystals InP@ZnS: Synthesis and Characterization. Superficies y Vacío 25(2) 134-138, junio de 2012.
- [4] Zhou W., Coleman J.J. (2016). *Semiconductor Quantum Dots* [Quantum Dots Semiconductores]. COSSMS **20**, 6, pp. 352-360..
- [5] H. Fu y A. Zunger (1997). Phys. Rev Lett. Vol.80, 5397.
- [6] D. Patel, J.M. Pikal, L.Miao, C.S. Menoni, K.J. Thomas, F.A. Kish, M.R. Huschen, (1987). CLEO'99 Procc. Spain Contem Phys. 28, 523.
- [7] Dong A, Yu H, Wang F. y Buhro (2008). J. Am. Chem. Soc. 130 5954.
- [8] Eunseog Cho, Hyosook Jang, Junho Lee y Eunjoo Jang (2015). Modeling on the size dependent properties of InP quantum dots: a hybrid functional study. Nanotechnology 24. 215201 (5pp)
- [9] M. Cargnello (2015), Substitutional doping in nanocrystal superlattices. Nature 524, 450–453.
- [10] J.-H. Choi (2016); Exploiting the colloidal nanocrystal library to construct electronic devices. Science 352, 205–208.
- [11] S.A. Ivanov, A.Piryatinski, J.Nanda, S.Tretiak, K.R. Zavadil, W.O. Wallace, D. Werder, W.I. Klimov, (2017). J. Am. Chem. Soc. 129, 11708.
- [12] A. Schliwa; G. H y D. Bimberg. (2015). Electronic Properties of III-V Quantum Dots. Technische Universitat Berlin, Hardenbergstr, 36, 10623, Berlin, Alemania.
- [13] S. J. Oh (2014), Designing high-performance PbS and PbSe nanocrystal electronic devices through stepwise,

post- synthesis, colloidal atomic layer deposition. Nano Lett. 14, 1559–1566

- [14] R, Xie; D. Battaglia y X. Peng (2017). Colloidal InP Nanocrystals as Efficient Emitters Covering Blue to Near-Infrared. J. Am. Chem. Soc, 129, 15432-15433.
- [15] Tilchin J. (2015)., Quantum confinement regimes in CdTe nanocrystals probed by single dot spectroscopy: From strong confinement to the bulk limit. ACS Nano 9, 7840–7845 .
- [16] S. Y. Chou, P. R. Krauss, and P. J. Renstrom (2010), Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures 14, 4129
- [17] R. Vaxenburg, A. Rodina, E. Lifshitz, A. L Efros (2016), Biexciton auger recombination in CdSe/CdS core/shell semiconductor nanocrystals. Nano Lett. 16, 2503–2511 (2016).
- [18] R. Koole, E. Groeneveld, D. Vanmaekelberhg, A. Meijerink y C. M Donegá (2014). Size Effects on Semiconductor Nanoparticles. Springer-Verlang Berlin Heidelberg. (Cápitulo 2. Pág. 14).
- [19] D. Kim, D.-H. Kim, J.-H. Lee, J. C. Grossman (2014), Impact of stoichiometry on the electronic structure of PbS quantum dots. Phys. Rev. Lett. 110, 196802.
- [20] Baptiste B., T.T.. Truong (2012). Quantum Properties of Spherical Semiconductor Quantum Dots. HAL. Archives- Ouvertes, fr.
- [21] P.Vachaspati (2013). Quantum Dots: Theory, Aplication, Synthesis. Massachusetts Institute of Technology.
- [22] M. Liu, Y. Ma, R. Y. Wang (2015), Modifying thermal transport in colloidal nanocrystal solids with surface chemistry. ACS Nano 9, 12079–12087.
- [23] H. Liu, E. Lhuillier, P. Guyot-Sionnest (2014), 1/f noise in semiconductor and metal nanocrystal solids. J. Appl. Phys. 115, 154309.
- [24] P. Guyot-Sionnest, J. A. Roberts (2015), Background limited mid- [51] Tempus, program of the European Union. Raman spectroscopy of solids as a tool for study of phonons and defects. Guidelines

Análisis del modelo ωCDM como sistema dinámico

Leopoldo Herrera Zamorano*, Alberto Hernández Almada**

Abstract

Based on the theory of dynamical systems, we study the cosmological model ω Cold Dark Matter considering four main components, the density of matter, radiation, dark energy and curvature of the universe. As general results, four equilibrium points were found where matter, radiation, dark energy and curvature dominate, respectively. From these four points it was found that in the past the universe was dominated by radiation, while in the future it tends to be dominated by dark energy.

Key words: Cosmology, Computational Physics, Dynamical Systems

Resumen

Con base en la teoría de sistemas dinámicos, estudiamos el modelo cosmológico ω Cold Dark Matter considerando cuatro componentes principales, la densidad de materia, radiación, energía oscura y curvatura del universo. Como resultados generales se encontraron cuatro puntos de equilibrio donde domina la materia, radiación, energía oscura y la curvatura, respectivamente. De estos cuatro puntos se encontró que en el pasado el universo estaba dominado por la radiación, mientras que en el futuro tiende a ser dominado por la energía oscura.

Palabras Claves: Cosmología, Física Computacional, Sistemas Dinámicos

Introducción

Las observaciones cosmológicas a Supernovas del Tipo Ia (SNIa), mediciones directas al parámetro de Hubble (OHD), la radiación de fondo de microondas (CMB) y las oscilaciones acústicas de bariones (BAO) indican que el universo se encuentra expandiendo de manera acelerada, lo que quiere decir que las galaxias se alejan unas de otras con mayor rapidez con forme pasa el tiempo, teniendo su origen en una clase de energía desconocida, conocida como energía oscura; aunado a esto, las mediciones a la rotación de galaxias indican un exceso de materia, la cual solo interactúa de manera gravitacional, provocando que su observación directa no sea posible y sea conocida como materia oscura (Jain, 2016).

El modelo cosmológico más sencillo que explica la materia oscura y la energía oscura es conocido como Lambda Cold Dark Matter (ΛCDM). En este modelo, la energía oscura es tomada como una constante, conocida como la constante cosmológica (Λ). A pesar del éxito de ΛCDM a grandes escalas, presenta ciertos problemas a escalas galácticas (menores a 10^6 parsecs) cuestionando el origen de la constante cosmológica. Un ejemplo de dichos problemas es conocido como el de la concordancia, el cual radica en que existe una diferencia entre el valor de la conste cosmológica predicho por la teoría cuántica de campos (QFT) y el valor obtenido por ΛCDM. En QFT el valor de la constante cosmológica es dado por la energía cuántica de vacío, mientras que con ΛCDM es medido por la observaciones, obteniendo una discrepancia de aproximadamente cien ordenes de magnitud (Liddle, 2015).

Motivados por dicho problema, en este trabajo estudiamos la generalización más sencilla del modelo ΛCDM, en el cual la energía oscura no es modelada

Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de Querétaro
Centro Universitario: Cerro de las Campanas 76010
Querétaro, México
*polofi31@gmail.com
** ahalmada@uaq.mx.

como una constante, este modelo es conocido como ωCDM. Para dicho estudio planteamos el modelo como un sistema dinámico con la finalidad de analizar el comportamiento de la radiación, materia, energía oscura y curvatura, siendo los compones del modelo.

Marco Teórico

Teoría sobre cosmología

La dinámica del universo es descrita por las siguientes ecuaciones

$$H^2 + \frac{k}{a} = \frac{\kappa}{3}\rho \quad (1)$$

$$2\dot{H} + 3H^2 + \frac{k}{a} = -\kappa P \quad (2)$$

$$\dot{\rho} + 3H(\rho + P) = 0 \quad (3)$$

donde H es el parámetro de Hubble, ρ es la densidad total de universo, P es la presión total relacionada con la densidad por la ecuación de estado $P = \omega\rho$ y k es la curvatura . La Ec. (3) es conocida como la ecuación de continuidad, la cual es distinta para cada componente del universo (radiación, materia y energía oscura) y depende del parámetro ω. Para la materia $\omega = 0$, para radiación $\omega = 1/3$. Tomando dichos valores la ecuación de continuidad para la materia y radiación están dadas por Ec. (4) y Ec. (5) respectivamente.

$$\dot{\rho}_m + 3H\rho_m = 0 \quad (4)$$

$$\dot{\rho}_r + 4H\rho_r = 0 \quad (5)$$

$$\dot{\rho}_\Lambda + 3H\rho_\Lambda(1 + \omega) = 0 \quad (6)$$

En este trabajo consideramos una ecuación de estado generalizada (Ec.(6)) para la energía oscura, donde el valor de ω =cte, siendo la ecuación del modelo ωCDM (Böhmer & Chan, 2017).

Teoría de sistemas dinámicos

Los sistemas dinámicos son descritos por ecuaciones diferenciales. Para su análisis es necesario encontrar los puntos de equilibrio, los cuales son obtenidos mediante la igualación de las ecuaciones a cero y resolviendo los sistemas. Al obtener los puntos de equilibrio se debe entender su estabilidad.

La estabilidad de un sistema dinámico puede ser dada mediante el análisis de la matriz jacobina evaluada en los puntos de equilibrio, definida como

$$J = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \cdots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1} & \cdots & \frac{\partial f_n}{\partial x_n} \end{bmatrix}_{\{eq\}} \quad (7)$$

Tabla 1. Criterios del valor propio dominante para cada componente del sistema.

Re(λ)<0	El sistema es estable.
Re(λ)>0	El sistema es inestable.
Re(λ)=0	El sistema es estable y λ se conserva.

Los valores propios de la matriz J evaluada en los puntos de equilibrio x_{eq} nos dan información del sistema y la parte real del valor propio dominante λ_d de cada punto de equilibrio nos da información sobre la estabilidad del sistema (Tabla 1) (Sayama, 2015).

Metodología

Construcción del sistema dinámico

Consideremos la densidad total de universo dada por $\rho = \rho_m + \rho_r + \rho_\Lambda$ y la presión total $P = \omega_m\rho_m + \omega_r\rho_r + \omega_\Lambda\rho_\Lambda$, ambas ecuaciones contienen la densidad de la materia, radiación y energía oscura. Sustituyendo la densidad y presión total en las Ec. (1) y (2) respectivamente,

$$H^2 = \frac{\kappa\rho_m}{3} + \frac{\kappa\rho_r}{3} + \frac{\kappa\rho_\Lambda}{3} - \frac{\kappa k}{a^2} \quad (8)$$

$$-2\dot{H} = \frac{\kappa\rho_r}{3} + \omega_\Lambda\rho_\Lambda + 3H^2 + \frac{k}{a} \quad (9)$$

dividiendo Ec. (8) por el factor H^2 se tiene,

$$\frac{\kappa\rho_m}{3H^2} + \frac{\kappa\rho_r}{3H^2} + \frac{\kappa\rho_\Lambda}{3H^2} - \frac{\kappa k}{a^2H^2} = 1 \quad (10)$$

definiendo como parámetros de densidad,

$$\Omega_m = \frac{\kappa\rho_m}{3H^2} \quad \Omega_r = \frac{\kappa\rho_r}{3H^2} \quad \Omega_\Lambda = \frac{\kappa\rho_\Lambda}{3H^2} \quad \Omega_k = -\frac{\kappa k}{a^2H^2} \qquad (11)$$

donde Ω denota la densidad de materia, radiación, energía oscura y curvatura, respectivamente. Usando los parámetros de densidad Ec. (10) toma la forma

$$\Omega_m + \Omega_r + \Omega_\Lambda + \Omega_k = 1 \qquad (12)$$

siendo una constricción y es de utilidad para reducir el orden de los parámetros libres del sistema. Las ecuaciones dinámicas para los componentes Ω_m,Ω_ry Ω_Λ son dadas al diferenciar respecto al tiempo de la siguiente manera,

$$\frac{d\Omega_m}{dt} = \frac{d}{dt}\left(\frac{\kappa\rho_m}{3H^2}\right) = \frac{\kappa}{3H}\left(\frac{\dot{\rho_m}}{H} - 2\rho_m\frac{\dot{H}}{H^2}\right) \qquad (13)$$

de Ec.(4) tenemos el factor $\dot{\rho_m}/H$, de Ec. (9) tenemos $2\dot{\mathrm{H}}/H$ y con Ec. (12) sustituimos Ω_k, reduciendo a tres los parámetros del sistema, teniendo

$$\frac{1}{H}\frac{d\Omega_m}{dt} = \Omega_m(\Omega_m + 2\Omega_r + \Omega_\Lambda(3\omega + 1) - 1) \qquad (14)$$

Cabe notar que se puede relacionar H con el factor de escala a, de la forma $d\log a = \frac{\dot{a}}{a}dt = Hdt$. Finalmente introduciendo este nuevo termino $N = log(a)$ y diferenciando respecto a esta nueva variable tenemos que

$$\Omega_m' = \Omega_m(\Omega_m + 2\Omega_r + \Omega_\Lambda(3\omega + 1) - 1) \qquad (15)$$

Siguiendo el mismo procedimiento para los componentes Ω_r y Ω_Λ tenemos

$$\begin{aligned} \Omega_r' &= \Omega_r(\Omega_m + 2\Omega_r + \Omega_\Lambda(3\omega + 1) - 2) \\ \Omega_\Lambda' &= \Omega_\Lambda(\Omega_m + 2\Omega_r + \Omega_\Lambda(3\omega + 1) - 3(\omega + 1) + 2) \end{aligned} \qquad (16)$$

La Ec. (12) junto con Ec. (15) y (16) componen el sistema dinámico para ωCDM (Böhmer & Chan, 2017).

Análisis del sistema

El sistema dinámico consta de tres ecuaciones diferenciales de primer orden y la constricción que depende del parámetro ω. En este trabajo estudiamos el sistema para los valores de $\omega = -0.4$ y $\omega = -4.0$. El análisis consta de dos etapas,

a) El primer paso es encontrar los puntos de equilibrio, los cuales se obtienen al igualar el sistema de ecuaciones a cero y resolverlo, para posteriormente analizar la estabilidad del sistema, obteniendo los valores propios de la matriz Jacobiana (Ec. (7)) evaluada en los puntos de equilibrio y siguiendo los criterios explicados en la Tabla 1.

b) Por último, se resuelve el sistema de ecuaciones numéricamente, desarrollando un algoritmo en Python del método Runge Kutta de orden 4 (RK4) con las condiciones iniciales $\Omega_\Lambda(0) = 0.70$, $\Omega_m(0) = 0.30$ y $\Omega_r(0) = 10^{-4}$ (Ade, y otros, 2016) . Lo que se plantea hacer es resolver el sistema al pasado (números negativos) y al futuro (números positivos) para obtener los espacios fases en ambas etapas.

Resultados

Después de seguir el procedimiento establecido en la sección anterior se encontraron los siguientes resultados. Se encontraron cuatro puntos de equilibrio (Tabla 2), P_k, P_m, P_r y P_l, estos puntos se interpretan como que en ellos domina la curvatura, la materia, la radiación y la energía oscura, respectivamente. El punto P_k es descartado, ya que un universo dominado por la curvatura no tiene sentido. Las Tablas 3 y 4 muestran los valores propios para ambos casos, el comportamiento es similar tanto para $\omega = -0.4$, como para $\omega = -4.0$. En el punto P_m los valores propios son distintos signos, con lo cual se afirma que es un punto silla (atrae y repele trayectorias), P_r es punto inestable, pero dado que todos los valores propios son positivos, se puede considerar un atractor en el pasado, por último P_l es punto estable en el futuro ya que todos los valores propios son negativos, estas conclusiones se pueden observar gráficamente en las Figuras 2 y 3.

La Figura 1 muestra la solución por RK4 del sistema dinámico en el pasado, en $N = 0$ es el presente, por lo que podemos observar que el universo inició siendo dominado por la radiación (línea amarilla), posteriormente la materia intento dominar pero no lo logró, actualmente nos encontramos en una etapa de transición donde la energía oscura va a dominar. En las Figuras 2 y 3 a), se encuentran los espacios fases para las distintas ω en el pasado, en ellos se puede observar que todas las trayectorias se dirigen a P_r, cumpliendo con lo predicho con los valores propios, además ciertas trayectorias tienden al punto P_m y posteriormente son repelidas a P_r, ya que P_m es un punto silla. En las Figuras 2 y 3 b), se tiene el espacio fase al futuro, donde todas las trayectorias van al punto P_l.

Tabla 2. Puntos de equilibrio del sistema.

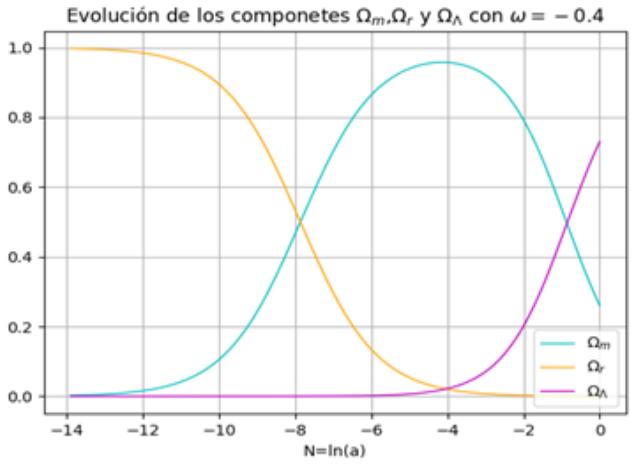
P_k	(0,0,0)	Domina la curvatura.
P_m	(1,0,0)	Domina la materia.
P_r	(0,1,0)	Domina la radiación.
P_l	(0,0,1)	Domina la energía oscura.

Tabla 3. Valores propios del sistema $\omega = -0.4$.

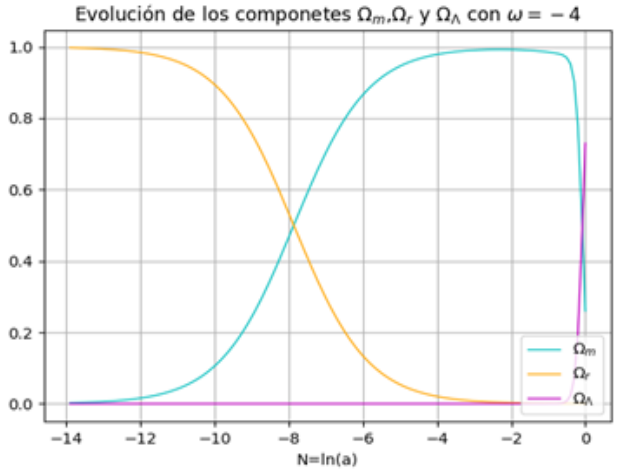
Punto	Coordenada	λ_1	λ_2	λ_3
P_k	(0,0,0)	-1.0	-2.0	0.2
P_m	(1,0,0)	1.0	-1.0	1.2
P_r	(0,1,0)	1.0	2.0	2.2
P_l	(0,0,1)	-1.2	-2.2	-0.2

Tabla 4. Valores propios del sistema $\omega = -4.0$.

Punto	Coordenada	λ_1	λ_2	λ_3
P_k	(0,0,0)	-1.0	-2.0	11.0
P_m	(1,0,0)	1.0	-1.0	-12.0
P_r	(0,1,0)	1.0	2.0	13.0
P_l	(0,0,1)	-12.0	-13.0	-11.0

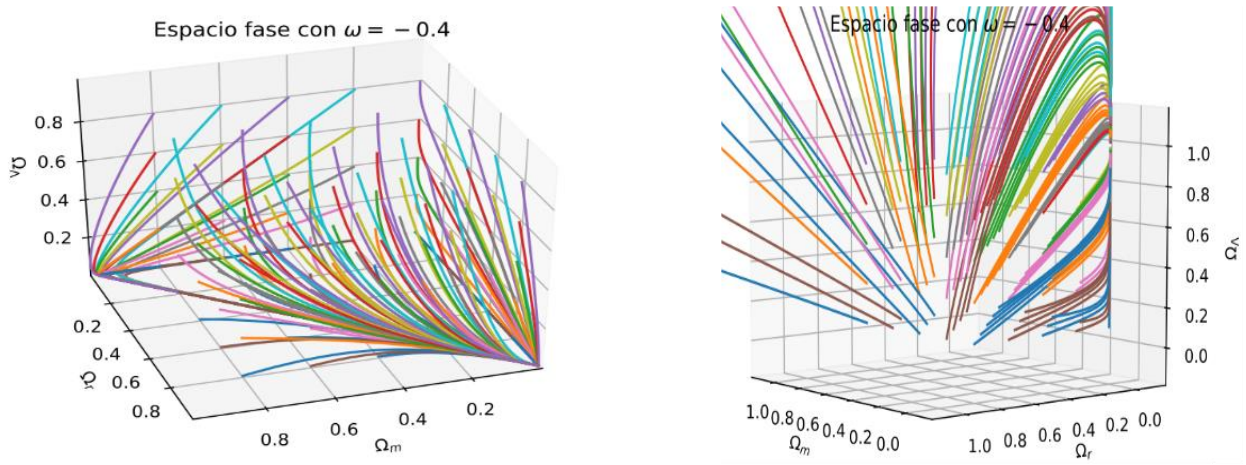


a)



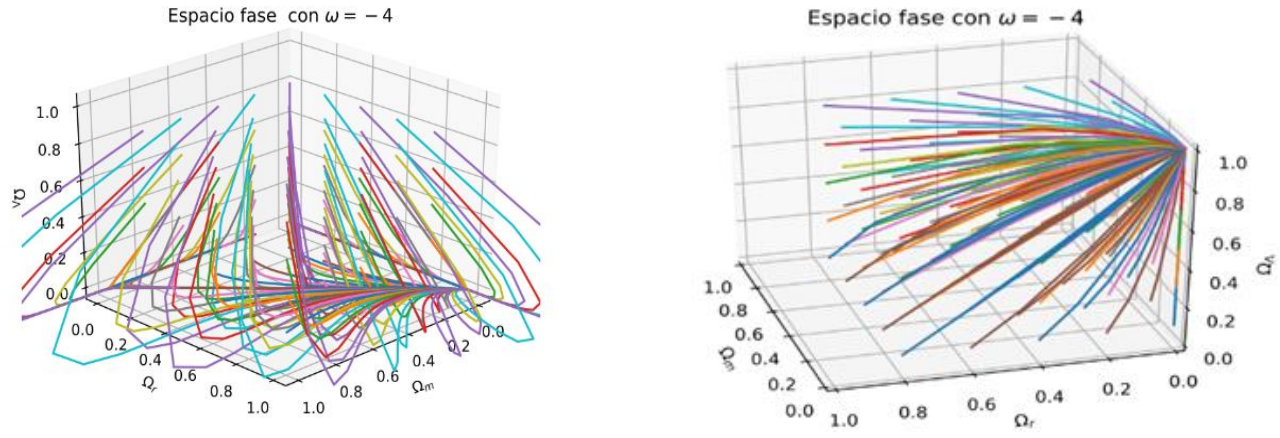
b)

Figura. 1 Solución por RK4 a) $\omega = -0.4$ y b) $\omega = -4.0$.



a) b)

Figura. 2 Espacios fases del sistema a) pasado y b) futuro con $\omega = -0.4$.



a) b)

Figura. 3 Espacios fases del sistema a) pasado y b) futuro con $\omega = -4.0$.

Conclusión

En este trabajo estudiamos el modelo cosmológico alternativo ωCDM, en donde el parámetro $\omega = cte$, siendo el caso más sencillo para una ecuación de estado dinámica para la energía oscura. Con la finalidad de estudiar los componentes del modelo ωCDM de manera individual y en conjunto, se planteó y estudió el modelo como un sistema dinámico a distintos valores de ω.

Los resultados obtenidos muestran la evolución del contenido del universo modelo por ωCDM. En un principio el universo comenzó siendo dominado por el componente de radiación, en la segunda etapa intento ser dominado por la materia (donde se formaron las galaxias). Actualmente el universo se encuentra en una transición de fase para ser dominado por la energía oscura y la velocidad de dicha transición es dada por el valor de ω, entre menor sea dicho valor, mayor es la rapidez con la que la energía oscura dominará el universo.

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro por la atención y el apoyo brindado en el 21° Verano de la Ciencia Región Centro y al Dr. Alberto Hernández Almada por su tutela y apoyo en la misma.

REFERENCIAS

Ade, P. A., Aghanim, N., Arnaud, M., Ashdown, M., Aumont, J., Baccigalupi, C., . . . others. (2016). Planck 2015 results-xiii. cosmological parameters. *Astronomy & Astrophysics, 594*, A13.

Böhmer, C. G., & Chan, N. (2017). Dynamical systems in cosmology. *World Scientific*, 121-156.

Jain, P. (2016). *An introduction to astronomy and astrophysics.* Boca Ratón: Prensa CRC.

Liddle, A. R. (2015). *An introduction to modern cosmology.* Edimburgo: John Wiley & Sons.

Sayama, H. (2015). *Introduction to the modeling and analysis of complex systems.* Open SUNY Textbooks.

Estudio de dinámica de espín en materiales ferromagnéticos desde primeros principios

Marco Olguín S, Alonso L. Miranda*.
Universidad Autónoma de Querétaro.
Facultad de Ingeniería.
marcoolguin2244@gmail.com,
alonso.lopez@uaq.mx

Resumen

El estudio de las propiedades magnéticas en los materiales, como la temperatura de Curie o el campo magnético resultan interesantes debido a sus aplicaciones en diversas áreas, pero en especifico la electrónica y las futuras tecnologías espintrónica. Aunque el estudio de dichas propiedades llega a ser desafiante esto debido a que las interacciones a nivel atómico son un problema actual de la física de materiales, para ello contamos con técnicas como la teoría del funcional de densidad (DFT, por sus siglas en ingles), la cual resulta útil para los estudios debido a que el problema a resolver es de muchos cuerpos y por lo que no se puede resolver explícitamente las ecuaciones diferenciales que describen al sistema, existen muchas aproximaciones pero resulta que DFT es una opción y da resultados buenos. Nosotros nos vamos a ayudar del computo y el uso de programas de primeros principios ya que estos son herramientas que nos facilitan el uso de la teoría y nos permite obtener avances mayores. Nosotros vamos a modelar las propiedades los elementos Fe y Ni los cuales resultan interesantes por sus aplicaciones para dispositivos de almacenamiento y en aleaciones para dispositivos espintrónicos.

Abstract

The study of magnetic properties in materials; such as Curie's temperature or magnetic field, interesting experiences in various areas, but specifically electronics and future spintronic technologies. Although the study of various properties becomes challenging because interactions at the atomic level are a current problem in the physics of materials, for this we have techniques such as the theory of functional density (DFT), The resulting quality useful for studies because the problem is a resolution of many bodies and so it is not possible to explicitly solve the differential equations that describe the system, there are many approximations but resulting from DFT is an option and results good results. We are going to help ourselves with the computation and the use of programs of first principles since these are tools that facilitate the use of the theory and allow us to obtain greater advances. We are going to model the properties of the Fe and Ni elements which are interesting for their applications for storage devices and alloys for spintronic devices.

Introducción

Los materiales magnéticos han sido estudiados a nivel *ab initio* [2] desde hace varias décadas usando la teoría del funcional de densidad. La aproximación local de densidad del espín (LSDA, por sus siglas en ingles) y sus mejoras han proporcionado una optima descripción de las propiedades magnéticas del estado fundamental, estado en el cual un sistema cuántico esta en su nivel de energía más bajo posible. La razón por la cual se utilizan estos métodos es por que nos permiten obtener datos que serían difíciles de obtener de manera experimental debido a las escalas en que se trabajan. El interés en estos materiales surge de sus aplicaciones, en especial para dispositivos electrónicos de almacenamiento, particularmente en grabación magneto-óptica.

Marco teórico

Modelos atomísticos de espín

Existen dos maneras de ver los modelos atomísticos; los modelos micromagneticos y los modelos *ab initio* de la estructura eléctrica. En los modelos micromagnéticos los materiales son discretizados en pequeños dominios donde se asume que la magnetización esta completamente ordenada. Si el tamaño de la celda micromagnética es reducido a menos de un nanómetro, entonces la magnetización ya no es un continuo verdadero y ahora tenemos una una entidad discreta que considera los momentos localizados en átomos individuales. De manera similar, cuando se consideran las propiedades electrónicas del sistema, las propiedades de la mecánica cuántica se pueden mapear en núcleos atómicos de manera similar a la dinámica molecular, donde las propiedades efectivas a menudo se pueden tratar con una aproximación clásica.[1]

Una ventaja del modelo *ab initio* sobre el modelo del micromagnetismo es que naturalmente se ocupa del orden atómico y la variación de las propiedades locales observadas en materiales reales, como interfaces, defectos o rugosidad. La formulación discreta también permite la simulación de altas temperaturas por encima y más allá del Curie. temperatura, donde se rompe el enfoque micromagnetico continuo habitual. [1]

La base física del modelo de espines atomísticos es la localización de electrones no alineados en sitios atómicos, esto se obtiene por medio del Hamiltoniano del espín, el cual describe las interacciones dependientes del espín a un nivel atómico, dicho Hamiltoniano esta definido por la siguiente ecuación

$$H = \sum_{i \neq j} J_{ij} s_i s_j \tag{1}$$

donde s_i y s_j son los momentos magnéticos de cada espín. Para el parámetro de acoplamiento de intercambio (J_{ij}) utilizamos la formulación de Lichtensein. Este calculo se puede obtener por medio del software SPR-KKR [3].

Temperatura de Curie

También conocida como el punto de Curie, recibe el nombre por su descubridor Pierr Curie (1859-1906). La magnetización espontanea debida a la alineación de los momentos magnéticos atómicos depende de la temperatura y cae rápidamente a cero al llegar a cierto punto, dicho punto es la temperatura de Curie [1]. El momento magnético puede obtenerse por medio de la siguiente ecuación:

$$M = C \cdot \frac{B}{T}$$

donde; M es la magnetización resultante, C es una consante especifica del material, B es inducción magnética y T es la temperatura absoluta.

Teoría del funcional de densidad
Es una solución más aproximada para obtener las energías de intercambio y correlación de los electrones. La teoría se basa en dos teoremas demostrados por Hohenberg y Kohn. El primero dice lo siguiente: La densidad $n(r)$ de un sistema N de electrones determina todas las propiedades electrónicas del estado fundamental. En particular, la energía del estado fundamental es:

$$\epsilon_0[n(r)] = \langle\psi_0|\tau + V + U|\psi_0\rangle$$

ψ_0 es la función de onda, τ y V representan, de forma correspondiente, la energía cinética y potencial de un solo electron. Y U representa la interacción entre dos electrones.
El segundo teorema postula que: La energía funcional ($\epsilon_0[n(r)]$) es más baja en energía para la densidad del estado fundamental $n_0(r)$ que cualquier otro estado[1].

Objetivos

Con este trabajo buscamos hacer un estudio a nivel atomístico en las estructuras presentadas, para entender sus propiedades físicas, tales como el momento magnético y la temperatura de Curie.

Metodología

Partiremos de calcular la energía de intercambio magnético, con el uso Spin Polarized Relativistic Korringa-Kohn-Rostoker (SPR-KKR), utilizando 16 puntos k, el número de puntos k determinara si converge el sistema. Con dicha energía generaremos los archivos necesarios para calcular sus propiedades magnéticas utilizando el programa Atomic Spin Dynamics (UppASD) de la universidad de Uppsala. Para obtener una visualización de la aleación se usaron los programas; VESTA, para la visualización de las celdas unitarias y la estructura de los elementos. Por ultimo, usando Vampire para ilustrar como cambian la alineación de los espines en función de la temperatura, para esta simulación usaremos el método de Montecarlo y un integrador propio del programa para calcular la temperatura de Curie en función de los datos proporcionados.

Resultados

Fe
En la figura 1 se muestra una representación de la celda primitiva del Fe, mostrando un cuerpo cubico centrado (bcc). La simulación en SPR-KKR nos permitió hallar la energía de intercambio, teniendo un valor de 17.25 meV.

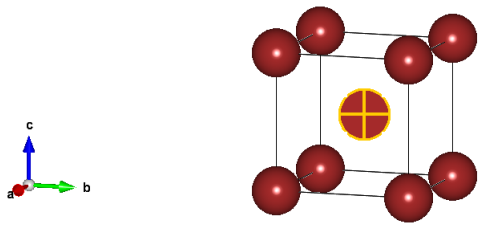


Figura 1: Estructura del Fe

Una vez se obtuvo el valor de energía de intercambio se pudo calcular la temperatura de Curie para el hier-

ro, temperatura a la cual el material pierde sus propiedades magnéticas. En la gráfica 2 se observa que dicho valor es de 1050K. La mayoría de experimentos realizados para obtener este valor han concluido que el valor experimental es de 1043 [4] [5].

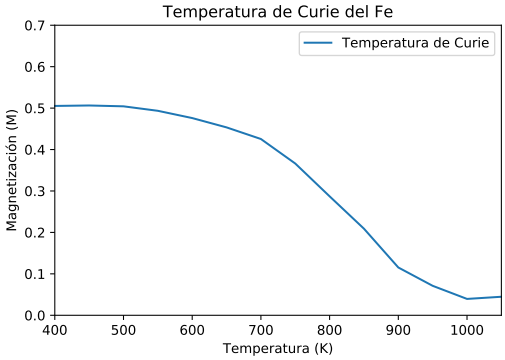


Figura 2: Temperatura de Curie del Fe

Co

La figura 3 muestra la celda unitaria del cobalto, los datos obtenidos de la energía de intercambio nos dio como resultado una temperatura de Curie de 1395 K, el cual se muestra en la figura 4, comparado con el valor real [5] de 1400 obtenemos un error del 0.035 %.

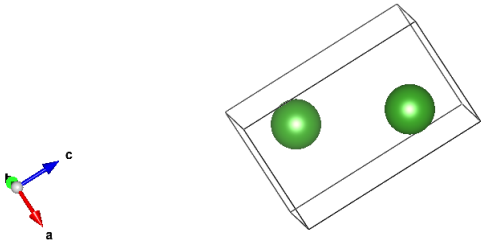


Figura 3: Celda primitiva del Co

Ahora, utilizando Vampire pudimos obtener una representación de los como se disocian los momento magnéticos de los espines en función del tiempo, estando al inicio completamente alineados a 0 K (figura 4 (a))

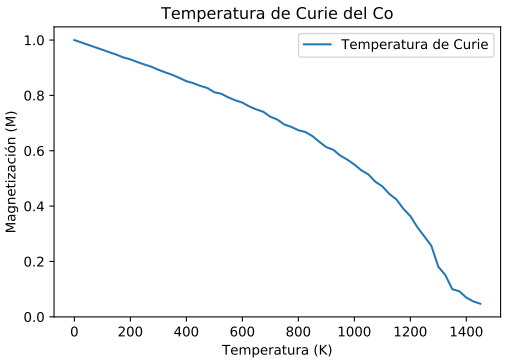
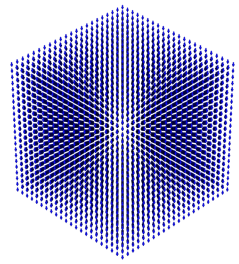
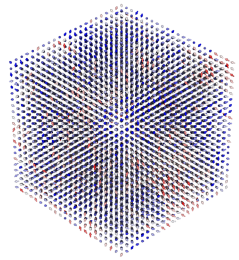


Figura 4: Temperatura de Curie del Co

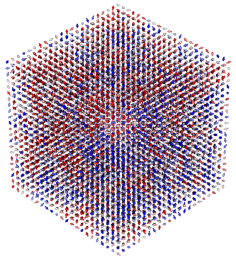
y comenzando a perder el orden hasta quedar completamente disociados al llegar al punto de Curie (figura 4 (c)).



(a)



(b)



(c)

Figura 5: Alineación de los momentos magnéticos de los espines del Co en función de la temperatura a 0K, 750K y 1400K

Discusión y conclusiones

Comparando los resultados obtenidos con datos experimentales se observa un error porcentual mucho menor al uno por ciento, esto demuestra como el uso de programas optimizados para este tipo de cálculos resultan bastante utilices, ahorrando recursos de tiempo y dinero.
Con el uso de técnicas como las que se usaron aquí y la ayuda de otras áreas de la física, podemos predecir posibles aleaciones que nos brinden mejoras al aplicarlas en dispositivos, con la ventaja de no requerir un laboratorio convencional para su predicción puesto que se usan los recursos de computo como tal. Con los resultados obtenidos por medio de las simulaciones se puede llegar a mejores resultado al momento de medir de forma experimental los elementos o aleaciones en cuestión.

Agradecimientos

Los autores agradecen los recursos informáticos, el asesoramiento técnico y el apoyo brindado por el Laboratorio de Matemáticas Aplicadas y Computo de Alto Rendimiento, CINVESTAV-EDOMEX (ABA-CUS).

Referencias

[1] J. M. D. Coey . (2010). Magnetism and Magnetic Materials. Trinity College, Dublin: Cambridge University Press.

[2] Subhash M, I. Turek. 2001. Ab Initio Calculations of Curie Temperatures. En Encyclopedia of Materials: Science and Technology (Second Edition) (I, 1-6): Pergamon.

[3] F. Richard, L. Evans, B. Andreas . (2018). Vampire Manual. Department of Physics, The University of York, Heslington, York:

[4] Kobeissi, M. A. (1981). Mössbauer study of static and dynamic critical behavior in Fe. Physical Review B, 24(5), 2380–2396. doi:10.1103/physrevb.24.2380

[5] Ležaić, M., Mavropoulos, P., Blügel, S. (2007). First-principles prediction of high Curie temperature for ferromagnetic bcc-Co and bcc-FeCo alloys and its relevance to tunneling magnetoresistance. Applied Physics Letters, 90(8), 082504. doi:10.1063/1.2710181

El Universo en la TV: Antenas Satelitales como Radiotelescopios

Naela Berenice Razo López, Julieta Díaz Azúa, Rocío Salas Medina, Kevin Uriel Solís Becerril, Aldrin Meliton Cervantes Contreras

Resumen

Este proyecto consistió en llevar a cabo la implementación de una antena parabólica satelital de plato para su uso didáctico y práctico como radiotelescopio con el fin de su uso didáctico y práctico por la comunidad universitaria en un futuro. Se construyó y ensambló una montura alt-azimutal y se diseñaron circuitos para el control del movimiento automático y limpieza de la señal adquirida. Se escribieron algoritmos para la limpieza y análisis de datos. De igual manera, se programó una interfaz gráfica capaz de comunicarse con los sensores, motores y bases de datos para controlar y visualizar los datos adquiridos por la antena en tiempo real.

Palabras Clave: radio, telescopio, astronomía, antena, satelital, dish.

Abstract

This project consisted on carrying out the implementation of a satellite antenna dish for its use as a radio telescope with the aim of its didactical and practical use by the university's community in the future. An alt-azimuth mount was built and circuits were designed to allow the control and its automatic movement as well as to clean the acquired signal. Algorithms for the cleaning and analysis of data were written, similarly, a graphical user interface capable of communicating with sensors, motors and databases was programmed to control and visualize the data acquired by the antenna in real time.

Key Words: radio, telescope, astronomy, antenna, satellite, dish.

Introducción

Desde sus inicios, la humanidad siempre se ha preguntado sobre el origen, evolución y funcionamiento del Universo dentro del que existe. La astronomía es una tradición milenaria, pues ha sido usada por la humanidad desde sus inicios, no sólo como una manera para tratar explicar el lugar que ocupa en el Universo, como ya se mencionó, sino también como herramienta para llevar el registro del tiempo (temporadas, épocas y estaciones) [3].

Vivimos en una era dominada por la tecnología, por lo que acercar demostraciones de cómo funcionan algunos de los instrumentos con los que hoy en día se estudia el Universo a la población y a la comunidad estudiantil es de suma importancia si se quiere y busca informar y crear consciencia en la sociedad sobre la importancia de la ciencia y, más aún, de la investigación como herramienta para la adquisición de nuevos conocimientos y desarrollo de nuevas tecnologías. Además, la astronomía es una ciencia multidisciplinaria, cuyo estudio requiere del desarrollo en diferentes áreas (muy diversas), haciendo del proyecto de desarrollo de telescopios prototipo (o a escala) la herramienta ideal para la práctica, fortalecimiento y aprendizaje de diversas e incluso nuevas habilidades para los estudiantes [1].

Radioastronomía

Con el desarrollo de nuevas tecnologías, hemos sido capaces de estudiar nuestro Universo desde diferentes "puntos de vista". En astronomía, esto se refiere al estudio de nuestro Universo desde diferentes longitudes de onda (Rayos-X, Infrarrojo, Visible, Radio y demás).

La radioastronomía es el estudio de la emisión de radio natural de fuentes celestes. El rango de radiofrecuencias o longitudes de onda está definido por la opacidad atmosférica y por el ruido cuántico en amplificadores coherentes. Juntos colocan el límite entre la radio y la astronomía de infrarrojo lejano con frecuencia. La banda de radio es muy amplia logarítmicamente: abarca las cinco décadas entre 10 MHz y 1 THz en el extremo de baja frecuencia del espectro electromagnético [4]. Casi todo emite ondas de radio en algún nivel, a través de una amplia variedad de mecanismos de emisión. Pocas fuentes de radio astronómicas están oscurecidas porque las ondas de radio pueden penetrar nubes de polvo interestelar y capas de gas neutro de espesor Compton. Debido a que sólo se puede observar óptico y radio desde el suelo, los radioastrónomos pioneros tuvieron la primera oportunidad de explorar un "universo paralelo" que contiene nuevos objetos inesperados como radiogalaxias, quásares y púlsares, además de fuentes muy frías como las nubes moleculares interestelares y la radiación de fondo cósmico de microondas del Big Bang mismo [7].

En comparación con la astronomía óptica, que es sensible al universo caliente, los radiotelescopios son capaces de sondear el universo frío. Con la radioastronomía, se pueden estudiar fenómenos astronómicos que a menudo son invisibles u ocultos en otras partes del espectro electromagnético [5].

Radiotelescopios

La construcción de un radio telescopio implica la participación de varias áreas tanto científicas como tecnológicas (astronomía, mecánica, computación, telecomunicaciones, etc.), lo que hace de este proyecto un poderoso y atractivo recurso didáctico y práctico [1].

El principio de operación de un radiotelescopio consiste en dos componentes básicos: una antena para captar las ondas de radio y un receptor para convertir dichas ondas a una señal eléctrica. El estilo más reconocido es la antena parabólica [6].

Las ondas de radio llegando de los astros inciden sobre el plato reflector, este, debido a su forma parabólica, enfoca las ondas en un punto central llamado el foco. Las impedancias de la antena, la línea de transmisión y la entrada al receptor deben estar acopladas convenientemente para minimizar las pérdidas. La antena produce un cierto filtrado de las frecuencias, pero es generalmente el receptor el que determina el ancho de banda espectral del radiotelescopio. En el receptor, las oscilaciones electromagnéticas son filtradas, amplificadas varios órdenes de magnitud y, finalmente, medidas a su salida [1].

Entre más grande sea la antena del radiotelescopio y más sensible sea el receptor, mayor será su capacidad para captar la máxima energía posible ya que las señales provenientes del espacio se muestran débiles debido a la distancia que deben recorrer y a las diversas capas de medio interestelar, planetario y atmósfera [4].

El tamaño de la antena no sólo está motivado por esto, sino, además, por la necesidad de mantener la resolución de las fuentes en unos parámetros aceptables [6]. La resolución de un telescopio es la capacidad que este tiene para separar dos objetos en una imagen, esto es, la distancia angular que debe haber entre dos estrellas próximas.

La resolución de un telescopio o un radiotelescopio tiene un límite determinado por el efecto de la difracción, el proceso de obtención de la imagen se dice que está limitado por la difracción, cuando el primer mínimo de la imagen de un punto de luz coincide con el máximo del siguiente, y que se ajusta a la siguiente fórmula: siendo θ el ángulo que define la resolución, donde λ es la longitud de onda y D es el diámetro del colector [5]. Esto es, cuanto más pequeña sea la relación λ / D, menor será el ángulo θ y por tanto mayor resolución tendrá el telescopio.

Otro criterio a tener en cuenta es la perfección (precisión) de la superficie de la antena. Dicha superficie debe presentar una perfección frente a

irregularidades o desviaciones de la forma como mínimo del orden de las longitudes de onda con las que se quiere trabajar, y en su preferencia menor que una décima parte de éstas [7]. En el caso de los radiotelescopios, el hecho de trabajar con longitudes de onda grandes, juega a favor en este aspecto.

Objetivos

General: llevar a cabo la implementación de una antena satelital para su uso en radioastronomía, a través del uso de la electrónica y programación, para su uso didáctico y práctico por parte de la comunidad universitaria.

Específicos:

- Adquirir conocimiento sobre la teoría (radiotelescopios, radioastronomía, astronomía general, electrónica, circuitos y programación) a través de la lectura para su aplicación en el proyecto.
- Diseñar, construir y ensamblar una montura alt-azimutal para una antena satelital de plato, adquiriendo las piezas en centros de corte láser para el movimiento controlado de la antena, de tal manera que sólo se necesiten controlar 2 ángulos (ejes).
- Diseñar la disposición de los circuitos mediante software para la optimización de espacio.
- Programar los componentes electrónicos para responder a comandos simples a través de Arduino que permitan el control del movimiento en ambos ejes.
- Diseñar una interfaz gráfica con Processing para establecer comunicación entre la electrónica y un computador de tal manera que un usuario cualquiera pueda controlar la antena y visualizar las señales captadas.
- Escribir algoritmos para el análisis de los datos obtenidos utilizando Python para la fácil visualización en interpretación de las observaciones en la etapa de post-procesamiento.

Metodología

Material:

- 1 Antena parabólica satelital
- 1 LNB sencillo
- 2 Motores a pasos NEMA-17
- 2 Poleas para banda dentada
- 8m Banda dentada gt-2mm
- 2 Controladores DRV8825
- 1 Buscador Satelital Analógico
- 5m Cable coaxial con salidas BNC
- 1 Fuente con al menos 3 salidas de 12V
- 1 Acelerómetro Adxl345 Gy-291
- 1 Ads1115 16 Bits
- 1 Lector De Memorias Sd H95
- 1 Arduino (Nano/Mega/UNO)
- 1 Bandeja Giratoria
- Cables de cobre y duponts
- Círculos de madera de diferentes tamaños y espesores
- Computadoras

Procedimiento:

1. Limpiar y pulir la antena comercial para eliminar las imperfecciones más notorias y significativas.
2. Pintar la antena de un color claro que ayude a reflejar una mayor cantidad de luz y recubra la superficie como protección.
3. Ensamblar la antena parabólica.



Figura 1: *Antena tipo offset para banda KU de 60 cm de diámetro con un LNB sencillo.*

4. Llevar a cabo la construcción de la montura alt-azimutal utilizando círculos de madera, bandas dentadas y una bandeja giratoria.

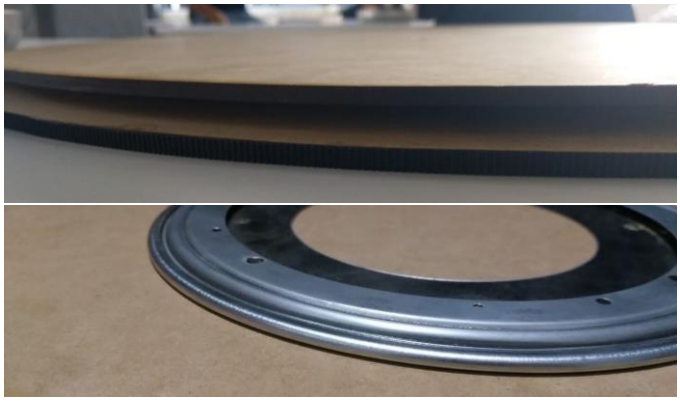


Figura 2: *Bandeja giratoria y círculos de madera adquiridos, cortados con láser, uno de ellos con banda dentada pegada en su orilla.*

5. Programación y armado de los circuitos para el control de los motores y sensores.

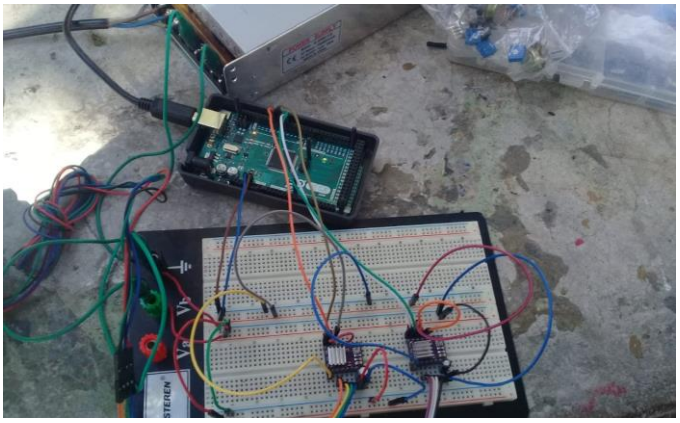


Figura 3: *Circuito para el control de los motores a pasos.*

6. Conectar el LNB al buscador satelital por medio del cable coaxial y alimentar utilizando la fuente.



Figura 4: *Buscador satelital con los cables del zumbador desconectados, para medir la diferencia de voltaje.*

7. Programar la interfaz de tal manera que mida la diferencia de voltaje en la salida del buscador satelital (conectando el Ads1115 con el circuito LNB-Buscador Satelital mejorando así la precisión de los datos) para la visualización de datos.
8. Configurar el lector de tarjeta SD para que la información se almacene ahí directamente.
9. Conectar la interfaz con la base de datos de Stellarium para la utilización de las coordenadas de los cuerpos celestes y el posicionamiento de la antena.
10. Escribir algoritmos para el análisis y limpieza de los datos obtenidos, para datos en dos dimensiones (imágenes) y curvas de luz.

Resultados

Interfaz

Utilizando Processing, se creó una interfaz capaz de comunicarse con Arduino para el control de los motores y sensores conectados a esta tarjeta. El programa usa la base de datos de Stellarium para obtener las posiciones del cuerpos celeste seleccionado y, en base a esto, ordenarles a los motores cuánto deben moverse, además de mostrar en los recuadros los datos que se están midiendo en tiempo real.

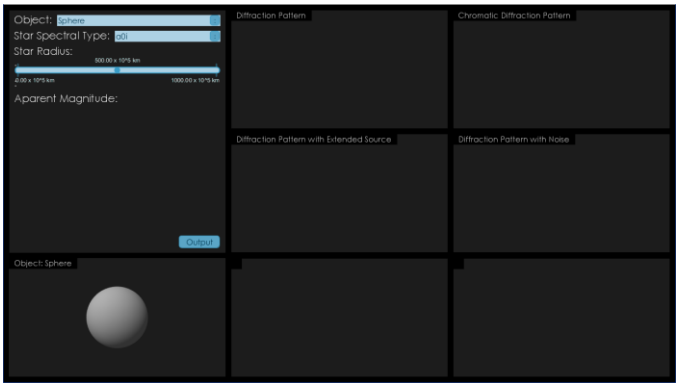


Figura 5: *Interfaz gráfica la el control de los ángulo, guardado de resultados y*

A continuación, se muestra una imagen formada utilizando como ejemplo la medición de una fuente puntual perfecta (enteramente gaussiana) en la

interfaz gráfica. Esta imagen se forma al tomar intensidad en cada punto del espacio barrido por el radio telescopio.

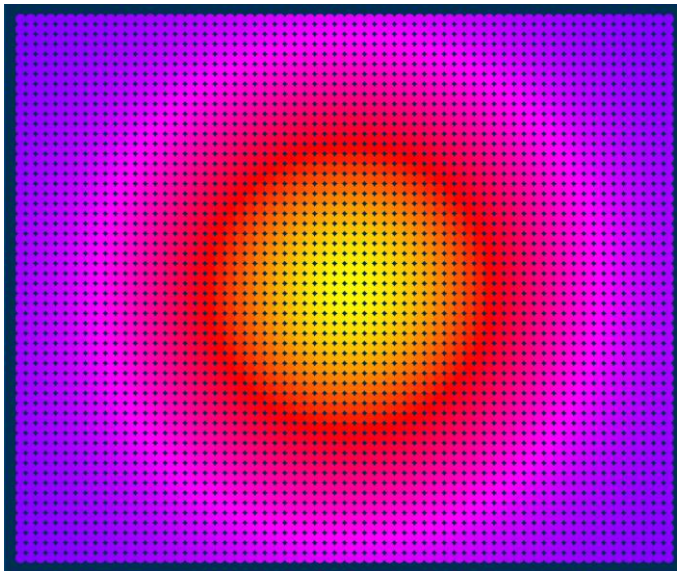


Figura 6: *Imagen formada por una fuente puntual (gaussiana) vista en la interfaz gráfica.*

Estos son datos muestra, tomando en cuenta la precisión del movimiento del radiotelescopio. El sol y la luna, por ejemplo, deberían verse cercanos a esto.

Caracterización

Caracterización de la antena haciendo un barrido de frecuencias, antes de que el plato fuera "pulido", limpiado y pintado de color blanco. La siguiente imagen nos muestra la absorción de ciertas frecuencias por la antena, las irregularidades son debidas a imperfecciones en la superficie del plato.

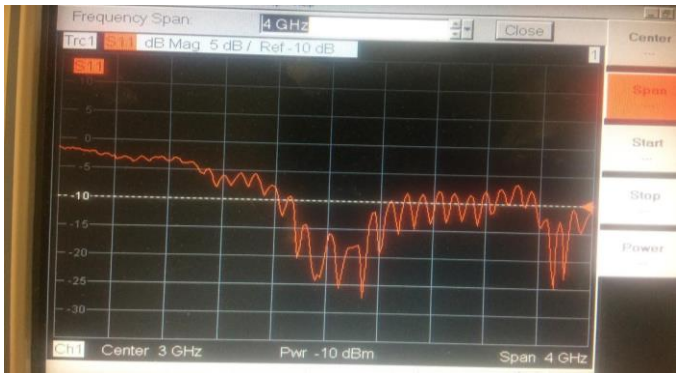


Figura 7: *Curva de caracterización de la antena al barrer un rango de frecuencias.*

Análisis de Datos

Los motores pueden moverse ambos a la vez con una precisión de aproximadamente 2'. Aunque lo más preciso es realizar un barrido sistemático de columnas y filas, existen opciones que economizan el tiempo de muestreo para adquirir la "imagen" (2D) de un objeto en radio. Estas opciones son hacer oscilar los motores con diferentes configuraciones, para generar un movimiento oscilatorio forzado generando figuras de Lissajous que barren el espacio del cielo con menor exactitud, pero mayor eficacia.

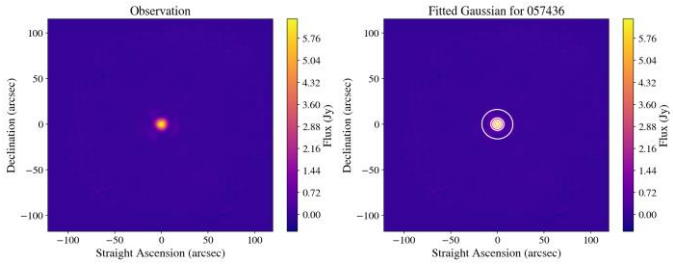


Figura 8: *Observación de una fuente puntual con un patrón de Lissajous.*

Para llevar a cabo la limpieza de imágenes, es necesario eliminar el ruido causado por fuentes exteriores, es por esto que es importe que la instrumentación electrónica sea lo suficientemente buena como para ser un buen primer filtro.

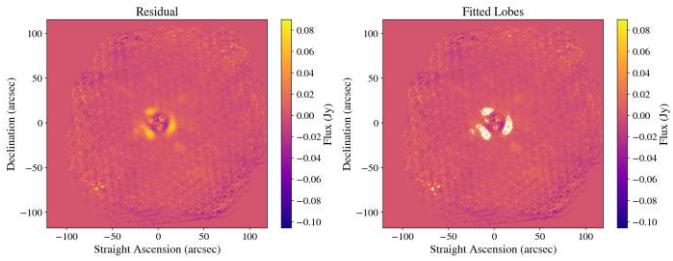


Figura 9: *Observación limpia con los lóbulos causados por la reflexión en el plato.*

Las figuras anteriores muestran un simple ejemplo del análisis de datos llevado a cabo con una observación hecha con el patrón oscilatorio en los motores. Al restar la gaussiana a la observación realizada, el patrón de Lissajous se vuelve obvio y los lóbulos pueden ser detectados para proceder a limpiar la imagen.

Discusión y Conclusiones

La radioastronomía es una rama importante de la astronomía actual, ya que continúa abriendo las puertas para el estudio de fenómenos no visibles en el universo. Una antena satelital, aunque pequeña y aparentemente simple, puede ser utilizada como una fuerte herramienta para la docencia y la práctica de habilidades de estudiantes, así como para hacer investigación sencilla.

La antena implementada, aunque una buena aproximación a un radiotelescopio, carece de precisión y de buena resolución, por lo que sólo algunos cuerpos celestes pueden ser estudiados con ella. Además, al preferir la portabilidad y maniobrabilidad de la antena, se deben comprometer forzosamente la calidad y resolución de los datos obtenidos.

Pruebas verdaderas aún faltan por llevarse a cabo, pues encontramos dificultades para llevar la antena al exterior debido al tamaño y peso de las fuentes necesarias par alimentar el sistema completo. Fijar los circuitos a uno o varios PCBs también sería una gran mejora pues aseguraría, hasta cierto punto. la preservación de la electrónica a pesar del movimiento.

Como trabajo a futuro se tiene la intención de incluir al montaje una pantalla LCD touch propia y un Raspberry Pi para el funcionamiento completamente autónomo del sistema. Ya que, aunque la interfaz fue diseñada para correr en sistemas Linux y Windows cualquiera (ya se encuentra compilado) sería quizás conveniente poder deshacerse de esas conexiones extras, además de que la funcionalidad, portabilidad y utilidad aumentarían demasiado al ser un sistema totalmente integral.

Agradecimientos

Agradecemos profundamente al programa de Verano Científico de la Universidad Autónoma de Querétaro por seleccionarnos como participantes, al Dr. Aldrin Cervantes Contreras por aceptarnos como sus alumnos durante el verano, así como al Dr. Stan Kurtz (IRyA), al Dr. Alejandro Aragón Zavala (ITESM) y al Dr. Abraham Luna (INAOE), investigadores en el área de radioastronomía y telecomunicaciones, por su apoyo con el material y diagramas necesarios para llevar a cabo este proyecto.

Referencias Bibliográficas

[1] Luna, A., Domínguez, G., Colombres, S., & Garista, G. (2013). “Manual de Construcción de un Radiotelescopio en la Banda de 12ghz para Usos Docentes”. Puebla, México: Coordinación de Astrofísica, INAOE. Consultado en: https://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1009/892/1/LunaCA1.pdf

[2] Nespral, G. (2018). “Tiny Radio Telescope”. Consultado el 16 de junio de 2018, en: hackaday.io/project/161556-tiny-radio-telescope

[3] UNESCO. (2016). “El Derecho a los Cielos Oscuros / The Right for Dark Skies”. Ciudad de México, México. En: https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000246131_mul

[4] Condon, J., & Ransom, S. (2016). “Essential Radio Astronomy”. Consultado el 8 de julio de 2019, from https://science.nrao.edu/opportunities/courses/era

[5] B. F. Burke and F. Graham-Smith (1997). “An Introduction to Radio Astronomy”. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

[6] James J. Condon, et al. (2016). “Essential Radio Astronomy”. Princeton University Press, Princeton, US.

[7] J.S. Hey. (1973). “The Evolution of Radio Astronomy”. Neale Watson Academic.

7 ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORES 2019

IDEAS JÓVENES PARA IMPULSAR EL CRECIMIENTO DEL PAÍS

II

Biología y Química

CONCYTEQ

Índice

Estudio de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR) de moléculas afines a la proteína de vesículas sinápticas 2A SV2A) y con actividad anticonvulsiva
Elizabeth Barajas Conejo, Amelia, Fabiola Chávez Elías, Rubén Antonio Romo Mancillas

Evaluación del PTPm en neuroblastoma mediante silenciamiento génico
Raúl Campos-Mendoza, L .Ruiz-Azuara, C. Mejía

Caracterización nutricional y nutracéutica de un subproducto de aguacate
Adriana Chico Peralta, Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Mecanismos epigenéticos que regulan genes inmunitarios en *Anopheles albimanus*.
José Héctor Gibrán Fritz García, Juan Daniel Luna Andón, Verónica Valverde-Garduño

Síntesis y modificación de polímeros para elaborar membranas IEC
Saúl Galván Cruz, Lilian Iraís Olvera Garza, Eugenia Josefina Aldeco Pérez

Tecno-funcionalidad de frijol procesado por calentamiento óhmico
Ingrid Italia Lima Becerra, M. Gaytán-Martínez, L. Mojica, M. G. Flavia. Loarca-Piña, M. Balbuena-Alonso

Efecto antiinflamatorio *in vivo* de una botana horneada de maíz y frijol común
Ivan Andrés Luzardo, Ocampo, Rocío Campos Vega, Luis Mojica, Elvira González de Mejía Jorge A. Acosta Gallegos, Guadalupe Loarca Piña

Cuantificación y caracterización de polen atmosférico en el norte de la ciudad de Santiago de Querétaro, Qro.
Fátima Ojeda Flores1 Luis Hernández-Sandoval

Síntesis y caracterización de recubrimientos de ZnS químicamente epositados
D.L. García Antonio, A.L. González Rostro, G. Hernández Pérez, M.A. Saldaña Salas, M.B. Ortuño López, G. Barreiro Rodríguez, J.M. Yáñez Limón, R. Flores Farías

AmiR*: ADC*-L2, genes involucrados en la tolerancia al cambio climático
Diana Pérez Alegría, Ana Isabel Chávez Martínez, Juan Francisco Jiménez Bremont.

***Pseudomonas:* diferencias en el potencial de deterioro de carne de pollo**
Cinthia E. Sáenz García, Pilar Castañeda, Serrano, Edmundo Mercado Silva, Estela Vázquez Barrio, Gerardo M. Nava Morales

Desarrollo de una bebida de frijol común enriquecida.
Vanessa Sánchez Quezada, G. F. Loarca Piña, M. Gaytán Martínez, M. L. Reyes Vega

Diseño de un nuevo agente antimicrobiano: nanopartículas verdes con extracto de *Argemone mexicana*
Diana Guadalupe Téllez de Jesús, José Antonio Cervantes Chávez, Ángel Ramón Hernández Martínez

Estudio de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR) de moléculas afines a la proteína de vesículas sinápticas 2A (SV2A) y con actividad anticonvulsiva

Barajas Conejo Elizabeth[1], Chávez Elías Amelia Fabiola[2,3], Romo Mancillas Rubén Antonio[3]

Resumen — La epilepsia es considerada como el tercer trastorno neurodegenerativo a nivel mundial que afecta al 1.5 % de la población, principalmente a niños y ancianos. Diversos estudios indican que la mayoría de los pacientes que padecen epilepsia viven en países en vías de desarrollo. A pesar de no contar actualmente con una cura, existen tratamientos, principalmente farmacológicos, que permiten controlar las crisis epilépticas. La elección de un tratamiento adecuado depende del tipo de epilepsia que se presente y del paciente, ya que la respuesta a los fármacos antiepilépticos (FAE's) varía mucho entre las personas. En los últimos años se ha presentado gran interés en los fármacos que interactúan con la proteína de las vesículas sinápticas 2A (SV2A), esto debido a su efectividad y a los escasos efectos adversos que producen. Es por ello, que se realizó una búsqueda de las moléculas reportadas que interactúan con la proteína SV2A y presentan un efecto anticonvulsivo, para así con ayuda del método computacional QSAR poder proporcionar información sobre las características que son esenciales para que un ligando lleve a cabo interacción con esta proteína y se ejerza de un posible efecto anticonvulsivo. Es por ello por lo que en este trabajo se reporta la característica de los campos electrónicos y estéricos del ligando con valores de dosis efectiva media reportada (ED_{50}), al igual que un modelo con una regresión lineal (r^2) de 0.9988, así como una validación cruzada con un valor de 0.971. De igual forma se proporciona los valores de unión de los fármacos de referencia (levetiracetam y brivaracetam) comparados contra los ligandos elegidos para su análisis. Así como un esquema general donde se observa la interacción de los residuos de aminoácidos de la proteína SV2A.

Palabras clave — Epilepsia, QSAR, SV2A, Levetiracetam

Abstract- Epilepsy is considered the third neurodegenerative disorder worldwide that affects 1.5% of the population, mainly children and the elderly. Several studies indicate that most patients suffering from epilepsy live in developing countries. Despite not currently having a cure, there are treatments, mainly pharmacological, that allow to control epileptic seizures. The choice of an appropriate treatment depends on the type of epilepsy present and the patient, since the response to antiepileptic drugs (AED'S) varies greatly among people. In recent years there has been great interest in drugs that interact with the synaptic vesicle protein 2A (SV2A), this due to its effectiveness and the few adverse effects they

[1] Universidad Autónoma de Querétaro
Químico Farmacéutico Biólogo
Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P. 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro.
elizabethbarajas48@gmail.com
[2] Universidad Autónoma de Querétaro
Maestra en Ciencias Químico Biológicas
Cerro de las Campanas s/n C.P. 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro.
amefaby0705@gmail.com
[3]Universidad Autónoma de Querétaro
Doctor en Ciencias Químicas
Cubículo 8, edificio 10. Facultad de Química. Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P. 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro.
ruben.romo@uaq.mx

produce. For this reason, a search was made of the reported molecules that interact with the SV2A protein and have an anticonvulsant effect, so that with the help of the QSAR computational method, it is possible to provide information on the characteristics that are essential for a ligand to carry out interaction with this protein and presentation a possible anticonvulsant effect. That is why in this work the characteristic of the electronic and steric fields of the ligand with better biological activity ED_{50} is reported, as well as a model with a linear regression (r^2) equal to 0.9988, as well as a cross validation thereof equal to 0.971. Similarly, the binding values of the reference drugs (levetiracetam and brivaracetam) compared to the ligands chosen for analysis are provided. As well as a general scheme where the interaction of amino acid residues of the SV2A protein is observed.

Keywords - Epilepsy, QSAR, SV2A, Levetiracetam

INTRODUCCIÓN

La epilepsia es considerada por la OMS como el tercer trastorno neurológico crónico a nivel mundial, afectando alrededor de 50 millones de personas, de los cuales la mayoría pertenecen a países en vías de desarrollo. En Latinoamérica, la prevalencia es de 14 por cada 1000 habitantes, mientras que en México se estima en 18 por cada 1000 personas, representando aproximadamente dos millones de mexicanos. Este trastorno se caracteriza principalmente por la aparición de crisis epilépticas espontáneas recurrentes causadas por una alteración en la actividad eléctrica del cerebro. Donde 6 de cada 10 pacientes presentan una epilepsia idiopática, es decir, su causa no se encuentra identificada. No obstante, las crisis pueden ser controladas con el tratamiento adecuado, proporcionando así una mejor calidad de vida. Uno de los tratamientos de primera elección es la farmacoterapia crónica; sin embargo, a pesar de contar con anticonvulsivos de segunda y tercera generación, es necesario la búsqueda continua de nuevas opciones destinados a los pacientes que presentan resistencia a los fármacos existentes o baja tolerabilidad. En los últimos años los fármacos levetiracetam (LEV) y brivaracetam (BRI), han destacado entre los otros FAE's, debido a su efecto farmacológico cercano al ideal y a su mecanismo de acción, el cual consiste en la interacción con la proteína de vesículas sinápticas 2A (SV2A), cuyo mecanismo aún no es elucidado. Es por ello que se realizó la búsqueda de diversas moléculas que interaccionen con SV2A, para así proporcionar información que podría utilizarse para relacionar cómo es que los campos electrónicos y estéricos influyen de manera directa con afinidad por SV2A y la actividad anticonvulsiva, para ello se empleó la técnica de relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR), para seleccionar los mejores modelos y a las vez las mejores moléculas que puedan servir como plantillas para futuras modificaciones estructurales.

I. OBJETIVOS

Analizar los campos electrónicos y estéricos importantes en los diferentes ligandos a fines a la proteína SV2A para así identificar factores estructurales que son esenciales para la interacción entre el complejo ligando-proteína, tomando como base el parámetro ED_{50}.

II. METODOLOGÍA

Para la creación de una base de datos interna de trabajo, se llevó a cabo la búsqueda de artículos relacionados a la proteína SV2A y los ligandos a fines, utilizando los siguientes buscadores: Medline a través de *Pubmed, Scopus y Web of Science, PubChem, DrugBank* sin restricción de idioma. De ellos se seleccionó de manera específica la siguiente información: nombre y estructura de la molécula, modelo biológico en el que fue probado, valores de afinidad, concentración inhibitoria media y dosis efectiva media de cada uno (Ki, pKi, pIC_{50}, ED_{50}), así mismo se asignó una clave interna a cada molécula (ligando) para un mejor y fácil procesamiento.

Posteriormente se seleccionaron las moléculas cuya actividad biológica se registró como ED_{50}.

Estudio de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR)

Las moléculas reportadas con valores de ED_{50} fueron dibujadas con el programa *Maestro de Schödinger 2019-2,* una vez preparadas las estructuras tridimensionales se importaron al programa *Open3DAling* para el alineamiento de los ligandos. Después se seleccionó el mejor ligando que sirviera como plantilla. Utilizando la interfaz del programa *Open3DQSAR,* se delimitó el tamaño de la malla para realizar el cálculo de los descriptores, mallas electrostáticas y estéricas.

Se establecieron grupos de prueba (Experimentos) los cuales se delimitaron seleccionando el 28% de los datos totales mediante números aleatorios para cada grupo. La validación de los experimentos creados se realizó usando mínimos cuadrados parciales y validación cruzada empleando LMO y LOO. De los 4 experimentos obtenidos se eligió el mejor, del cual se analizaron los datos estadísticos, así como la visualización de los modelos.

Acoplamiento molecular (Docking)

Se seleccionaron 4 moléculas analizadas por el modelo QSAR para analizarlas mediante acoplamiento molecular (docking) con la finalidad de identificar las interacciones que se presentaran entre los ligandos y la proteína SV2A. Esto se realizó empleando los programas *PyMOL, AutoDock 4.2.6* y *Maestro Schödinger2019-2.* Con el programa *Autodock 4.2.6* se adicionaron los átomos de hidrógeno, se detectaron los centros de torsión, los enlaces rotables en los ligandos y se preparó la proteína SV2A. Se seleccionó toda la región transmembranal para la búsqueda de sitios de unión en la proteína SV2A. Posteriormente usando *AutoDock 4.2.6* se buscaron las conformaciones de los ligandos a evaluar empleando el algoritmo Lamarckiano con un tamaño de población de 150, 5 millones de evaluaciones y 20 corridas. De los modelos adquiridos se identificó la energía de unión ($\Delta G_{unión}$). La visualización de los diagramas se realizó utilizando *PyMOL* y *Maestro Schödinger 2019-2.*

III. RESULTADOS

Una vez realizada la búsqueda de moléculas reportadas con actividad biológica con la proteína SV2A se logró crear una base de datos de 186 moléculas, las cuales fueron agrupadas de acuerdo con su Ki, pKi, pIC_{50}, ED_{50}. Para este trabajo se optó por la evaluación de moléculas con ED_{50}, dando así una base total de trabajo de 44 ligandos (Tabla 1) cuyas estructuras base se pueden observar en las figuras señaladas de la 1 a la 4.

Tabla 1 Ligandos con actividad biológica ED_{50}

No	Ligando	Base	R	R_1	R_2	ED_{50}
1	A17_C4	Fig. 1	H	CH_3	H	42.83
2	A17_C5	Fig. 1	H	CH_3	2-Cl	74.49
3	A17_C6	Fig. 1	H	CH_3	3-Cl	81.95
4	A17_C7	Fig. 1	H	CH_3	4-Cl	43.58
5	A17_C8	Fig. 1	H	CH_3	2-F	50.29
6	A17_C9	Fig. 1	H	CH_3	3-F	77.43
7	A17_C12	Fig. 1	H	CH_3	3-CF_3	92.37
8	A17_C13	Fig. 1	H	CH_3	4-CF_3	54.50
9	A17_C15	Fig.1	H	C_2H_5	H	90.26
10	A17_C16	Fig.1	H	C_2H_5	2-Cl	76.39
11	A17_C17	Fig.1	H	C_2H_5	3-Cl	78.85
12	A17_C18	Fig.1	H	C_2H_5	4-Cl	50.77
13	A17_C19	Fig.1	H	C_2H_5	2-F	65.71
14	A17_C20	Fig.1	H	C_2H_5	3-F	47.39
15	A17_C21	Fig.1	H	C_2H_5	4-F	83.43
16	A17_C23	Fig.1	H	C_2H_5	3-CF_3	77.37
17	A17_C24	Fig.1	H	C_2H_5	4-CF_3	80.37
18	A17_C25	Fig.2	H	C_2H_5	-	150.00
19	A17_C26	Fig.1	CH_3	CH_3	H	78.30
20	A17_C27	Fig.1	CH_3	CH_3	2-Cl	85.85
21	A17_C28	Fig.1	CH_3	CH_3	3-Cl	90.26
22	A17_C30	Fig.1	CH_3	CH_3	2-F	80.45
23	A17_C31	Fig.1	CH_3	CH_3	3-F	129.64
24	A17_C35	Fig.1	CH_3	CH_3	4-CF_3	150.00
25	A6_C9A_T2	Fig.3	Br	H	H	18.00
26	A6_C9B_T2	Fig. 3	CF_3	H	H	56.00
27	A6_C9C_T2	Fig. 3	Cl	H	H	5.00
28	A6_C9D_T2	Fig. 3	F	H	H	1000.0
29	A6_C9E_T2	Fig. 3	H	H	F	80.00
30	A6_C9F_T2	Fig. 3	H	Cl	H	640.00
31	A6_C9G_T2	Fig. 3	CH_2CH_3	H	H	84.00
32	A6_C9I_T2	Fig. 3	CH_3	H	H	130.00
33	A6_C9U_T3	Fig.4	Cl	Et	H	42.00
34	A6_C9C_T3	Fig.4	Cl	H	H	5.00
35	A6_C9A_T3	Fig. 4	Br	H	H	18.00
36	A6_C9R_T3	Fig. 3	I	H	H	5.00
37	A6_C9Q_T3	Fig. 3	Cl	H	F	80.00
38	A6_C9P_T3	Fig. 3	NO_2	H	H	1000.0 0

39	A6_C9O_T3	Fig. 3	Br	H	Br	8.00
40	A6_C9M_T3	Fig. 3	CH_3	CH_3	H	320.00
41	A6_C9L_T3	Fig. 3	CH_3	H	CH_3	1000.00
42	A6_C9K_T3	Fig. 3	OCF_3	H	H	120.00
43	A6_C9J_T3	Fig. 3	$(CH_2)_2CH_3$	H	H	320.00
44	A6_C9H_T2	Fig. 3	$CH(CH_3)_2$	H	H	320.00

Fig. 1 Estructura base de los ligandos 1-17,19-24

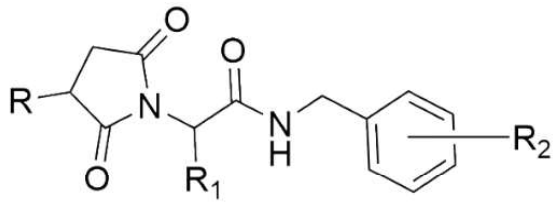


Fig. 2 Estructura base del ligando 18

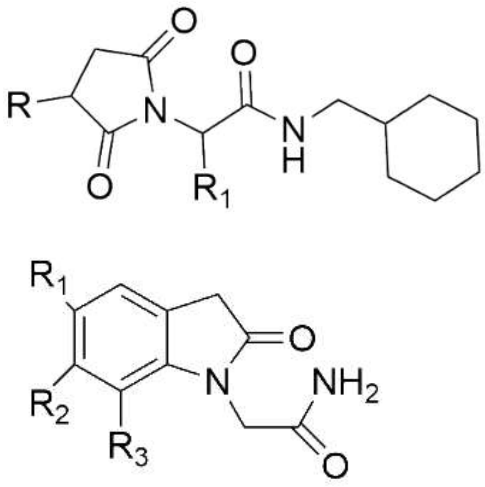


Fig. 3 Estructura base de los ligandos 25-32,36-44

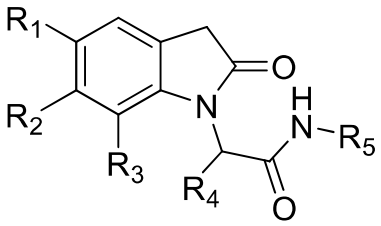


Fig. 4 Estructura base de los ligandos 33-35

Del alineamiento se obtuvo que la mejor conformación corresponde al ligando No. 20 (Fig.5) con una actividad biológica reportada de 85.85 $mmolkg^{-1}$.

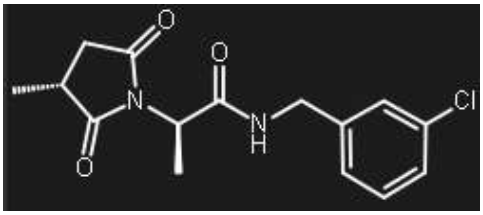


Fig. 5 Ligando No. 20 usado como plantilla

De los experimentos evaluados se encontró que el mejor corresponde al E3 tomando en consideración los valores estadísticos obtenidos del análisis QSAR. Dentro de este experimento el mejor modelo fue al nombrado como M5, marcado con color azul (Tabla 2).

Tabla 2 Validación estadística del análisis QSAR

	Experimento	**Modelo**	**SDEC**	r^2	**F-test**	**Validación cruzada LOO**		
						SDEP	q^2	r^2 **(pred)**
	E1	M5	4.828	0.995	964.887	9.558	0.980	0.981
	E2	M5	5.448	0.993	533.229	9.878	0.967	0.980
	E3	M5	2.210	0.998	1550.643	14.345	0.971	0.958
	E4	M5	3.968	0.995	86.254	18.935	0.894	0.849

Una vez realizada la validación cruzada se observó que el experimento 3, modelo 5 cuenta con la mejor regresión lineal (r^2= 0.9988), así como una validación cruzada mayor a 0.5 (q^2= 0.971), además de que los 4 experimentos se observan un valor de r^2 (pred) similar a r^2. Estos resultados arrojan que el M5 del E3 presenta una mejor actividad en comparación con los otros experimentos. Los alineamientos de todos los ligandos se pueden observar en la figura 6, en cambio la interacción de los campos estéricos y electrónicos se ilustra en la figura 7.

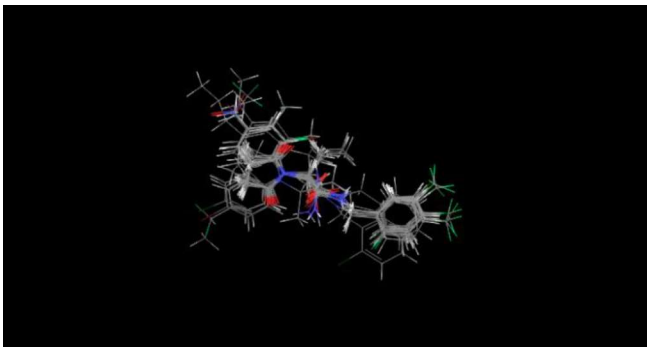


Fig. 6 Alineamiento de los ligandos seleccionados

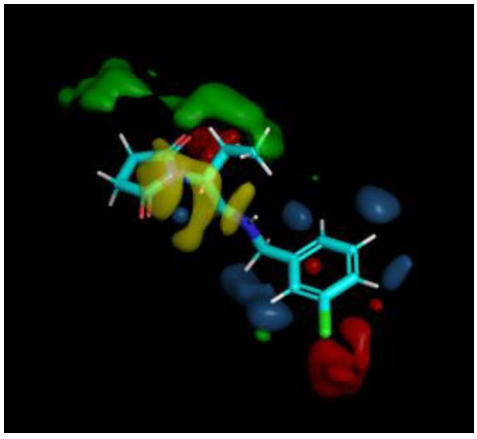
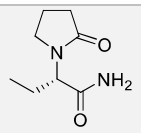
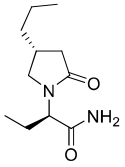
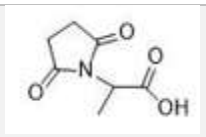
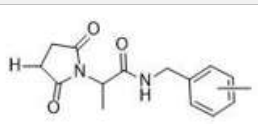
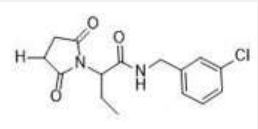
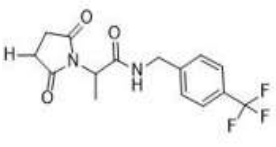


***Fig. 7 Experimento 3 campos estéricos y electrónicos**. En rojo se representa la densidad electrónica negativa y en azul la densidad electrónica positiva. En amarillo los campos estéricos negativos y en verde los campos estéricos positivos*

Acoplamiento molecular (docking)

Para el estudio de acoplamiento molecular se evaluaron 4 ligandos afines a SV2A y analizados previamente por QSAR. Aunado a esto se utilizaron como controles levetiracetam (Lev) y brivaracetam (Briv), fármacos utilizados en el tratamiento de la epilepsia. Como resultado de este análisis se reportan los valores de energía de unión de los fármacos de referencia y los ligandos analizados. Así mismo, se compararon las interacciones que se llevaron a cabo con los residuos de aminoácidos de la proteína SV2A, esto se puede observar en la figura 8.

Tabla 3. Energías de unión

Ligando	Estructura	Energía de unión (kcal/mol)
Lev		-3.1
Briv		-3.13
A17C1		-3.14
A17C4		-4.06
A17C17		-4.46
A17C24		-5.33

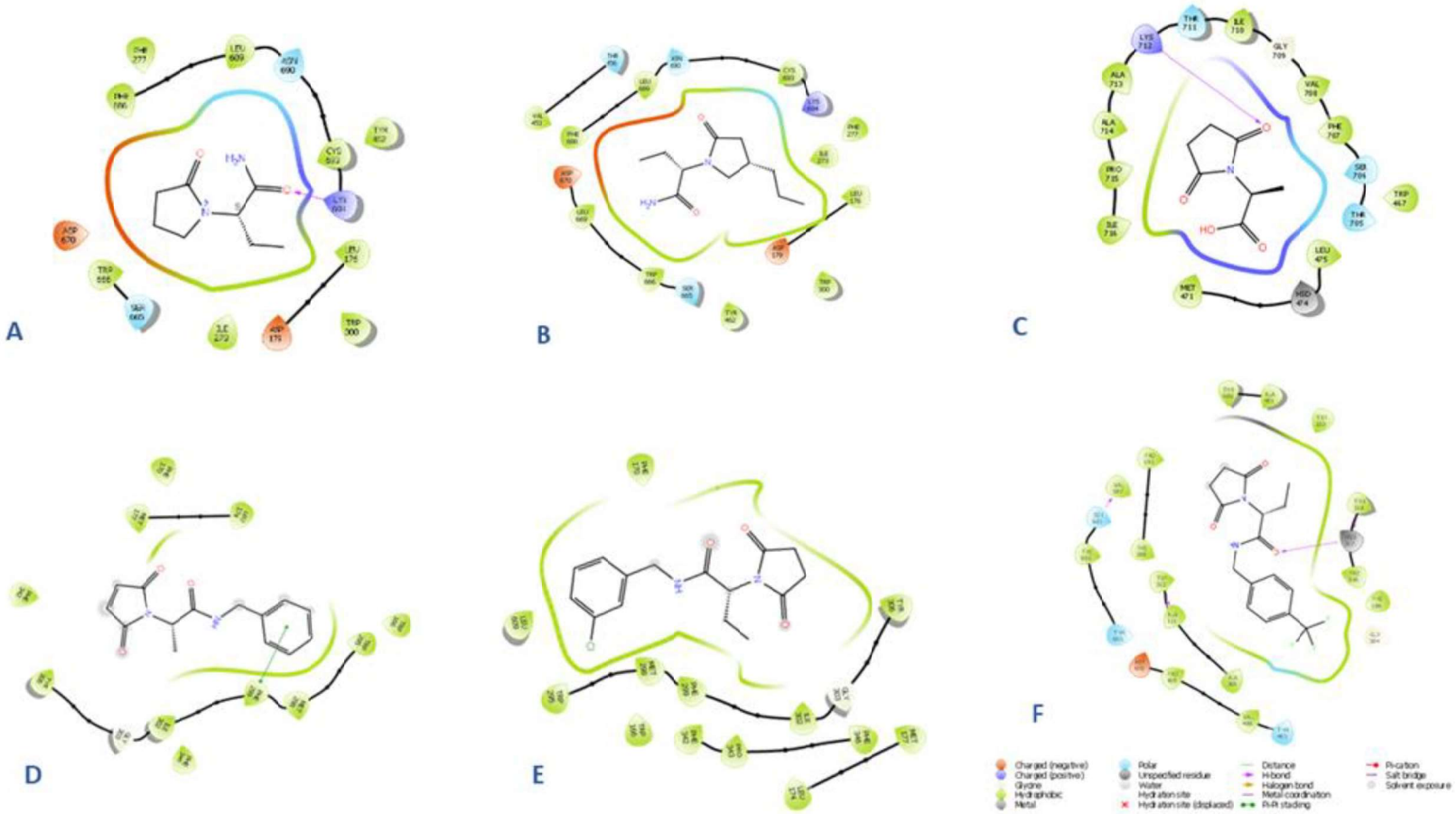


Fig. 8 Diagramas de interacción*. A) LEV B) BRIV C) A17C1 D) A17C4 E) A17C17 F) A17C24. Las interacciones mayoritarias presentes en los ligandos evaluados por acoplamiento molecular, poseen la característica hidrofóbica. En el caso de A17C1 (C), se observan interacciones formadoras de puentes de hidrógeno con el residuo L712, además de presentar interacciones con residuos polares como S706 y G709. En cambio, para el caso de la molécula A17C4 (D), se puede observar una interacción tipo π-π entre el residuo de F299 y el anillo aromático presente en la estructura. Analizando a detalle los diagramas de interacción no se observa similitud entre los residuos de aminoácidos reportados para levetiracetam, puesto que, para el caso de D y E, los residuos similares entre estas estructuras fueron F170, F299 y G303, de los cuales solo el residuo G303 es similar con LEV.*

VI. CONCLUSIONES

Mediante el análisis de QSAR se lograron identificar los campos electrónicos y estéricos que son esenciales para llevar a cabo la interacción entre la proteína SV2A y los ligandos afines a la misma. Estos resultados, en conjunto con el análisis de acoplamiento molecular (docking) ayudaron a corroborar la necesidad de contar con interacciones de naturaleza hidrofóbica, asimismo se debe disponer de grupos formadores de puentes de hidrogeno en el ligando. Al considerar los resultados presentados se podrían proponer nuevas estructuras con sustituyentes que cumplan con las características mencionadas anteriormente, esto con la finalidad de mejorar su efectividad anticonvulsiva.

VII. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Querétaro por impulsar este tipo de programas que nos permite conocer de cerca el área de investigación. Quedo especialmente agradecida con el Dr. Rubén Antonio Romo Mancillas que me abrió las puertas de su grupo de trabajo, además de su apoyo y seguimiento durante mi estancia en su laboratorio. Mi más sincero agradecimiento a la Mtra. Amelia Fabiola Chávez Elías, por su constante asesoramiento de principio a fin en este proyecto, por su infinita paciencia, dedicación, confianza y en especial por creer en mí.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Balestrini, S., & Sisodiya, S. (2018). Pharmacogenomics in epilepsy. Neuroscience Letters, 667, 27-39. doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.014.

Carrizosa moog, jaime. (2007). Prevalencia, incidencia y brecha terapéutica en la epilepsia. Iatreia , 20 (3), 282-296

Galanopoulou, A., Buckmaster, P., Staley, K., Moshé, S., Perucca, E., & Engel, J. et al. (2012). Identification of new epilepsy treatments: Issues in preclinical methodology. Epilepsia, 53(3), 571-582. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03391.x.

Kaminski, R., Matagne, A., Leclercq, K., Gillard, M., Michel, P., & Kenda, B. et al. (2008). SV2A protein is a broad-spectrum anticonvulsant target: Functional correlation between protein binding and seizure protection in models of both partial and generalized epilepsy. Neuropharmacology, 54(4), 715-720. doi: 10.1016/j.neuropharm.2007.11.021

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexiblity. J. Computational Chemistry 2009, 16: 2785-91.

Evaluación del PTPm en neuroblastoma mediante silenciamiento génico

Campos-Mendoza R[1], Ruiz-Azuara L[2], Mejía C[3].

Resumen

El neuroblastoma (NB) es el tumor sólido extracraneal infantil más frecuente a nivel mundial. Uno de sus estadios (4s) presenta regresión espontánea asociada a la apoptosis. Los tratamientos contra el NB han resultado ineficientes, llevando a la generación de nuevos compuestos como las Casiopeínas® (Cas), compuestos de cobre(II) con actividad antineoplásica tanto *in vitro* como *in vivo*. Su mecanismo de acción incluye el desacople de la cadena respiratoria, formación de aductos en fracciones nitrogenadas de DNA, generación de especies reactivas de oxígeno (ERO`s) y en consecuencia, ocurre la apoptosis por vía mitocondrial. Para que la apoptosis intrínseca ocurra es necesaria la activación del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm), el cual permite el paso no-selectivo de diversas moléculas como Bax, Bcl-2, citocromo C, Ca^{2+} y las ERO´s. Sin embargo, hasta el momento se desconoce cuáles son las moléculas que pueden inducir la activación del PTPm. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue silenciar la expresión de Bax y Bcl-2 y evaluar su relación con el PTPm. Para llevar a cabo este objetivo, la línea celular SK-N-SH fue tratada con CasIIIia. Nuestros resultados mostraron que el silenciamiento génico presentó rendimientos de transfección >60%, y una estabilidad de transfección en pases posteriores (10), demostrando que el silenciamiento no compromete la viabilidad celular y ésta se mantiene a través del tiempo. Adicionalmente evaluamos la producción de H_2O_2 y O^{2-} y observamos que solo en ausencia de Bax hay un decremento de ERO´s.

Palabras clave. Neuroblastoma, Bax, Bcl-2, Casiopeínas, PTPm, CRISPR/Cas9

Summary

Neuroblastoma (NB) is the most common childhood extracranial solid tumor worldwide. One of its stages (4s) presents spontaneous regression associated with apoptosis. NB treatments have inefficient results, leading to the generation of new compounds such as Casiopeínas® (Cas), copper(II) compounds with antineoplastic activity both *in vitro* and *in vivo*. Its mechanism of action includes the decoupling of the respiratory chain, formation of adducts in nitrogen fractions of DNA, generation of reactive oxygen species (ROS) and consequently apoptosis occurs by mitochondrial route. In order for intrinsic apoptosis to occur, activation of the mitochondrial permeability transition pore (mPTP) is necessary, which allows the non-selective passage of various molecules such as Bax, Bcl-2, cytochrome C, Ca^{2+} and ROS. However, until now it is unknown are the molecules that can induce the activation of mPTP. That is why the objective of this work was to silence the expression of Bax and Bcl-2 to evaluate their relationship with the mPTP. To accomplish this objective, the SK-N-SH cell line was treated with CasIIIia. Our results indicated that gene silencing showed transfection yields >60%, and a transfection stability in subsequent passes (10), demonstrating that silencing doesn´t compromise cell viability and is maintained over time. Additionally, we evaluate the production of H_2O_2 y O^{2-} and observe that only in the absence of Bax there is a decrease in ROS.

Key words. Neuroblastoma, Bax, Bcl-2, Casiopeínas, mPTP, CRISPR/Cas9

1. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Medicina. raul_cm_16 @hotmail.com
2. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. lenar701@gmail.com
3. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ciencias Naturales. maria.c.mejia@uv.es

Introducción

El neuroblastoma (NB) es el tumor sólido extracraneal con mayor prevalencia (10-15%) en infantes entre los 0 y 5 años de edad (Valter, Zhivotovsky, & Gogvadze, 2018), además de que representa el 50% de todos los tumores malignos diagnosticados en lactantes a nivel mundial (Teeara et al., 2012). Este tumor involuciona de manera espontánea en el 47% de los casos, presumiblemente por apoptosis mitocondrial (van Noesel, Hählen, Hakvoort-Cammel, & Egeler, 1997), por lo que es importante potenciar esta vía. El tratamiento utilizado con mayor frecuencia para este tumor consiste en una terapia multimodal intensiva, lo que resulta en una supervivencia menor al 50%, especialmente en pacientes con estadios III y IV de acuerdo con la clasificación del Children´s Oncology Group (Tolbert, Coggins, Maris, & Maris, 2017).

Es por esto que en la búsqueda de nuevos compuestos antitumorales surgen las Casiopeínas, una familia de compuestos con centro activo de cobre(II) que han mostrado actividad citotóxica y citostática en experimentos tanto *in vivo* (Bravo-Gómez, García-Ramos, Gracia-Mora, & Ruiz-Azuara, 2009) como *in vitro* (García Ramos et al., 2017). El mecanismo de acción de estos compuestos incluye el desacople de la cadena respiratoria por la interacción con succinato, piruvato y 2-oxoglutarato deshidrogenasa, así como la interferencia en la replicación del DNA mediante la formación de aductos con fracciones nitrogenadas (Marín-Hernández et al., 2012), incremento de ERO`s tales como H_2O_2 y O^{2-}, disminución de los niveles de glutatión y disfunción mitocondrial (Kachadourian, Brechbuhl, Ruiz-Azaura, Gracia-Mora, & Day, 2011), acompañada de la expresión de Bax, Bcl-2 y citocromo C (García Ramos et al., 2017) desencadenando la apoptosis mitocondrial. Para que ocurra la apoptosis intrínseca, se requiere de una estructura reguladora denominada poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm), encargada de activar el paso de moléculas a través de la membrana mitocondrial (Jonas, Beutner, Mnatsakanyan, Alavian, & Haven, 2016). Sin embargo, hasta el momento se desconoce cuáles son las moléculas responsables de la activación del PTPm.

Es por ello que el NB tratado con CasIIIia (Fig.1) es un buen modelo de estudio para entender este proceso. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue realizar el silenciamiento génico de Bax y Bcl-2.

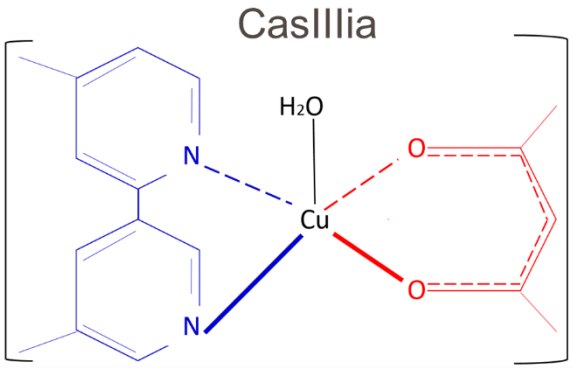


Figura 1. Estructura química de la CasIIIia. En color azul se presenta la bipiridina, en color rojo se observa el acetilacetonato y en el centro de la molécula se ubica el cobre(II).

Metodología

Cultivo celular

En placas de 6 pozos se sembraron $2x10^5$ células de la línea celular SK-N-SH (American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, USA) por pozo, en 2ml de medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM, Sigma Chemical), suplementado con 10% de SFB y 1% de *Antibiotic-Antimycotic* (Anti-Anti, Sigma Chemical). Las placas se incubaron a 37ºC en incubadora de CO_2 (5%) y humedad constante (35%), hasta alcanzar una confluencia ≥80%.

Diseño de las secuencias gRNA para CRISPR/Cas9

Se realizó el diseño de las secuencias gRNA mediante el software CHOP-CHOP (https://chopchop.cbu.uib.no/, consultado el 20 de septiembre del 2018), obteniendo las siguientes secuencias gRNA:

Bax: ACTCGGAAAAAGACCTCTCG

Bcl-2: GGAGAACAGGGTACGATAAC

Ambas secuencias se insertaron en el vector comercial de silenciamiento génico (ORIGENE, Maryland, USA).

Silenciamiento de Bax y Bcl-2 mediante CRISPR/Cas9

Veinticuatro horas previas al silenciamiento, se realizó cambio de medio a toda la placa. En un tubo tipo Eppendorf de 2 ml se agregó 1µg del vector *Knock out* gRNA (ORIGENE, Maryland, USA) en 250µl de medio Opti-MEM (Thermofisher Scientific) mezclando suavemente. Después se agregó 1µg de DNA donador (conteniendo el gen de resistencia a ampicilina), mezclando suavemente. Luego se agregaron 2µl del reactivo *Lipofectamine* (Thermofisher Scientific), dejando incubar la mezcla durante 15 min a temperatura ambiente. Pasados los 15 min se agregaron 42 µl de la mezcla a cada pozo y la placa se sometió a agitación. Se incubó por 48h en condiciones estándar de cultivo, realizando pases cada 3 días durante 3 semanas, para asegurar la integración del DNA donador.

Evaluación del silenciamiento

Para seleccionar las células transfectadas, las células SK-N-SH sometidas a transfección se cultivaron bajo las condiciones previamente descritas y se adicionaron con 328 µg/ml (CL) de ampicilina. El rendimiento de la transfección se determinó como la relación del número total de células en medio selectivo sobre el número de células iniciales multiplicado por 100.

Tratamientos

Las células de NB fueron tratadas con CasIIIia por triplicado, en las condiciones descritas por García-Ramos et al. 2017.

Evaluación de ERO's

En placas de 96 pozos se cultivaron $2x10^4$ células SK-N-SH con y sin silenciamiento, bajo las condiciones previamente descritas. Posteriormente se lavaron con tampón de fosfato (PBS) 1X, y se determinó la concentración de O^{2-} mediante el reactivo MitoSox™ (Molecular Probes) incubando por 10 min. El H_2O_2 se determinó mediante AmplexRed® (Invitrogen) en ausencia de luz a 37°C, por 30min. En ambos casos los productos de oxidación se detectaron mediante fluorescencia, de acuerdo a las siguientes condiciones Ex/Em 510/580 nm para MitoSox™ y Ex/Em 530/590 nm para AmplexRed®.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron de acuerdo a la media ± desviación estándar. Todas las determinaciones corresponden a tres réplicas de experimentos independientes, y las diferencias entre los grupos se evaluaron por medio del análisis de varianza (ANOVA) con una significancia de $p<0.05$. Para el análisis estadístico se utilizó el software Graphpad PRISM v7.0.0.

Resultados

Silenciamiento de Bax y Bcl-2

Las células silenciadas muestran resistencia a la ampicilina, tal como se observa en las Figuras 2 y 3, además de mantener dicha resistencia hasta 10 pases posteriores a la transfección.

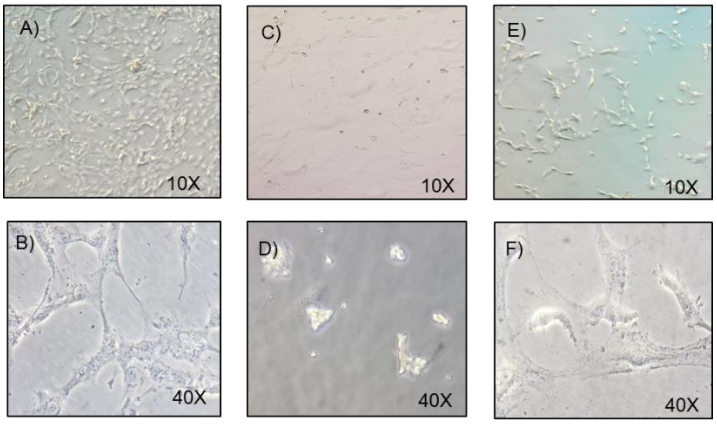


Figura 2. Evaluación del silenciamiento de Bax en células SK-N-SH. A-B) Células control; C-D) Células en medio selectivo; E-F) Células transfectadas en medio selectivo con un rendimiento 73 ± 4 %.

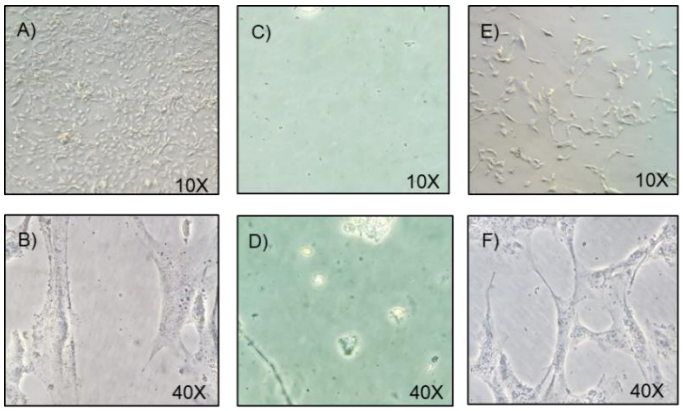


Figura 3. Evaluación del silenciamiento de Bcl-2 en células SK-N-SH. A-B) Células control; C-D) Células en medio selectivo; E-F) Células transfectadas en medio selectivo con un rendimiento 66 ± 3.6%.

Generación de ERO´s mediante CasIIIia

En células control el tratamiento con cisplatino incrementó 3 veces la concentración de peróxido de hidrógeno, mientras que el tratamiento con CasIIIia lo duplicó. Por su parte, todas las células Bax *KO* permanecieron sin cambio. Mientras que todas las células Bcl-2 *KO,* mostraron un incremento de H_2O_2 similar al grupo no silenciado (Fig. 3).

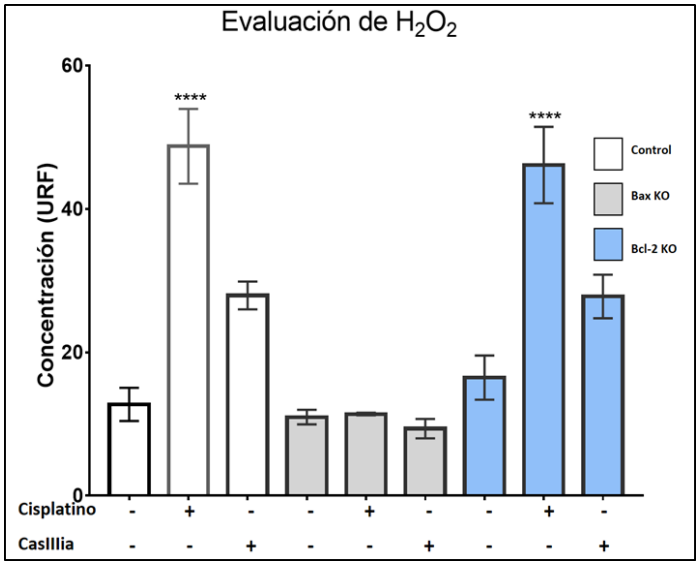


Figura 4. Concentración de H_2O_2 en células Bax *KO* y Bcl-2 *KO* tratadas con cisplatino o CasIIIia (****P= <0.0001).

En células sin silenciamiento, los tratamientos duplicaron la expresión de O^{2-} de manera estadísticamente significativa. En tanto que en las células Bax *KO* la expresión de superóxido no mostró cambios. Finalmente, las células Bcl-2 *KO* tuvieron un incremento de O^{2-} de dos o tres veces cuando fueron tratadas con cisplatino y CasIIIia respectivamente (Fig. 4)

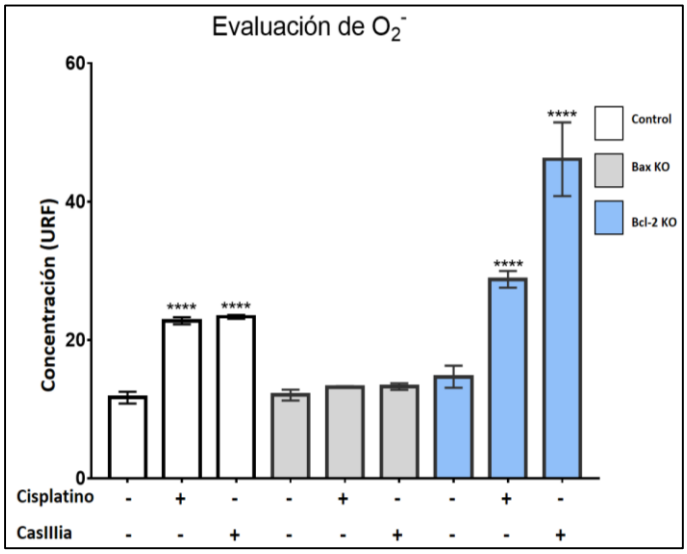


Figura 5. Concentración de O^{2-} en células Bax *KO* y Bcl-2 *KO* tratadas con cisplatino o CasIIIia (****P= <0.0001).

Discusión

De acuerdo con el análisis bioinformático, las secuencias diseñadas en este trabajo son óptimas para lograr el silenciamiento, ya que ambas cumplen con los criterios establecidos por Mohr et al. (2016), como tener una longitud de 17-24 nucleótidos, 40-80% de G, C, además de no poseer auto-complementariedad. Otra de las cualidades de la transfección es mantener la viabilidad celular, la cual se observó después de 10 pases en medio selectivo.

El tratamiento con cisplatino en células sin silenciamiento y células Bcl-2 *KO*, mostró mayor incremento de H_2O_2 que el tratamiento con CasIIIia. Este resultado corresponde a lo propuesto por Kachadourian et al., (2011), donde se observó una relación entre el consumo de glutatión (GSH) y las Cas por reacciones de tipo Fenton; es decir, a mayor concentración de H_2O_2 se tiene un mayor consumo de GSH. Sin embargo, hace falta evaluar la concentración de GSH para comprobar esta hipótesis.

Tal y como fue reportado previamente por Kachadourian et al., (2011), el cisplatino es capaz de generar un daño a nivel del DNA mitocondrial a causa

del desequilibrio en la expresión de las apoproteínas de la cadena respiratoria, lo que genera una mayor liberación de O^{2-}, en células control tratadas con cisplatino. Rivero-Müller, et al., (2007) demostraron que las Cas inducen un daño a nivel del DNA mitocondrial, lo que nos permite entender el comportamiento observado en la Fig. 5. Adicionalmente, el grupo de Silva Platas (2016) utilizando Casiopeína IIgly demostró que su mecanismo de acción induce una pérdida del potencial de membrana mitocondrial, asociado con un estado redox alterado generando la apertura del PTPm.

Nuestros resultados evidencian una mayor generación de O^{2-} en las células control tratadas, lo que nos permite inferir que tanto cisplatino como CasIIIia inducen un daño a nivel del DNA, el cual es responsable del incremento de O^{2-}. De esta forma se puede demostrar que el incremento de ERO's no está en relación con el tratamiento. Sin embargo, este aumento de O^{2-} no se presenta en las células que tienen el silenciamiento de Bax, demostrando que ésta proteína es necesaria para la liberación de O^{2-} a través del PTPm. Caso contrario con el silenciamiento de Bcl-2, donde se observó un incremento mayor al que se tiene con las células control. Este comportamiento esta presumiblemente dado por la ausencia de la proteína antiapoptótica Bcl-2 (Otera, Ishihara, & Mihara, 2013).

Conclusión

En este trabajo demostramos que el silenciamiento de las proteínas Bax y Bcl-2 no compromete la viabilidad celular y que solo la proteína Bax es necesaria para permitir la liberación de las ERO`s a través del PTPm.

Referencias

Bravo-Gómez, M. E., García-Ramos, J. C., Gracia-Mora, I., & Ruiz-Azuara, L. (2009). Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N-N)(acetylacetonato)]NO3 and [Cu(N-N)(glycinato)]NO3 complexes, (Casiopeínas®). *Journal of Inorganic Biochemistry*, *103*(2), 299–309. https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.10.006

García Ramos, J. C., Gutiérrez, A. G., Vázquez Aguirre, A., Toledano Magaña, Y., Alonso Sáenz, A. L., Gómez Vidales, V., … Ruiz Azuara, L. (2017). The mitochondrial apoptotic pathway is induced by Cu(II) antineoplastic compounds (Casiopeínas®) in SK-N-SH neuroblastoma cells after short exposure times. *BioMetals*, *30*(1), 43–58. https://doi.org/10.1007/s10534-016-9983-8

Jonas, E. A., Beutner, G., Mnatsakanyan, N., Alavian, K. N., & Haven, N. (2016). Cell death disguised: The mitochondrial permeability transition pore as the c-subunit of the F1 FO ATP synthase Elizabeth. *HHS Public Access*, 382–392. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.04.013.Cell

Kachadourian, R., Brechbuhl, H. M., Ruiz-Azaura, L., Gracia-Mora, I., & Day, B. J. (2011). Casiopeína IIgly-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human lung cancer A549 and H157 cells. *National Jewish Health*, *268*(3), 176–183. https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.12.010.Casiope

Marín-Hernández, A., Gallardo-Pérez, J. C., López-Ramírez, S. Y., García-García, J. D., Rodríguez-Zavala, J. S., Ruiz-Ramírez, L., … Rodríguez-Enríquez, S. (2012). Casiopeina II-gly and bromo-pyruvate inhibition of tumor hexokinase, glycolysis, and oxidative phosphorylation. *Archives of Toxicology*, *86*(5), 753–766. https://doi.org/10.1007/s00204-012-0809-3

Mohr, S. E., Hu, Y., Ewen-Campen, B., Housden, B. E., Viswanatha, R., & Perrimon, N. (2016). CRISPR guide RNA design for research applications. *FEBS Journal*, *283*, 3232–3238. https://doi.org/10.1111/febs.13777

Otera, H., Ishihara, N., & Mihara, K. (2013). New insights into the function and regulation of mitochondrial fission. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1833*(5), 1256–1268. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.02.002

Rivero-Müller, A., De Vizcaya-Ruiz, A., Plant, N., Ruiz, L., & Dobrota, M. (2007). Mixed chelate copper complex, Casiopeina IIgly®, binds and degrades nucleic acids: A mechanism of cytotoxicity. *Chemico-Biological Interactions*, *165*(3), 189–199. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.12.002

Silva Platas, C., Guerrero Beltrán, C. E., Carrancá, M., Castillo, E. C., Bernal-Ramírez, J., Oropeza-Almazán, Y., … García-Rivas, G. (2016). Antineoplastic copper coordinated complexes (Casiopeinas) uncouple oxidative phosphorylation and induce mitochondrial permeability transition in cardiac mitochondria and cardiomyocytes. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *48*(1), 43–54. https://doi.org/10.1007/s10863-015-9640-x

Teeara, B., William, L., Namrata, B., Yann, J., Evon, P., Takaomi, S., … George, R. E. (2012). The ALKF1174L mutation potentiates the oncogenic activity of MYCN in neuroblastoma. *Cancer Cell*, *9*(10), 973–975. https://doi.org/10.1038/nmeth.2177.Coupling

Tolbert, V. P., Coggins, G. E., Maris, J. M., & Maris, J. M. (2017). Genetic susceptibility to neuroblastoma. *Current Opinion in Genetics and Development*, *42*, 81–90. https://doi.org/10.1016/j.gde.2017.03.008

Valter, K., Zhivotovsky, B., & Gogvadze, V. (2018). Cell death-based treatment of neuroblastoma. *Cell Death & Disease*, *9*(2), 1–15.

https://doi.org/10.1038/s41419-017-0060-1

van Noesel, M. M., Hählen, K., Hakvoort-Cammel, F. G., & Egeler, R. M. (1997). Neuroblastoma 4S: a heterogeneous disease with variable risk factors and treatment strategies. *Cancer*, *80*(5), 834–843. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9307181

Caracterización nutricional y nutracéutica de un subproducto de aguacate

Adriana Chico Peralta [1]; Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña [1]

[1]Doctorado en Ciencias de los Alimentos, Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro

adrianachicoperalta@hotmail.com; loarca@uaq.mx

Resumen

México es el principal productor mundial de aguacate, dicho fruto usualmente se consume en su forma fresca, aunque también se extrae su aceite. El bagazo de la pulpa de aguacate es un suproducto del proceso de obtención de aceite. Hay pocos reportes sobre los compuestos bioactivos en el subproducto de la pulpa del aguacate, se propone que dichos compuestos contribuirían a prevenir de enfermedades no transmisibles. El objetivo del presente trabajo es describir y cuantificar el contenido de los compuestos químicos con potencial bioactivo en un subproducto de aguacate (SARL). Los resultados muestran que el principal componente del subproducto son los lípidos (35-50 %) y la fibra insoluble (22 %), ambos compuestos están entre los compuestos benéficos para la salud cardiovascular.

Abstract

Mexico is the first world producer of avocado, which is commonly consumed as fresh fruit but it is possible to extract oil from it. The pulp pomace is a by-product of this process which remains underused. Because of the small amount of studies about avocado pomace, it remains as a potential source of bioactive compounds related to decrease the risk of development of non-communicable diseases. The aim of the present work is to describe and quantify the content of chemical and bioactive compounds of an avocado pomace obtained by microwave and centrifugation. Our preliminary results show that the main components of the avocado pomace are lipids content (35-50.4 %) and insoluble fiber (22 %), both compounds are among the most reported bioactive compounds with benefits on cardiovascular health.

Palabras clave: Subproductos, subproducto rico en lípidos, marcadores cardiovasculares.

Keywords: By-products, lipid rich by-product, cardiovascular markers.

1. Introducción

Los subproductos son residuos derivados de materias primas provenientes de un proceso. Dichos compuestos muestran a menudo potencial para ser re-incorporarlos en procesos alimentarios para generar productos enriquecidos. Por ejemplo los compuestos fenólicos y los carotenoides derivados de subproductos de frutas pueden usarse como aditivos naturales en alimentos y bebidas ya que tienen la propiedad de aumentar la vida de anaquel de un producto al retardar la formación de sabores desagradables y evitar la rancidez de los ácidos grasos (Rodríguez-González *et al*., 2017; Sudha, Baskaran, & Leelavathi, 2007).

I.1. Aguacate: usos y subproductos

El aceite obtenido del prensado del aguacate se ha usado en México en la medicina prehispánica desde el siglo XVI, en la actualidad se emplea en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. Entre los compuestos presentes en el aceite de aguacate se encuentran aquellos con uso potencial en la prevención de enfermedades cardiovasculares, osteoporosis, cáncer e inflamación (Wong *et al*.,

2014). El proceso farmacéutico de extracción de aceite de aguacate implica su extracción con solventes y prensado o bien, centrifugación de la pulpa (Martínez-Padilla *et al*., 2018), al final del proceso se obtendrían tres principales subproductos: cáscara, semilla y pasta reducida en lípidos.

Aún con el creciente mercado de aceite de aguacate, son pocos los estudios que se han hecho con la subproducto de aguacate reducido en lípidos (SARL) resultado de la obtención de dicho producto. Por ejemplo Naveh *et al*., (2002) reportaron que el subproducto generado de la extracción de aceite de aguacate con éter de petróleo disminuyó el contenido de grasa en el hígado de las ratas alimentadas con una dieta rica en colesterol, no así en el colesterol plasmático donde se observaron incrementos en el colesterol plasmático en el grupo de ratas alimentadas con SARL. Dicho efecto no fue observado por el grupo de Pahua-Ramos *et al*., (2014) quienes evaluaron el efecto de una pasta de aguacate reducida en grasa sobre el perfil de lípidos en suero, la sensibilidad a insulina y una dieta alta en colesterol a ratas disminuyeron los niveles de colesterol, y triglicéridos.

I.2 Compuestos bioactivos

De acuerdo a la revisión bibliográfica efectuada para la presente propuesta, aún no se ha reportado el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides, acetogeninas, u otros compuestos con potencial biológico que permanezcan en la SARL. A continuación se detallan los compuestos que podrían estar aún presentes en SARL y algunos de sus efectos benéficos.

Lin *et al*., (2009) reportaron un contenido de fitoesteroles de aproximadamente 26 mg por cada 30 g del fruto de aguacate, aunque podría esperarse que en la SARL el contenido de carotenoides disminuya debido a la extracción del aceite del fruto. Aunque existen suplementos alimenticios y alimentos adicionados con altas concentraciones de fitoesteroles, el consumo del aguacate, gracias a su matriz lipídica, presenta además otros beneficios a la salud gracias a sus propiedades biológicas, entre las que destacan impedir la absorción de colesterol de manera más eficiente que los suplementos alimenticios o alimentos adicionados con fitoesteroles.

La clase principal de carotenoides presentes en el aguacate son las xantofilas, destacando la luteína, la cual ha mostrado tener actividad antioxidante y antimutagénica (Shareck *et al.*, 2017), así como su capacidad de reducir a la LDL-C oxidada en circulación, lo cual disminuiría el riesgo de padecer accidentes cardiovasculares (Hozawa *et al*., 2007). En un estudio de arterosclerosis realizado en la ciudad de Los Ángeles se encontró una relación inversa entre los altos niveles de xantofilas circulantes y la progresión del engrosamiento de la íntima-media de la arteria carótida, lo cual tendría un efecto cardioprotector contra arterosclerosis (Amararathna *et al.*, 2016).

Sobre el contenido de proteínas del aguacate ha sido escaso, sin embargo en estudios se han identificado alérgenos de origen proteico como *Pers a 1 y Pers a 4* (Díaz-Perales *et al*., 2003). Esteve *et al.,* (2012) identificaron 1012 proteínas cuando estudiaban el potencial alérgeno de las proteínas de aguacate. El bajo contenido de proteína en el aguacate puede atribuirse además de su baja concentración, a la presencia de proteasas, la alta concentración de compuestos que interfieren con la dificultad para separarlas de la pared celular, de los polisacáridos de almacenamiento, de los compuestos fenólicos u otros metabolitos secundarios, aunque el principal obstáculo en la recuperación de proteínas es el alto contenido de lípidos (Esteve, D'Amato, Marina, García, & Righetti, 2012).

La pulpa de aguacate contiene altas cantidades de fibra soluble e insoluble (70 y 30 % respectivamente), contiene además azúcares como sacarosa, carbohidratos de 7 carbonos como d-manoheptulosa, pigmentos, taninos, polifenoles, fitoestrógenos y perseitol (Araújo, Rodriguez-Jasso, Ruiz, Pintado, & Aguilar, 2018, p.).

El color del fruto es la característica más importante para juzgar la calidad del mismo, para conservarlo se han usado métodos como la liofilización aunque ésta última induce oscurecimiento en la pulpa del aguacate en la rehidratación. El tratamiento con microondas usado en algunos procesos de obtención de aceite de aguacate, inactiva a la enzima polifenol-oxidasa y a la pectin-metilesterasa y previene la reactivación de la primera durante el almacenamiento. Estos efectos ocurren debido al cambio de temperatura durante periodos cortos de tiempo a que se expone la pulpa (80 segundos con 11 Watts/g de muestra) lo cual incrementa el contenido de compuestos fenólicos hasta en un 29 % sin mostrar cambios significativos en el color, contenido de clorofila o comportamiento reológico (Araújo *et al*., 2018).

Además de los compuestos ya mencionados, el aguacate contiene compuestos derivados de los ácidos grasos llamados acetogeninas, específicamente la avocatina y la persina (Rodríguez-López *et al.*, 2017). Las acetogeninas son metabolitos que se encuentran en plantas y son derivados de lípidos cuyos efectos se han estudiado debido a sus efectos antiproliferativos en modelos *in vitro* e *in vitro* de leucemia, cáncer ovárico y de cáncer de mama (Comerford, Ayoob, Murray, & Atkinson, 2016), hasta el día de hoy, no hay un estudio donde se describa el contenido de acetogeninas remanentes en la SARL.

2. Objetivos

II.1 Objetivo general

Caracterizar el subproducto de la extracción de aceite de aguacate (*Persea americana* Mill) y dilucidar los compuestos con potencial actividad biológica en la prevención de factores de riesgo cardiovascular.

II.2. Objetivos específicos

II.2.1. Caracterización química de la SARL: lípidos, proteínas, carbohidratos, cenizas y humedad.

II.2.2. Caracterización nutracéutica de la SARL:

II.2.2.1. Contenido de compuestos bioactivos: fenólicos, y fibra dietaria.

3. Materiales y métodos

III.1. Caracterización del subproducto de aguacate reducido en lípidos

El subproducto de aguacate rico en lípidos (de ahora en adelante SARL) se obtuvo de acuerdo a la patente WO2006004388A1.

III.2. Caracterización proximal

Se usaron los métodos reportados por la AOAC para lípidos (método 920.39), proteína (método 954.01), cenizas (método 945.46), humedad (método 925.09B) y carbohidratos por diferencia.

III.3. Caracterización nutracéutica:

Obtención del extracto metanólico

Para obtener el extracto metanólico de acuerdo al método descrito por (Cardador-Martinez, Loarca-Piña, & Ooham, 2002), se colocó 1 g de muestra en un matraz y se adicionaron 10 ml de metanol. Se cubrieron los frascos con papel aluminio y se agitaron durante 24 h a 25°C. Pasado este tiempo, el

extracto se transfirió a tubos conicos de 50 mL y se centrifugó a 5000 RPM por 10 min a 4°C. El sobrenadante obtenido se utilizó para la cuantificación de compuestos fenólicos por métodos espectrofotométrico.

III.3.1. Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales se llevó a cabo por la técnica propuesta por Singleton y Rossi (1965). Se tomaron 500 µl de extracto metanólico, enseguida se adicionó el reactivo de Folin-Ciocalteu (1:1 en agua destilada), la reacción se neutralizó con NaCO3 (7 %), se mantuvo en reposo por 2 horas protegiéndolo en todo momento de la luz. La cuantificación se realizó en un espectrofotómetro (UV-visible) a 760 nm. Se realizó una comparación de los resultados obtenidos con una curva de calibración de ácido gálico. El contenido de fenoles totales se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra.

III.3.2. Cuantificación de flavonoides

La cuantificación de flavonoides se desarrolló por el método sugerido por Oomah *et al*. (2005). Se mezclaron 50 µl de extracto metanólico con 180 µl de metanol, se adicionaron 20 µl de solución de 2-aminoetilendifenilborato (10 mg/ml) y se adicionaron a una placa de 96 pozos. La cuantificación se hizo en un espectrofotómetro (UV-Visible) a 404 nm. Se realizó una comparación de los resultados obtenidos con una curva de calibración de rutina. El contenido de flavonoides se expresó en miligramos equivalentes de rutina/ g de muestra.

III.3.3. Cuantificación de taninos

La cuantificación de taninos se Feregrino-Pérez *et al*. (2008). En un pozo se colocaron 50 µl del extracto metanólico. Se adicionaron 200 µl de vainillina (0.5 % vainillina, 4 % HCl en metanol). La absorbancia se leyó a 492 nm en un espectrofotómetro (UV-visible). Se usó un blanco de reactivo con 50 µl de metanol y 200 µl de HCl 4%. La concentración de los taninos se calculó a partir de una curva de calibración con (+)-catequina a concentraciones de 0.1-0.8 mg/ml. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de (+)-catequina/ g de muestra.

III.3.4. Determinación de fibra soluble e insoluble

Se pesaron 0.5 g de la PARL y se colocó en un matraz ámbar de 250 mL. Se adicionaron 50 mL de solución amortiguadora de fosfatos (0.08 mM, pH 6) y 100 µL de α-amilasa. Se incubó a 95 °C con agitación constante. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se les ajustó el pH a 7.5 con NaOH 0.275 N. Se adicionaron 100 µL de proteasa (5 mg/mL a pH 6). La muestra se incubó a 60ºC durante 30 min. de agitación continua, se atemperó y se ajustó el pH a 4.0 con HCl y se adicionaron 300 µL de amiloglucosidasa y se incubó a 60 °C durante 30 min. con agitación continua. Las muestras se filtraron con un papel Whatman No. 4 (a peso constante). El residuo se lavó con agua destilada a 60ºC, y el filtro se secó y pesó. El contenido de fibra insoluble se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Fibra soluble (\%)} = \frac{\text{Papel filtro con muestra} - \text{Peso papel filtro}}{\text{Peso inicial de la muestra}} x\ 100$$

Al filtrado se le agregó un volumen de etanol al 80%, y se dejó reposar 24 h a temperatura ambiente. El contenido del matraz se filtró usando papel Whatman No. 42 y el residuo se lavó dos veces con acetona. El papel filtro se secó y se pesó. El contenido de fibra soluble se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Fibra insoluble (\%)} = \frac{\text{Papel filtro con muestra} - \text{Peso papel filtro}}{\text{Peso inicial de muestra}} x\ 100$$

4. Resultados

IV.1. Análisis proximal

En las tablas 1, 2 y 3 se muestran los resultados para análisis proximales, compuestos fenólicos y contenido de fibra dietaria respectivamente.

Tabla 1. Contenido de proteína, lípidos, humedad, cenizas y carbohidratos en SARL.

Muestra	SARL	Aguacate fresco
Proteínas	12.26 ± 2.3	6.1 ± 0.6
Lípidos	41.2 ± 2.7	12.4 ± 0.9
Humedad	5.93 ± 0.08	68.3 ± 0.28
Cenizas	11.2 ± 0.02	1.4 ± 0.2
Carbohidratos	39.74	14.04

SARL: Sub-producto de aguacate rico en lípidos. Los resultados están expresados en porcentaje y son la medida de tres réplicas ± la desviación estándar.

Tabla 2: Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados en SARL

Muestra	Fenoles totales	Flavonoides totales	Taninos condensados
SARL	65.94 ± 2.54	153.67 ± 9.43	898.79 ± 32.23

SARL: Sub-producto de aguacate rico en lípidos. Los resultados están expresados como mg eq. de ác. ferúlico /g de muestra, mg eq. de rutina /g de muestra y mg eq. de (+) catequina /g de muestra, respectivamente. Los resultados son la medida de tres réplicas ± la desviación estándar.

Tabla 3: Contenido de fibra dietaria en SARL

Muestra	Soluble	Insoluble	Total
SARL	0.29 ± 0.043	19.08 ± 1.69	19.37

SARL: Sub-producto de aguacate rico en lípidos. Los resultados están expresados en porcentaje. Los resultados son la medida de tres réplicas ± la desviación estándar.

5. Discusión

En la tabla 1 se observa que aun cuando el aceite se extrae de la pulpa del aguacate, en el SARL permanece aún una importante cantidad relativa de lípidos, al igual que en estudios hechos con subproductos de semillas y otros frutos (Antónia Nunes *et al.*, 2018), cabría suponer que dicho contenido está compuesto en su mayoría de ácidos grasos insaturados (Qin and Zhong, 2016).

El contenido de fibra insoluble rebasa al contenido de fibra soluble, si bien ésta última es la que se cree que ejerce mayor beneficios en la salud cardiovascular, la fibra insoluble contribuye al volumen de las heces y a un mejor tránsito intestinal.

El contenido de compuestos fenólicos es menor que los encontrados en el aguacate en fresco (López-Cobo *et al.,* 2016), lo anterior puede deberse a que éstos se encuentran o bien ligados a la fibra, o bien son arrastrados y se pierden en el agua resultante del proceso de extracción de aceite, ya que en el proceso de centrifugación se pierde parte de la humedad remanente después del tratamiento térmico.

6. Conclusiones

Con el fin de darle un valor agregado a al subproducto de uno de los principales cultivos actuales en México será necesario continuar con la caracterización exhaustiva de los compuestos presentes en el SARL, lo anterior con el fin de proponer su uso como ingrediente funcional y así regresar a la cadena de valor en las industrias cosmética, farmacéutica o alimentaria.

7. Bibliografía

Amararathna, M., Johnston, M. R., & Rupasinghe, H. P. V. (2016). Plant Polyphenols as Chemopreventive Agents for Lung Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(8). https://doi.org/10.3390/ijms17081352

Antónia Nunes, M., Costa, A. S. G., Bessada, S., Santos, J., Puga, H., Alves, R. C., … Oliveira, M. B. P. P. (2018). Olive pomace as a valuable source of bioactive compounds: A study regarding its lipid- and water-soluble components. *Science of The Total Environment*, *644*, 229–236. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.350

Araújo, R. G., Rodriguez-Jasso, R. M., Ruiz, H. A., Pintado, M. M. E., & Aguilar, C. N. (2018). Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, *80*, 51–60. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027

Cardador-Martinez, A., Loarca-Piña, G., & Ooham, B. D. (2002). Antioxidant Activity in Common Beans (Phaseolus vulgaris L .). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 6975–6980.

Comerford, K. B., Ayoob, K. T., Murray, R. D., & Atkinson, S. A. (2016). The Role of Avocados in Complementary and Transitional Feeding. *Nutrients*, *8*(5). https://doi.org/10.3390/nu8050316

Díaz-Perales, A., Blanco, C., Sánchez-Monge, R., Varela, J., Carrillo, T., & Salcedo, G. (2003). Analysis of avocado allergen (Prs a 1) IgE-binding peptides generated by simulated gastric fluid digestion. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *112*(5), 1002–1007. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.07.006

Dwyer, J. H., Navab, M., Dwyer, K. M., Hassan, K., Sun, P., Shircore, A., … Fogelman, A. M. (2001). Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis: The Los Angeles atherosclerosis study. *Circulation*, *103*(24), 2922–2927.

Esteve, C., D'Amato, A., Marina, M. L., García, M. C., & Righetti, P. G. (2012). Identification of avocado (Persea americana) pulp proteins by nano-LC-MS/MS via combinatorial peptide ligand libraries. *Electrophoresis*, *33*(18), 2799–2805. https://doi.org/10.1002/elps.201200254

Feregrino-Pérez, A. A., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R. G., Ramos-Gomez, M., Reynoso-Camacho, R., … Loarca-Piña, G. (2008). Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (Phaseolus vulgaris L.) on azoxymethane-induced colon cancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(18), 8737–8744. https://doi.org/10.1021/jf8007162

Hozawa, A., Jacobs, D. R., Steffes, M. W., Gross, M. D., Steffen, L. M., & Lee, D.-H. (2007). Relationships of Circulating Carotenoid Concentrations with Several Markers of Inflammation, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *Clinical Chemistry*, *53*(3), 447–455. https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.074930

Lin, X., Ma, L., Racette, S. B., Anderson Spearie, C. L., & Ostlund, R. E. (2009). Phytosterol glycosides reduce cholesterol absorption in humans. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, *296*(4), G931-935. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00001.2009

López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Pasini, F., Caboni, M. F., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2016). HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado. *LWT*, *73*, 505–513. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.049

Martínez-Padilla, L. P., Franke, L., Xu, X.-Q., & Juliano, P. (2018). Improved extraction of avocado oil by application of sono-physical processes. *Ultrasonics Sonochemistry*, *40*, 720–726. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.08.008

Naveh, E., Werman, M. J., Sabo, E., & Neeman, I. (2002). Defatted avocado pulp reduces body weight and total hepatic fat but increases plasma cholesterol in male rats fed diets with cholesterol. *The Journal of Nutrition*, *132*(7), 2015–2018. https://doi.org/10.1093/jn/132.7.2015

Pahua-Ramos, M. E., Garduño-Siciliano, L., Dorantes-Alvarez, L., Chamorro-Cevallos, G., Herrera-Martínez, J., Osorio-Esquivel, O., & Ortiz-Moreno, A. (2014). Reduced-calorie avocado paste attenuates metabolic factors associated with a hypercholesterolemic-high fructose diet in rats. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, *69*(1), 18–24. https://doi.org/10.1007/s11130-013-0395-4

Qin, X., & Zhong, J. (2016). A Review of Extraction Techniques for Avocado Oil. *Journal of Oleo Science*, *65*(11), 881–888. https://doi.org/10.5650/jos.ess16063

Rodríguez-González, S., Gutiérrez-Ruíz, I. M., Pérez-Ramírez, I. F., Mora, O., Ramos-Gomez, M., & Reynoso-Camacho, R. (2017). Mechanisms related to the anti-diabetic properties of mango (Mangifera indica L.) juice by-product. *Journal of Functional Foods*, *37*, 190–199. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.058

Rodríguez-López, C. E., Hernández-Brenes, C., & Garza, R. I. D. de la. (2015). A targeted metabolomics approach to characterize acetogenin profiles in avocado fruit (Persea americana Mill.). *RSC Advances*, *5*(128), 106019–106029. https://doi.org/10.1039/C5RA22854A

Rodríguez-López, C. E., Hernández-Brenes, C., Treviño, V., & Garza, R. I. D. de la. (2017). Avocado fruit maturation and ripening: Dynamics of aliphatic acetogenins and lipidomic profiles from mesocarp, idioblasts and seed. *BMC Plant Biology*, *17*. https://doi.org/10.1186/s12870-017-1103-6

Shareck, M., Rousseau, M.-C., Koushik, A., Siemiatycki, J., & Parent, M.-E. (2017). Inverse Association between Dietary Intake of Selected Carotenoids and Vitamin C and Risk of Lung Cancer. *Frontiers in Oncology*, *7*, 23. https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00023

Sudha, M. L., Baskaran, V., & Leelavathi, K. (2007). Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry*, *104*(2), 686–692. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.016

Wong, M., Eyres, L., & Ravetti, L. (2014). 2—Modern Aqueous Oil Extraction—Centrifugation Systems for Olive and Avocado Oils. In W. E. Farr & A. Proctor (Eds.), *Green Vegetable Oil Processing* (pp. 19–51). https://doi.org/10.1016/B978-0-9888565-3-0.50005-4

Mecanismos epigenéticos que regulan genes inmunitarios en *Anopheles albimanus*.

José Héctor Gibrán Fritz García, Universidad Autónoma de Querétaro, fritzgarcia1416@hotmail.com

Biól. Juan Daniel Luna Andón, Instituto Nacional de Salud Pública, Técnico Laboratorista, cisei26@insp.mx

Verónica Valverde-Garduño, D. Phil. (*Oxon.*), Instituto Nacional de Salud Pública, Directora, vvalverde@insp.mx

Resumen

La malaria es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium*; es un problema de salud pública mundial ocasionando anualmente entre 250 y 500 millones de casos y un millón de muertes. El entender cómo funciona la respuesta inmune en el mosquito podría revelar mecanismos para el desarrollo de técnicas antivectoriales que eviten la transmisión de enfermedades. El objetivo de estudio fue determinar el estado epigenético de secuencias reguladoras mediante la técnica ChIP-qPCR en una línea celular de *Anopheles albimanus* en estado basal; además, se determinó la producción de huevos después inhibir de la producción de una proteína y se establecieron las condiciones necesarias para obtener suficiente RNA de intestino para diversos estudios posteriores. Se encontró que tanto el promotor como el amplificador contienen acetilaciones en lisinas de la histona 3 aunque en diferentes cantidades y se notó una disminución en la fertilidad de mosquitos microinyectados al inhibir la producción de proteína; también se encontró que cinco intestinos son suficientes para obtener RNA suficiente para reacciones subsecuentes. Con estos resultados se podría saber cómo secuencias relacionadas a genes de inmunidad son controladas y que las proteínas se pueden usar para evitar la transmisión de enfermedades mediante vectores.

Palabras clave: malaria, cromatina, inmunoprecipitación, epigenética

Abstract

Malaria is a disease caused by parasites of the genus *Plasmodium*; it is a global public health problem causing 250 to 500 million cases annually and one million deaths. Uncovering the mosquito's immune response could reveal mechanisms to develope techniques that might prevent transmission of vector-transmitted diseases. The objective of this study was to determine the epigenetic state of regulatory sequences using the ChIP-qPCR technique in *Anopheles albimanus*-derived cell line in basal conditions; in addition, the amount of eggs laid was determined after inhibiting the production of a protein and conditions were established to obtain sufficient intestine RNA for various subsequent studies. It was found that both the promoter and the enhancer contained acetylated lysines on the histone 3 although in different amounts and a decrease in the fertility of microinjected mosquitoes after protein inhibition production was observed; it was also found that five intestines are sufficient to obtain sufficient RNA for subsequent reactions. With these results, it is possible to know how sequences related to immunity genes are regulated and that proteins can be used to prevent the transmission of diseases by vectors.

Keywords: malaria, chromatin, epigenetics, immunoprecipitation

Introducción

La malaria es una enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium* que se transmiten por mordeduras de moscos hembras del género *Anopheles; P. falciparum* y *P. vivax* son las dos especies más peligrosas para los humanos (OMS, 2014). Esta enfermedad es un problema de salud pública mundial ocasionando anualmente entre 250 y 500 millones de casos y un millón de muertes (Roll Back Malaria, 2008). Los mosquitos están constantemente expuestos a ser invadidos por diversos microorganismos y la mayoría de ellos

entran a través del consumo de sangre (Kumar, 2018), necesaria para el desarrollo de los huevos. Se sabe que hay un sobreexpresión de genes cuando hay un consumo de sangre (Marinotti, 2005) y más cuando este líquido está infectado con microorganismos. Aunque se han identificado algunas moléculas efectoras del sistema inmune como REL-1 (Barrillas *et al*, 1996) y Defesina 1 (Eggleston, 2000) no se sabe cómo se regula esta expresión ni qué secuencias reguladoras podrían estar implicadas en este proceso. El entender cómo funciona esta respuesta inmune en el mosquito podría revelar mecanismos para el desarrollo de técnicas antivectoriales que eviten la transmisión hacia los humanos de esta, y otras enfermedades.

Una de las aproximaciones para entender esta regulación, es controlar la producción de proteínas a nivel traduccional usando RNA bicatenario (dsRNA) *in vivo* y comprobando el fenotipo que se genera sobre el organismo (Blandin, 2002). Una vez dentro de la célula, este dsRNA es procesado a secuencias pequeñas que interfieren en el procesamiento del mRNA diana (Zamore, 2000).

La epigenética estudia los mecanismos que regulan la función de regiones genómicas sin generar cambios en la secuencia de DNA (Goldberg, 2007) y también tiene un rol importante en el entendimiento de esta respuesta inmune. Aunque se sabe que la expresión génica es un proceso muy bien regulado, no se conocen a detalle los procesos epigenéticos que pudieran estar relacionados en las interacciones patógeno-hospedero en el mosquito (Gómez-Díaz, 2014).

La inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) es una técnica que identifica marcas epigenéticas en las colas de las histonas asociadas a cambios en la expresión génica (O'Green, 2011); acetilaciones son generalmente asociadas con un aumento en la expresión de genes mientras que metilaciones tienen un efector inhibidor de expresión (Felsenfeld, 2003). Esta técnica acoplada a una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) podría decirnos qué secuencias (tanto reguladoras como genes) sufren alteraciones epigenéticas en respuesta a un estímulo inmunológico.

El objetivo de este proyecto fue determinar el estado epigenético de secuencias reguladoras tipo promotor y amplificador en estados basales de una línea celular derivada de *A. gambiae* usando la técnica ChIP-qPCR. Además, se evaluó el efecto de la inhibición de la producción de una proteína sobre la fertilidad y se establecieron las condiciones necesarias para obtener suficiente RNA de intestino para diversos estudios posteriores.

Materiales y métodos

Cultivo celular

Se descongelaron células de insecto (MRA-919) y se crecieron en medio Schneider enriquecido con 10% de suero fetal bovino, L-glutamina, penicilina y estroptomicina, de acuerdo con lo establecido anteriormente (Müller, 1999).

Preparación de cromatina

Las células se despegaron de las cajas y se centrifugaron a 1,500 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos a temperatura ambiente (TA), desechando el sobrenadante y resuspendiendo la pastilla en 1 ml de medio Schneider. A la mezcla se le añadieron 10 µl de inhibidor de proteasas, 10 µl de PMSF y 24.7 µl de formaldehído incubando durante 10 minutos a TA con agitación; pasado el tiempo se añadieron 50 µl de glicina 2.5 M incubando durante 5 minutos a TA con agitación. Se centrifugó a 1,000 rpm durante 5 minutos y el sobrenadante se desechó.

La preparación de la cromatina se realizó de acuerdo protocolo previamente descrito (Giresi, 2009) con algunas modificaciones. Se le añadieron 1 ml de los tampones de lisis 1 y 2 a la pastilla. Para el tampón 3, se añadieron 300 µl y después de tener una mezcla homogénea, se añadió un volumen más del mismo tampón. La mitad del volumen de este tuµbo se transfirió a uno nuevo; a cada tubo se le añadieron dos volúmenes del mismo amortiguador, se mezclaron por inversión y el volumen de cada tubo se repartió equitativamente en otros dos. En total, hubieron 6 tubos con la misma cantidad de amortiguador en cada uno. La sonicación se realizó durante tres ciclos de 10 minutos, incubando en hielo durante 10 minutos entre cada ciclo. Los tubos que se añadieron al final, se

traspasaron a los dos tubos originales que había inicialmente. Los tubos se centrifugaron a 1,300 g durante 5 minutos a 4 °C y los sobrenadantes se pasaron a nuevos tubos, pasando una alícuota de cada sobrenadante a un mismo tubo. La alícuota tomada se dejó a 65 °C durante toda la noche; los sobrenadantes restantes (2 tubos) se guardaron a -80 °C. Para verificar la preparación de la cromatina, se corrió un gel de agarosa al 1.5% durante 50 minutos a 60 V.

Inmunoprecipitación de cromatina
La identificación de marcas epigenéticas se realizó de acuerdo con el Kit EZ ChIP™ (Merck Millipore, 2009) para detectar lisinas acetiladas en la histona 3 (H3Kac), usando también los *inputs* generados; ambos por duplicado. No hubieron modificaciones del protocolo.

qPCR: cuantificación relativa de ácidos nucleicos
Para la identificación de secuencias enriquecidas, se usaron dos pares de oligonucleótidos contra un promotor y un amplificador con la nomenclatura de P y E, respectivamente. Las reacciones se corrieron bajo el siguiente programa: desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos, seguida de 40 ciclos que incluyeron una desnaturalización a 95 °C durante 30 s, alineación durante 30 s y polimerización a 72 °C durante 30 segundos. Las temperaturas de alineamiento para P y E fueron de 50 °C y 53 °C, respectivamente.

Crianza de mosquitos
Moscos hembras de 4 días se alimentaron con sangre y 48 horas después, se pusieron a ovopositar. Al día siguiente, los huevos se transfirieron a una tina con agua en un cuarto con temperatura de 27 ± 2°C y una humedad de 65%. Los organismos en estado de la larva se alimentaron con comida de gato; los organismos en estado de pupa se separaron de la población, se llevan a una habitación (cuarto de mosquitos) con 70% de humedad y 30 ± 2°C y se introdujeron en botes que contenían mallas para evitar que los mosquitos, una vez eclosionados, se escaparan. Una vez eclosionados, antes y después de alimentación con sangre, se les proveyó de algodones con solución azucarada al 10%.

Silenciamiento por RNA interferente (RNAi)
4 días después de la eclosión, las hembras se separaron de los machos, se transfirieron a otro recipiente y se llevaron a refrigeración por algunos minutos para dormirlos. Después, se pusieron sobre una caja de Petri (que estuvo sobre una cama de hielo) para mantenerlos en ese estado. Se llenaron capilares con dsRNA y usando microscopio y micromanipulador, se inyectó un capilar por mosquito en el hemocele. Los mosquitos inyectados se separaron de los demás.

Efecto del silenciamiento del gen blanco en la fertilidad
Los mosquitos inyectados con dsRNA y los controles se llevan al cuarto de mosquitos y se les pusieron algodones con solución azucarada al 10%. Después de 24 horas, se alimentaron con sangre fresca de conejo a 37 °C durante 10 minutos y se regresaron al cuarto. 48 horas después de la alimentación, se separaron los mosquitos individualmente en tubos Falcon que contienen una cama húmeda de algodón cubierta con papel filtro y se regresaron al cuarto de mosquitos. 24 horas después de la separación, se contaron al microscopio los huevos que cada hembra depositó.

Disección y extracción de RNA
Se hicieron extracciones de RNA de grupos de 5, 10 y 15 intestinos y se guardaron en tres tubos diferentes. Inicialmente, con ayuda de pinzas se le quitan las patas y se llevaron a un portaobjetos con tampón PBS 1x. Bajo el microscopio y con ayuda de agujas, se le quitaron las alas; para la disección, se separó primeramente la cabeza del cuerpo y después los ovarios (segunda sección de abajo hacia arriba) se separan del resto de cuerpo (en este punto, los ovarios salen acompañados de los intestinos y por lo tanto ambos órganos se separaron). Los intestinos se guardaron en los tubos correspondientes que contenían RNA*later*.

El RNA*later* que cubría a dichos órganos se descartó; se añadió una cierta cantidad de TRIzol y se trituraron, después se agregaron el restante de este reactivo enjuagando el pistilo. Después se agregó cloroformo y se mezcló con vórtex durante 1 minuto, incubando durante 15 minutos. Las muestras se

centrifugaron por 15 minutos a 4 °C a 12,000 g. La fase acuosa se transfirió a un nuevo tubo.

A esta fase se le añadió isopropanol y se mezcló por inversión; se incubaron durante 10 minutos. Las muestras se centrifugaron por 10 minutos a 4 °C a 12,000 g. Se descartó el sobrenadante y se agregó etanol al 80% sin resuspender la pastilla. Se incubaron durante 30 minutos y se centrifugaron a las mismas condiciones, tirando el sobrenadante. La pastilla se resuspendió en 20 µl de agua grado biología molecular y se cuantificó con NanoDrop™.

Resultados y discusión

ChIP-qPCR

La sonicación de la cromatina debe producir fragmentos para análisis de ChIP-qPCR entre 250 t 750 pares de pases (bp) (Harring, 2007) y este tamaño se ve afectado por los ciclos de sonicación.

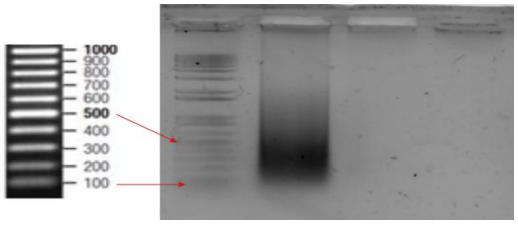


Figura 1. Preparación de cromatina

Los ciclos empleados en esta metodología produjeron fragmentos entre 100 y 500 bp, tamaños necesarios para los análisis posteriores (Fig. 1), por lo tanto no hubo necesidad de modificar dichos ciclos.

Los resultados obtenidos de las qPCR indican que tanto el promotor como el amplificador están en un estado acetilado, aunque en diferente magnitud (Tabla 1; Fig. 2).

Tabla 1. Porcentaje de acetilación de secuencias reguladoras. Los resultados mostrados incluyen el promedio del duplicado en cada oligo.

Muestra	Elemento	Enriquecimiento
ChIP antiH3Ac	P	+++
ChIP antiH3Ac	E	+

Estas secuencias reguladoras corresponden a sitios de unión a factores de transcripción relacionados con la activación de genes de inmunidad. Al trabajar con una línea celular hematológica que responde a estímulos inmunológicos, era de esperar que algunas secuencias estuvieran accesibles a la unión de factores de transcripción, debido a la H3Kac.

En líneas celulares hematológicas de vertebrados, se ha comprobado que existen marcas epigenéticas en sitios regulatorios cerca de genes que no están en un estado transcripcionalmente activo (Jin, 2006), tal vez porque se expresan en cantidades muy pequeñas para mantener en un estado de cromatina abiertas a secuencias adyacentes (Ashe, 1997). Esto podría explicar por qué se encontraron secuencias reguladoras enriquecidas en acetilaciones independientemente del estado basal celular en el cuál se encontraban.

Además, la línea celular MRA-919 es un conjunto de células de larva que durante el cultivo pudieron haber tenido un cierto grado de diferenciación.

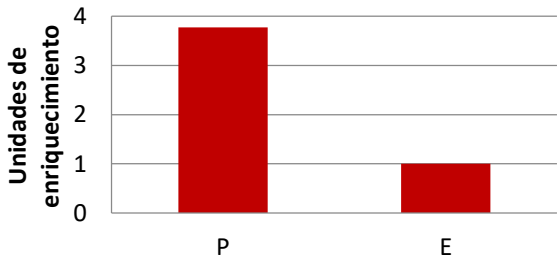


Figura 2. Comparación del enriquecimiento de la marca H3Kac en secuencias reguladoras

Cuantificación de RNA

El tener una cantidad suficiente de RNA para la generación de DNA complementario (cDNA) es de suma importancia ya que de esto dependerá la eficiencia de la reacción. Al extraer esta molécula de 5, 10 y 15 intestinos se pudo establecer que solamente 5 intestinos son necesarios para tener suficiente cantidad de RNA (Tabla 2) teniendo en cuenta que 1 µg es suficiente para la reacción.

Tabla 2. Cuantificación de RNA extraído en cada grupo

Muestra	Concentración (ng/µl)	RNA (µg)
5 intestinos	386.7	7.347
10 intestinos	351.3	6.675

15 intestinos	842.4	16.006

Efecto de la RNAi en la fertilidad

La inhibición de una proteína inmunológica por RNAi nos ayuda a determinar su función mediante el fenotipo producido en el organismo. Se usaron dos controles en este bioensayo: el primero son mosquitos no tratados; el segundo son mosquitos microinyectados con una dsRNA blanco contra una molécula que el mosquito no produce con el fin de determinar que la microinyección en sí no tiene un efecto sobre la ovoposición. El silenciar una proteína del sistema inmune tuvo efectos al disminuir la cantidad de huevos que generalmente ponen (Fig. 3). Esto nos dice que se podrían usar estas proteínas inmunes como moléculas dianas antivectoriales para evitar la transmisión de enfermedades infecciosas.

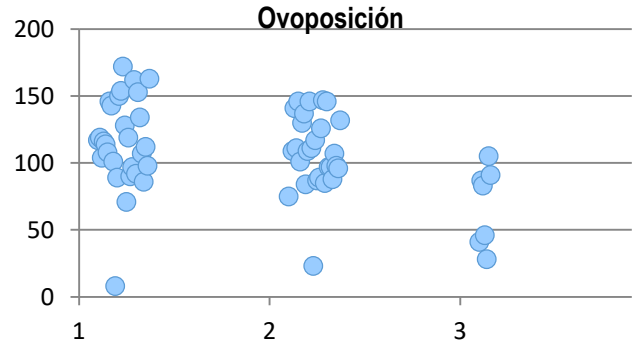


Figura 3. Efecto del RNAi en la fertilidad de los mosquitos. 1 = mosquitos no tratados; 2 = mosquitos microinyectados con dsRNA para GFP; 3 = mosquitos microinyectados con dsRNA dirigido a una proteína del sistema inmune.

Agradecimientos

Al Biól. Juan Daniel Luna Andón por su asesoría en la ejecución de todas las técnicas utilizadas en este trabajo. A la Dra. Valverde por aceptarme en su laboratorio y por siempre resolver mis dudas. A la Academia Mexicana de Ciencias por darme la oportunidad de participar en el Verano de la Investigación Científica.

Bibliografía:

Ashe, H.L., Monks, J., Wijgerde, M., Fraser, P., and Proudfoot, N.J. 1997. Intergenic transcription and transinduction of the human -globin locus. Genes & Dev. 11: 2494–2509.

Barillas-Mury, C., Charlesworth, A., Gross, I., Richman, A., Hoffmann, J. A., & Kafatos, F. C. (1996). Immune factor Gambif1, a new rel family member from the human malaria vector, Anopheles gambiae. The EMBO journal, 15(17), 4691–4701.

Blandin, S., Moita, L. F., Köcher, T., Wilm, M., Kafatos, F. C., & Levashina, E. A. (2002). Reverse genetics in the mosquito Anopheles gambiae: targeted disruption of the Defensin gene. EMBO reports, *3*(9), 852–856.

Eggleston, P., Lu, W., & Zhao, Y. (2000). Genomic organization and immune regulation of the defensin gene from the mosquito, Anopheles gambiae. Insect Molecular Biology, 9(5), 481–490

Felsenfeld, G., & Groudine, M. (2003).Controlling the double helix. Nature, 421(6921), 448–453.

Gómez-Díaz, E., Rivero, A., Chandre, F., & Corces, V. G. (2014). Insights into the epigenomic landscape of the human malaria vector Anopheles gambiae.

Giresi, P. G., & Lieb, J. D. (2009). Isolation of active regulatory elements from eukaryotic chromatin using FAIRE (Formaldehyde Assisted Isolation of Regulatory Elements). Methods (San Diego, Calif.), 48(3), 233–239.

Goldberg, A. D., Allis, C. D., & Bernstein, E. (2007). Epigenetics: A Landscape Takes Shape. Cell, 128(4), 635–638.

Haring, M., Offermann, S., Danker, T., Horst, I., Peterhansel, C., & Stam, M. (2007). Chromatin immunoprecipitation: optimization, quantitative analysis and data normalization. Plant methods, 3, 11.

Jin, C., & Felsenfeld, G. (2006). Distribution of histone H3.3 in hematopoietic cell lineages. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103(3), 574–579.

Kumar, A., Srivastava, P., Sirisena, P., Dubey, S. K., Kumar, R., Shrinet, J., & Sunil, S. (2018). Mosquito Innate Immunity. Insects, 9(3), 95.

Marinotti, O., Nguyen, Q. K., Calvo, E., James, A. A., & Ribeiro, J. M. C. (2005). Microarray analysis of genes showing variable expression following a blood meal in Anopheles gambiae. Insect Molecular Biology, 14(4), 365–373

Merck Millipore. (2009). EZ ChIP™ Chromatin Immunoprecipitation Kit: Instruction manual. Burlington MA: Autor

Müller, H., Dimopoulos, G., Blass, C., & Kafatos, F. C. (1999). A Hemocyte-like Cell Line Established from the Malaria Vector Anopheles

gambiae Expresses Six Prophenoloxidase Genes. Journal of Biological Chemistry, 274(17), 11727-11735

O'Geen, H., Echipare, L., & Farnham, P. J. (2011). Using ChIP-seq technology to generate high-resolution profiles of histone modifications. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 791, 265–286.

Organización Mundial de la Salud (2014). Malaria. Recuperado el 13 de agosto de 2019 de, https://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/report/es/

Roll Back Malaria (2008). Roll Back Malaria Partnership. A Global Malaria Action Plan. Geneva: World Health Organization. Recuperado el 13 de agosto de 2019 de, http://www.rbm.who.int/gmap/gmap.pdf

Zamore, P. D., Tuschl, T., Sharp, P. A., & Bartel, D. P. (2000). RNAi. Cell, 101(1), 25–33

Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S.C. (CIDETEQ).

Parque Tecnológico Querétaro S/N, Pedro Escobedo, Sanfandila, Querétaro 76703.

SÍNTESIS Y MODIFICACIÓN DE POLÍMEROS PARA ELABORAR MEMBRANAS IEC

Saúl Galván Cruz [a] (sau_gal@hotmail.com), Lilian Iraís Olvera Garza [a] (lolvera@cideteq.mx), Eugenia Josefina Aldeco Pérez [a] (ealdeco@cideteq.mx).

RESUMEN

Se obtuvo una nueva familia de polímeros funcionales de poli (oxindole terfenileno) con alta conductividad iónica mediante la policondensación de isatina con p-terfenilo y su posterior modificación química con bromuro de 3-bromopropil trimetilamonio, bromuro de 5-bromopentil trimetilamonio y carbonato de potasio. La alta solubilidad y las excelentes propiedades mecánicas, permitieron la formación de membranas flexibles y transparentes mediante la técnica de casting (técnica de fundición).

Para determiner la Resistencia de la membrana y, por lo tanto, la conductividad iónica, se realizaron mediciones basadas en espectroscopia de impedancia en una celda Debanathan de 4 electrodos con cloruro de potasio de 0.1 M como electrolito. Los materiales obtenidos presentan Buena conductividad iónica y excelente estabilidad térmica, mecánica y química.

ABSTRACT

A new family of functional poly(oxindole terphenylylene) polymers with high ionic conductivity were obtained by the polycondensation of isatine with p-terphenyl and its subsequent chemical modification with 3-bromopropyl trimethylammonium bromide, 5-bromopentyl trimethylammonium bromide and potassium carbonate. The high solubility and excellent mechanical properties allowed the formation of flexible and transparente membrane by casting technique.

To determine the membrane resistance and hence the ionic conductivity, measurements based on impedance spectroscopy were used in a h type cell of 4 electrodes with potassium chloride 0.1M as electrolyte. The materials obtained presents good ionic conductivity and excellent thermal, mechanical and chemical stability.

INTRODUCCIÓN

Con el paso histórico de la humanidad en este mundo, el proceso y evolución de la misma ha estado profundamente interrelacionada con la habilidad de sus integrantes para crear y manipular nuevos materiales con el fin de inventar nuevos componentes y tecnologías para
lograr cumplir sus necesidades. Gracias a los estudios realizados en la actualidad podemos conocer y dilucidar la relación entre la estructura y propiedades que tienen los materiales. A lo largo de los años la humanidad desde sus comienzos ha logrado el diseño de innovadores materiales con ciertas características especializadas para un fin (era de piedra, era de bronce, era de hierro), con las cuales cubren las necesidades de la humanidad antigua y moderna. El desarrollo de los materiales metálicos, cerámicos. Poliméricos y compuestos han generado la tecnología que hacen posible la vida actual.

Escoger, planificar y originar un nuevo material para algina función específica, involucra un estudio a fondo y conlleva el tomar en cuenta algunas

consideraciones, por ejemplo: condiciones de funcionamiento (temperatura, presión, humedad), las propiedades del material (físicas, térmicas, mecánicas, químicas y ópticas); tiempo de servicio o de vida útil; impacto a la salud, ambiental y de seguridad; aspectos económicos como costo de producción y posible valoración en el mercado; el tipo de de producción industrial con el que se harán (modelo por inyección, extracción, compresión, etc.); por mencionar algunos aspectos a considerar.

En los ultimos años, la investigación en el área de polímeros a nivel químico ha crecido exponencialmente. Principalmente para el desarrollo de polímeros funcionales que permitan el uso de dichos materiales en aplicaciones industriales. Las membranas poliméricas ahora se utilizan en muchos procesos de separación, como la purificación de gases, la recuperación de vapores, la desalinización y purificación de agua y la hemodiálisis. Sin embargo, todavía hay muchas areas de oportunidad en la industria química.

El desarrollo de membranas de polímero con alta conductividad iónica sigue siendo un desafío potencial en el que se requieren materiales altamente conductores con Buena resistencia mecanica, térmica y química. Una estrategia directa para lograr una alta conductividad iónica en las membranas es aumentar su capacidad de intercambio iónico (IEC), por esto a menudo conduce a procesos de alta hinchazón que aceleran la degradación y disminuyen drásticamente sus propiedades mecánicas.

METODOLOGÍA

SÍNTESIS DE POLÍMERO

El polímero base (como es llamado de un principio), es el producto de una reacción de polihidroxialquilación de un solo paso la cual se lleva a cabo en un medio superácido, donde hacemos reaccionar unidades monoméricas las cuales son isatina con p-terfenilo en ácido trifluorometanosulfónico y diclorometano (CH_2Cl_2), obteniendo como resultado nuestra unidad polimérica.

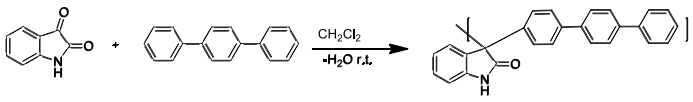


Diagrama.1 Polihidroxialquilación de isatina con p-terfenilo

MODIFICACIÓN DE POLÍMERO BASE CON BROMURO DE 3-BROMOPROPIL TRIMETILAMONIO

Una vez que obtuvimos nuestro polímero sintetizado, comenzamos a trabajar en la modificación de propiedades químicas del mismo mediante la adición de sales cuaternarias de amonio, las cuales fueron: Bromuro de 3-bromopropil trimetilamonio y Bromuro de 5-bromopentil trimetilamonio.

Cuando al polímero de isatina con p-terfenilo se le realizó la modificación con la sal de bromuro de 3-bromorpopil trimetilamonio, manejando porsentajes de adición al 20%, 50% y 100% con el objetivo de probar la eficiencia con la que dicha sal se adicionaba y la calidad de propiedades químicas, térmicas, mecánicas y conductivas presenta.

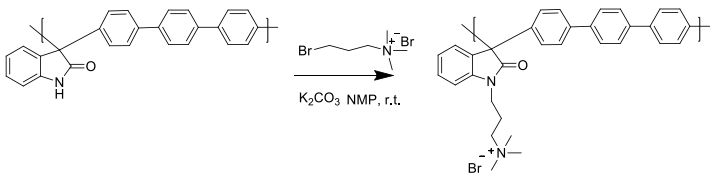


Diagrama. 2. Modificación de polímero base con Bromuro de 3-bromopropil trimetilamonio.

Una vez obtenido el polímero a los diferentes porcentajes de modificación se procedió a realizarle las diferentes técnicas de caracterización para verificar que nuestro grupo funcional esté adicionado en la cadena de forma correcta, además de que presente las diferentes características que se quieren obtener.

MODIFICACIÓN DE POLÍMERO BASE CON BROMURO DE 5-BROMOPENTIL TRIMETILAMONIO.

Cuando temenos nuestro polímero sitetizado, tambien se trabaja en la adición de otra sal cuatrnaria de aminio la cual es bromuro de 5-bromopentil trimetilamonio, esto con el objetivo de, en la medida de lo posible, obtener un polímero mayormente conductor con dicho monómero.

En esta modificación se manejó la adición de la sal al 100%, para poder adicionar a toda la cadena complete nuestro grupo funcional y de esta manera, obtener las mejores propiedades posibles en el polímero y con un alto porcentaje de eficiencia.

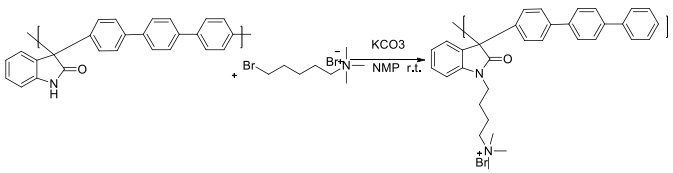


Diagrama. 3. Modificación de polímero base con bromuro de 5-bromopentil trimetilamonio.

Una vez que se obtuvo el polímero modificado, se procede a realizar las diferentes técnicas de caracterización par verificar que nuestro grupo functional ha sido incorporado en la cadena polimérica.

Una vez obenidos los diferentes polímeros, se realizaron membranas con dichos polímeros usando la técnica de casting para realizar las diferentes técnicas de caracterización y pruebas de conductividad, así como los diferentes análisis químicos y mecánicos.

RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados de los análisis realizados a los polímeros obtenidos:

SINTESIS DE POLÍMERO BASE

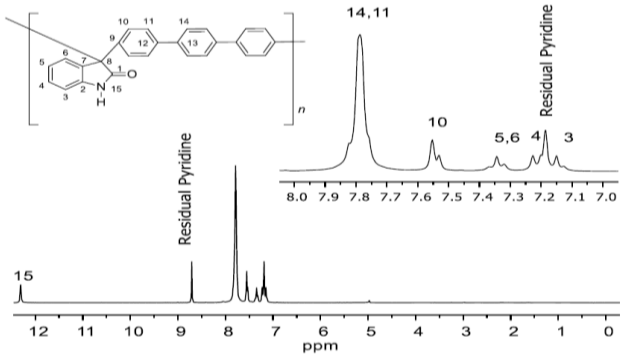


Fig. 1 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear del polímero base.

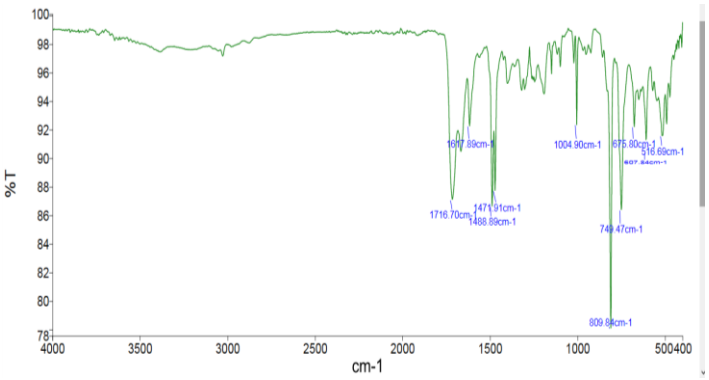


Fig. 2. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier de polímero base.

MODIFICACIÓN DE POLÍMERO BASE CON BROMURO DE 3-BROMOPROPIL TRIMETILAMONIO AL 20%

Nombre de polímero	g de polímero base	mL de NMP	Condic-ión	Rendi-miento %	g de Br P	g de K_2CO_3
PSP-20	1 g	10	20% BPTMA, r.t. 24h	90	0.1	0.155

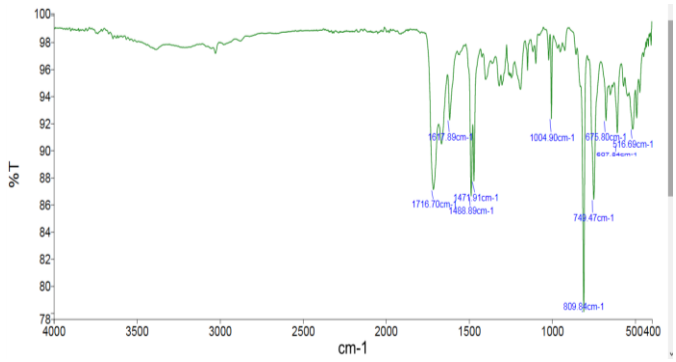


Fig. 3. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier de polímero modificado al 20%.

MODIFICACIÓN DE POLÍMERO BASE CON BROMURO DE 3-BROMOPROPIL TRIMETILAMONIO AL 50%

Nombre de polímero	g de polímero base	mL de NMP	Condición	Rendimiento %	g de Br P	g de K_2CO_3
PSP-50	1 g	10	50% BPTMA, r.t. 24h	98	0.3627	0.3875

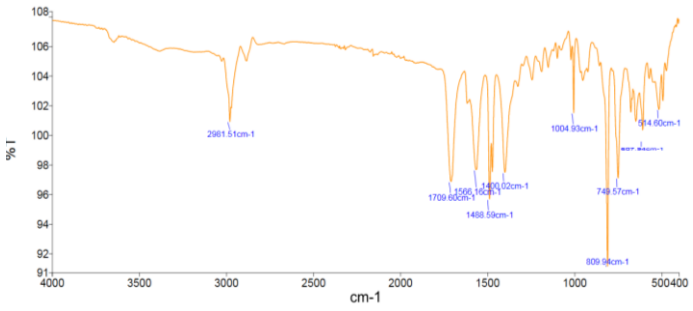


Fig. 4. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier de polímero modificado al 50%.

MODIFICACIÓN DE POLÍMERO BASE CON BROMURO DE 3-BROMOPROPIL TRIMETILAMONIO AL 100%

Nombre de polímero	g de polímero base	mL de NMP	Condición	Rendimiento %	g de Br P	g de K_2CO_3
PSP-100	1 g	16	400% de exceso, BPTMA, r.t. 24h	99	2.9052	1.5392

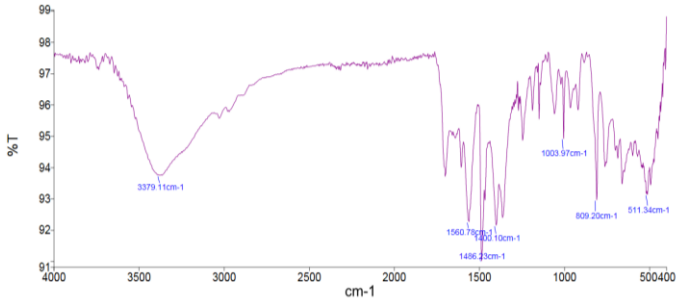


Fig. 5. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier de polímero modificado al 100%.

PRUEBAS DE CONDUCTIVIDAD A MEMBRANAS

Primera lectura		
Nombre de membrana	Impedancia (Ω)	Resistencia real (Ω)
Celda S/M	2.1	2.1
Nafión com.	3.033	0.933
PSP-50	3.6619	1.5619
PSP-100M	2.291	0.191
PSP-100#2	2.876	0.776
PSP-100 #3	2.73	0.63
PSP-100 #3X2	3.198	1.098

CONCLUSIÓN

La síntesis de nuestro polímero se logró ya que la adición de nuestro grupo funcional a la cadena

principal era la esperada, así como los resultados de nuestras pruebas de intercambio aniónico en nuestras membranas dieron excelentes resultados al presentar valores de resistencia inferiores al valor de la membrana de nafión comercial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A High Molecular Weight Aromatic PhOLED Matrix. (2009). *Macromolecules*, 6.

Brandrup, J. e. (1989). *Polymer Handbook.* Nueva York: John Wiley & Sons.

George, O. (1991). *Principles of polymerization* (Tercera edición ed.). Nueva York: John Wiley & Sons.

Lilian I. Olvera, †. M.-G. (2017). Novel High Molecular Weight Aromatic Fluorinated Polymers from. *Macromolecules*, 12.

Lilian I. Olvera, †. M.-M.-T. (2018). A Highly Soluble, Fully Aromatic Fluorinated 3D Nanostructured. *Macromolecules*, 7.

Zhizhang Yuan, †. ,. (2018). Mechanism of Polysulfone-Based Anion Exchange Membranes. *Aplied materials and interfaces*, 9.

Tecno-funcionalidad de frijol procesado por calentamiento óhmico

Ingrid Italia Lima Becerra[1], Gaytán-Martínez, M[2,*], [3,4]Mojica, L., Flavia G. Loarca-Piña[2], Balbuena-Alonso, M[2]

[1]Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.
[2]Posgrado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Research and Graduate Studies in Food Science, School of Chemistry, Universidad Autónoma de Que rétaro.
[3] Department of Food Science and Human Nutrition, University of Illinois at Urbana-Champaign, United States,
[4]Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., CIATEJ, Guad alajara, México

*marcelagaytanm@yahoo.com.mx

Resumen

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.*)* es parte importante de la dieta en México debido a su alta disponibilidad, que además se ha asociado con la prevención y reducción de varias enfermedades crónicas y degenerativas como el cáncer, la obesidad, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares. Debido a esto, se ha tenido un creciente interés en la aplicación de tecnologías de procesamiento enfocadas a mantener o mejorar el perfil nutricional y bioactivo del frijol, para aumentar su uso como ingrediente en productos alimenticios procesados. Las propiedades funcionales de las harinas de leguminosas dependen principalmente de las proteínas, carbohidratos y otros componentes, por lo que el procesamiento de la materia prima influye en las propiedades tecno-funcionales de los ingredientes. El objetivo del presente trabajo fue demostrar la ventaja del uso del calentamiento óhmico con respecto al calentamiento convencional y el procesamiento por extrusión, evaluando y comparando las propiedades tecno-funcionales de la harina de frijol obtenidas mediante cada método. Los resultados obtenidos hasta el momento, en cuanto a la capacidad de absorción de agua, capacidad de absorción de aceite y capacidad de emulsificación, analizados por la prueba de TukeyHSD, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (p= 0.09, p=0.276, p=209 respectivamente). Estos factores son de vital importancia debido al aumento del potencial de uso de este ingrediente en el desarrollo de productos fritos, horneados, masas o alimentos viscosos, donde se requiere de una buena interacción entre proteínas, lípidos y agua.

Palabras clave: Frijol, calentamiento óhmico, propiedades tecno-funcionales.

Abstract

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is an important part of the diet in Mexico due to its high availability, which has also been associated with the prevention and reduction of several chronic and degenerative diseases such as cancer, obesity, diabetes and cardiovascular diseases. For this reason, there has been a growing interest in the application of processing technologies focused on maintaining or improving the nutritional and bioactive profile of beans, to increase their use as an ingredient in processed food products. The functional properties of legume flours mainly depend on proteins, carbohydrates and other components, so the processing of the raw material has an influence on the techno-functional properties of the ingredients. The objective of this work was to demonstrate the advantage of the use of ohmic heating with respect to conventional heating and extrusion processing, evaluating and comparing the techno-functional properties of bean flour obtained by each method. The results obtained so far, regarding the wáter absorption capaciry, oil absorption capacity and emulsifying capacity , analyzed by the TukeyHSD test ($p \leq 0.05$), no significant differences were observed between treatments ($p = 0.09$, $p = 0.276$, p=201 respectively). This factors are important due to the increase in the

potential for use of this ingredient in the development of fried products, baked goods, doughs or viscous foods, where a good interaction between proteins, lipids and water is required.

Keywords: Common bean, Ohmic heating, processing, techno-functional properties

Introducción

La planta de frijol es una herbácea que pertenece a la familia de las leguminosas, junto a los chicharos, haba, soya, mezquites, huizaches, cacahuate, entre otros. Por sus cualidades nutritivas, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la cataloga como la leguminosa alimenticia más importante en el consumo humano en el mundo, considerada junto con otras legumbres como fundamental para la seguridad alimentaria de una nación. Se considera una fuente principal de proteína vegetal en el continente americano y africano. En México, ocupa el segundo lugar en importancia, solo después del maíz (FIRA, 2016), distinguiéndose por su alto contenido de proteína, y, en menor medida, por su aportación de carbohidratos, fibra dietética, vitaminas, minerales y fitoquímicos. Además, el consumo de frijol se ha asociado con la prevención y reducción de varias enfermedades crónicas y degenerativas como el cáncer, la obesidad, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares (Sparvoli y col., 2015), por su contenido de fitoquímicos, relacionados con la actividad antioxidante, efectos antimutagénicos y anticancerígenos (Pedrosa y col., 2015).

Sin embargo, el consumo *per cápita* de frijol en México ha mostrado una tendencia a la baja durante los últimos treinta años, al pasar de un promedio de 16 kg por persona por año a 9.9 kg. Con la finalidad de mejorar su consumo, se ha propuesto su uso como harina (Ramírez-Jiménez y col., 2014), ya que puede utilizarse como ingrediente en diversos alimentos como tortillas, panes, galletas, y así, aumentar su valor nutricional.

Las propiedades funcionales de las harinas de leguminosas dependen principalmente de las proteínas, carbohidratos y otros componentes, por lo que el procesamiento de la materia prima influye en las propiedades funcionales de los ingredientes.

El uso de las tecnologías emergentes ha demostrado ser una alternativa para el procesamiento de alimentos. El calentamiento óhmico ha mostrado ventajas con respecto al calentamiento convencional en la industria, debido a que el calentamiento es rápido y uniforme, teniendo como resultado la disminución del tiempo de procesamiento, la distribución del calor de manera uniforme en el alimento y una eficiencia energética del 90% (Gavahian y col., 2019). Además, es considerada una tecnología prometedora para la producción de harinas debido a la conservación de los constituyentes nutricionales de la materia prima (Kaur y Singh, 2015); sin embargo, no se encuentran reportados estudios que evalúen el efecto del procesamiento del frijol mediante calentamiento óhmico. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue demostrar la ventaja del uso del calentamiento óhmico con respecto al calentamiento convencional y el procesamiento por extrusión, en sus propiedades tecno-funcionales de la harina de frijol.

Metodología

Materiales y Reactivos

Frijol Negro variedad San Luis, cosecha 2017 de Zacatecas, México.

Cocción tradicional

La cocción se llevó a cabo según la metodología de Moreno-Jiménez y col. (2015) con modificaciones. Se colocaron 50 g de frijoles en un vaso de precipitados con 250 mL de agua destilada y se hirvieron durante 2 h. Se drenó y se dejó secar a 50 °C durante 48 h. Posteriormente se molió la muestra usando un molino de café marca Krups de acero inoxidable (modelo GX410011V) y el producto se pasó por una malla No.60.

Obtención de harina de frijol mediante extrusión

El método de extrusión se realizó basado en la metodología de la Rosa-Millán y col., (2017) con modificaciones. Se utilizó un extrusor de acero

inoxidable 304 de tornillo sencillo con una relación de compresión 1:1; relación L/D= 20 con diámetro de 1 pulgada acoplado de un dado con un orificio de 5 mm a una velocidad de 10 rpm con una temperatura de 120 °C.

Los extrudidos se deshidrataron a una temperatura de 60 °C durante 48 h. Posteriormente se molieron usando un molino de café marca Krups de acero inoxidable (modelo GX410011V) y el producto se pasó por una malla No.60.

Obtención de harina por calentamiento óhmico

Se empleó una celda de Nylamide con electrodos de acero inoxidable y una capacidad aproximada de 150 g.

El frijol entero se calentó óhmicamente con una potencial de 60 V a diferentes tiempos y temperaturas (10 y 15 min; 100 y 110 °C). Después las muestras se secaron a 50°C por 48 horas para finalmente molerse en un molino de café marca Krups de acero inoxidable (modelo GX410011V) y pasarse por una malla No. 60. Las muestras obtenidas y la condición se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de calentamiento óhmico para cada harina

Harina	Temperatura (ºC)	Tiempo (min)
H1	100	10
H2	100	15
H3	110	10
H4	110	15

Caracterización de las harinas de frijol

Índice de absorción de agua

El índice de absorción de agua se determinó utilizando el método descrito por Ramírez-Jiménez y col. (2014). Se suspendieron 5 g de harina deshidratada en 30 mL de agua destilada en un tubo de centrífuga pesado con anterioridad de 50 ml, se vortexeó durante 1 min y se centrifugó a 3000 g durante 10 min a 25ºC. El líquido sobrenadante se desechó y se drenaron los tubos durante 10 minutos en una toalla de papel. Se pesó cada muestra y el resultado se expresa como gramos de agua retenida por gramo de sólido seco (g/g).

Capacidad de absorción de aceite

La capacidad de absorción de aceite se determinó según Ramírez-Jiménez y col. (2014) con ligeras modificaciones. A 1 g de harina de frijol deshidratada se le agregaron 10 mL de aceite vegetal en un tubo de centrífuga de 50 ml previamente pesado. La suspensión se agitó durante 2 minutos, se dejó reposar a 28ºC durante 30 minutos y luego se centrifugó a 15000g durante 20 minutos. Se va a decantó y desechó el sobrenadante. Las gotas de aceite adheridas en el tubo de centrifugación se removieron con algodón y posteriormente se pesó el tubo.

El resultado expresa como el peso de aceite absorbido por gramo de harina.

Capacidad emulsificante

La determinación de la capacidad emulsificante se llevara de acuerdo a la metodología propuesta por Zouari y col. (2016) con ligeras modificaciones. Se mezcló 1 g de muestra con 20 mL de agua, se agitó durante 15 min, se ajustó el pH a 7 y se llevó a 25 mL con agua destilada. Posteriormente se mezclaron 25 mL de esta solución con 25 mL aceite de maíz en una licuadora por 3 min y se centrifugaron a 1300g por 5 min. La emulsión se expresa en términos de porcentaje, como la altura de la capa emulsificada con respecto al total del líquido.

Diseño experimental

El diseño se llevó a cabo de forma completamente aleatoria. Se evaluó el efecto del voltaje, temperatura y el tiempo como variables independientes al procesar el frijol por calentamiento óhmico. Todas las mediciones se llevaron a cabo como experimentos independientes por duplicado. Los datos se expresaron como media ± desviación estándar (DS). La comparación de las propiedades tecno-funcionales de frijol procesado de manera tradicional, por extrusión y calentamiento óhmico se llevó a cabo mediante una prueba de TukeyHSD ($p \leq 0.05$) utilizando el programa estadístico R.

Resultados

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la capacidad de absorción de agua para cada tipo de procesamiento de harina de frijol. No se observaron diferencias significativas ($p \geq 0.09$) entre las muestras y entre los tratamientos (Figura 1). La harina H1 presentó la menor absorción de agua (2.66±0.04 g de agua/g muestra), en tanto que la harina de la cocción tradicional fue la que presentó el valor más alto (3.14±0.03 g de agua/g muestra).

Tabla 2. Capacidad de absorción de agua de las harinas de frijol procesadas con diferentes tratamientos

Muestra	Agua absorbida (g de agua/g muestra)
H1	2.66±0.04
H2	2.81±0.24
H3	2.90±020
H4	2.91±0.02
Extrusión	3.09±0.13
Tradicional	3.14±0.03

Los resultados se presentan como la media de las determinaciones ±DS n=2

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la capacidad de absorción de aceite para cada tipo de procesamiento de harina de frijol. Al igual que en la capacidad de absorción de agua, estas no presentaron diferencias significativas ($pr \geq 0.28$) harinas (Figura 2).

Tabla 3. Capacidad de absorción de aceite de las harinas de frijol procesadas con diferentes tratamientos

Muestra	Aceite absorbido (mL aceite/g muestra)
H1	0.80±0.09
H2	0.85±0.00
H3	0.86±0.02
H4	0.90±0.04
Extrusión	0.92±0.04
Tradicional	0.95±0.11

Los resultados se presentan como la media de las determinaciones ±DS n=2

De forma general puede observarse que no hay una influencia en cuanto a la temperatura y tiempo de cocción para las harinas procesadas por calentamiento óhmico (Figura 1 y 2), ya que, tanto entre temperaturas (H1-H2 y H3-H4) y tiempos (H1-H3 y H3-H4) no se encuentran diferencias significativas, teniendo valores de p cercanos a 1.

Sin embargo, la harina que representa una menor diferencia entre los procesos de extrusión y cocción tradicional resulto ser la H4 (condición de 110 °C/15 min), siendo hasta ahora la mejor condición para el procesamiento por calentamiento óhmico.

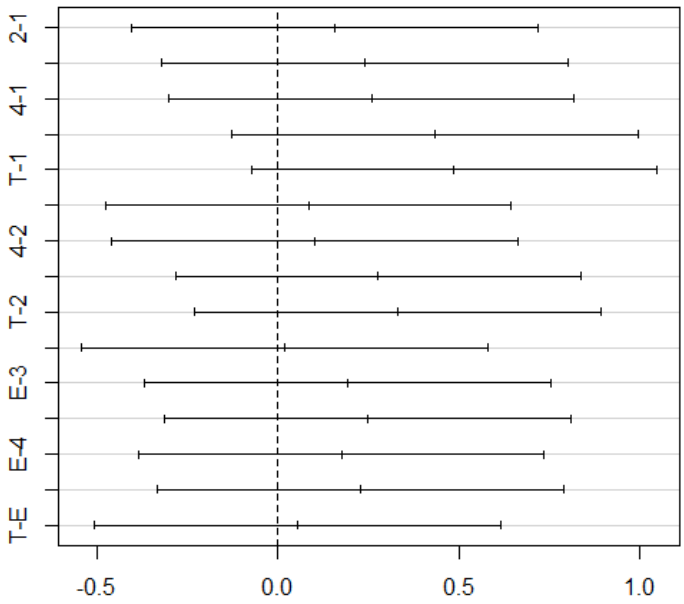


Figura 1 Gráfico de Tukey de múltiples comparaciones de medias con nivel de confianza de 95% para capacidad de absorción de agua. T: Cocción tradicional, E: Cocción por extrusión, 1-4: Diferentes tratamientos de cocción por calentamiento óhmico

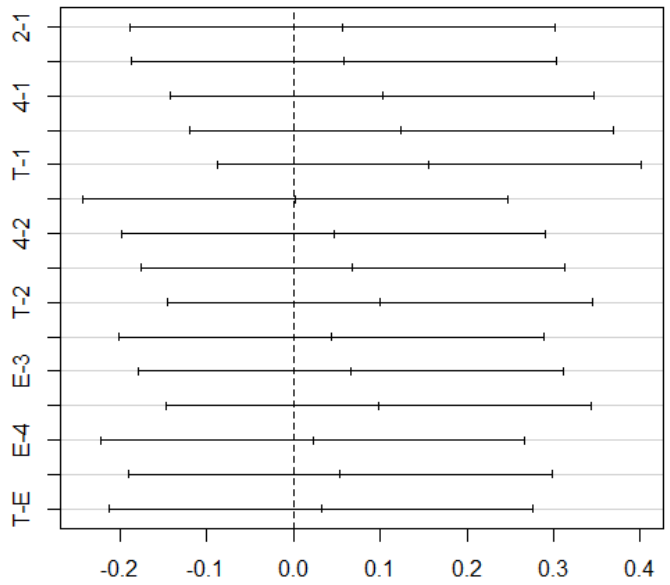


Figura 2. Gráfico de Tukey de múltiples comparaciones de medias con nivel de confianza de 95% para capacidad de absorción de aceite. T: Cocción tradicional, E: Cocción por extrusión, 1-4: Diferentes tratamientos de cocción por calentamiento óhmico.

Para los resultados de capacidad emulsificante (Tabla 4) las harinas H1 y H2 no presentaron emulsificación después del proceso. Ambas corresponden a la misma condición de temperatura (100 °C) y aun en diferentes tiempos (10 y 15 min), ninguna presento la capa de emulsificación, por lo que no fueron tomadas en cuenta para hacer el análisis (Figura 3).

Tabla 4. Capacidad emulsificante de las harinas de frijol procesadas con diferentes tratamientos

Muestra	Altura de la capa (mL)	Emulsificación (%)
H1	ND	-
H2	ND	-
H3	27.2±0.00	54.4
H4	23.5±9.19	47
Extrusión	21.25±1.77	42.5
Tradicional	15±0.00	30

Los resultados se presentan como la media de las determinaciones ±DS n=2, ND: no detectado.

Al igual que en las determinaciones anteriores, las muestras analizadas no presentaron diferencias significativas (pr≥0.21).

Nuevamente no se ve un efecto en cuanto a la variación del tiempo para el frijol tratado a una temperatura de 110° (H3 y H4) y en ambas no se encuentran diferencias contra los tratamientos convencionales (Figura 3).

Discusión

Capacidad de absorción de agua

La capacidad de absorción de agua de la harina juega un papel importante en el proceso de preparación de alimentos porque influye en otras propiedades funcionales y sensoriales. La capacidad de absorción de las harinas de leguminosas está directamente correlacionados con sus propiedades de cocción y afectan sus propiedades de procesamiento de alimentos (Ramírez-Jiménez y col., 2014).

Los resultados para calentamiento óhmico varían en un rango de 2.66 a 2.91 g de agua / g muestra, lo cual concuerda con lo reportado por Ramírez-Jiménez y col. (2014), donde además, se indica que valores entre 2.64 a 3.73 g de agua/ g muestra representan una cocción completa del frijol, por lo que se puede inferir que todas las muestras óhmico tuvieron una cocción correcta.

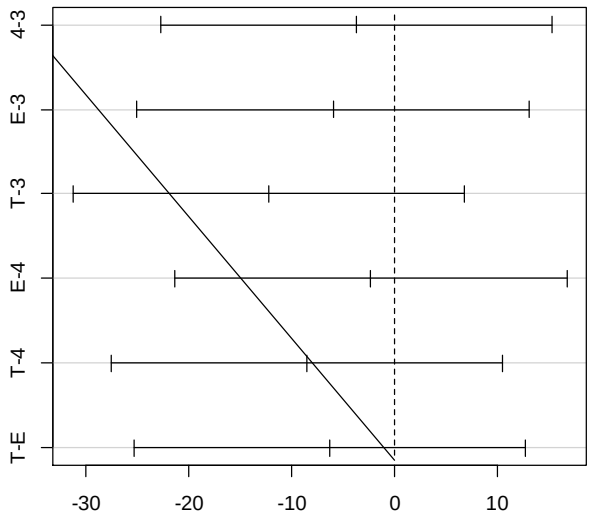


Figura 3. Gráfico de Tukey de múltiples comparaciones de medias con nivel de confianza de 95% para capacidad de emulsificación. T: Cocción tradicional, E: Cocción por extrusión, 3 y 4: Diferentes tratamientos de cocción por calentamiento óhmico.

Este parámetro es importante ya que nos permite predecir el comportamiento de las harinas cuando ocurre la reconstitución, y es una medida de la funcionalidad. Esta funcionalidad es atribuida principalmente a las proteínas. La calidad proteica de las harinas de leguminosas afecta su capacidad de absorción de agua. Debido al procesamiento térmico, existe una desnaturalización de las proteínas, especialmente la albumina, que aumenta su accesibilidad y en consecuencia a los aminoácidos polares, los cuales tienen una gran afinidad por el agua, produciéndose un incremento en la capacidad para absorber agua (Ramírez-Jiménez y col., 2014). Además, la probable gelatinización del almidón y el hinchamiento de la fibra dietética también pueden contribuir al incremento de esta capacidad. La cual es fundamental en alimentos viscosos tales como sopas, salsas, masas y productos horneados, productos donde se requiere una buena interacción proteína-agua, que tienen un impacto en el producto terminado (Marquezi y col., 2016)

Capacidad de absorción de aceite

La capacidad de absorción de aceite de harinas de leguminosas es muy importante para mejorar la textura de la boca y mantener el sabor de los productos alimenticios (Du y col., 2014).

Los valores de las harinas por calentamiento óhmico variaron de 0.80 a 0.90 mL aceite / g de muestra. Estos resultados difieren de lo reportado en otros estudios (Gamboa-Gómez y col., 2015; Alves y col., 2019); donde hubo una cocción y deshidratación de los granos de forma tradicional, además de haber un proceso de fermentación de por medio. La actividad enzimática puede causar cambios en las proteínas, y luego exponer sus porciones hidrofóbicas y permitir la interacción con los lípidos, fomentando este fenómeno. Sin embargo, los resultados concuerdan con lo obtenido por Ramírez-Jiménez y col. (2014) en donde la recolección de aceite varió de 0.76 a 0.88 mL / g. Lo que sugiere que el procesamiento por calentamiento óhmico ayuda a disminuir la absorción de aceite en la harina, lo cual es una cualidad deseable, ya que puede ser una tecnología alternativa a la deshidratación, para obtener productos fritos reducidos en grasas (Ramírez-Jiménez y col., 2014).

La capacidad de absorción de aceite es producto del atrapamiento físico de las grasas por parte de las proteínas. El tratamiento térmico puede causar cambios en las proteínas, de sus porciones hidrofóbicas y permitir la interacción con los lípidos, además de las interacciones almidón-proteína, lo que aumenta este fenómeno. Según esta sugerencia, se puede decir que hay una menor cantidad de cadenas laterales no polares disponibles en las moléculas de proteína de la harina, lo que disminuye su capacidad para unirse.

Esta capacidad de las proteínas de enlazar lípidos, además de ser importante para la formulación de productos para freír y para la retención de los sabores, disminuye el desarrollo de la rancidez oxidativa y en consecuencia aumenta la estabilidad durante el almacenamiento (Du y col., 2014).

Capacidad emulsificante

El equilibrio hidrofílico/hidrofóbico de los aminoácidos en una proteína, particularmente en su superficie, puede influir en la capacidad emulsificante, además de los carbohidratos, especialmente el almidón y la fibra, que también pueden ayudar a atrapar y aglutinar con aceite y/o agua, contribuyendo a la capacidad emulsificante (Gupta y col., 2018). Básicamente, las proteínas actúan como un emulsionante al formar una película alrededor de las gotas de aceite dispersas en un medio acuoso evitando los cambios estructurales.

Para calentamiento óhmico se obtuvo un rango de 47 a 54%. Estos resultados no difieren de lo obtenido por Alves y col. (2019), donde se presentan rangos entre 42.57-42.81%.

Este parámetro para las harinas es crítico para su aplicación en productos de panadería, incluidos pasteles, panes y muffins. En general, las harinas y proteínas de leguminosas muestran una buena capacidad emulsionante (Foschia y col., 2017).

Conclusiones

Los resultados obtenidos hasta ahora, de forma general, nos permiten hacer una comparación entre tratamientos en la que no se pueden observar diferencias y que, sumado a ello, se encuentran dentro los rangos reportados en la literatura, donde la harina H4, procesada por calentamiento óhmico, ha presentado los mejores resultados al tener la mayor absorción de agua y aceite y un buen rendimiento en cuanto al porcentaje de emulsificación, además de coincidir con lo publicado en otros estudios. Esto sugiere que el procesamiento de frijol por calentamiento óhmico puede ser igual o mejor en cuanto a los métodos convencionales, ya que, además de tener una eficiencia energética superior (90%), un tiempo de procesamiento mucho más corto (10 a 15 min, en comparación con las 2 h de los procesos convencionales) y tener características del producto comprables a las obtenidas por otros procedimientos, no existe una pérdida de agua, por lo que no se llevaría a cabo la lixiviación de las propiedades nutricionales del frijol; sin embargo, para sostener tal aseveración se requiere la realización de los estudios faltantes.

Referencias

1. Alves, J. S., Rodrigues, A. S., Moro, K. I. B., Boeira, C. P., Londero, P. M. G., & Rosa, C. S. (2019). Chemical characterization, bioactive compounds, and functional technological properties of flour from two cultivars of landrace common beans (Phaseolus vulgaris L.). International Food Research Journal, 26(2).
2. Du, S., Jiang, H., Yu, X., & Jane, J. (2014). Physicochemical and functional properties of whole legume flour. LWT - Food Science and Technology, 55(1), 308–313.
3. FIRA (2016). "Panorama agroalimentario para frijol 2016", Boletín Informativo, Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura, México
4. Foschia, M., Horstmann, S. W., Arendt, E. K., & Zannini, E. (2017). Legumes as functional ingredients in gluten-free bakery and pasta products. Annual review of food science and technology, 8, 75-96.
5. Gamboa-Gómez, C. I., Muñoz-Martínez, A., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jiménez, M. R., González-Herrera, S. M., & González-Laredo, R. F. (2016). Changes in phytochemical and antioxidant potential of tempeh common bean flour from two selected cultivars influenced by temperature and fermentation time. Journal of Food Processing and Preservation, 40(2), 270-278.
6. Gavahian, M., Tiwari, B. K., Chu, Y. H., Ting, Y. W., & Farahnaky, A. (2019). Food texture as affected by ohmic heating: Mechanisms involved, recent findings, benefits, and limitations. Trends in Food Science & Technology.
7. Kaur, N., & Singh, A. K. (2015). Ohmic Heating: Concept and Applications—A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56(14), 2338–2351.
8. Marquezi, M., Gervin, V. M., Watanabe, L. B., Bassinello, P. Z., & Amante, E. R. (2016). Physical and chemical properties of starch and flour from different common bean (Phaseolus vulgaris L.) cultivars. Brazilian Journal of Food Technology, 19.
9. Pedrosa, M. M., Cuadrado, C., Burbano, C., Muzquiz, M., Cabellos, B., Olmedilla-Alonso, B. and AsensioVegas, C. (2015). Effects of industrial canning on the proximate composition, bioactive compounds contents and nutritional profile of two Spanish common dry beans (Phaseolus vulgaris L.). Food Chemistry 166(1): 68–75.
10. Ramírez-Jiménez, A. K., Reynoso-Camacho, R., Mendoza-Díaz, S., & Loarca-Piña, G. (2014). Functional and technological potential of dehydrated Phaseolus vulgaris L. flours. Food Chemistry, 161, 254–260.
11. Sparvoli, F., Bollini, R., and Cominelli, E. (2015). "Nutritional value," in Grain Legumes, ed A. De Ron (New York, NY: Springer Science+Business Media), 291–326.
12. Zouari, R., Besbes, S., Ellouze-Chaabouni, S., & Ghribi-Aydi, D. (2016). Cookies from composite wheat–sesame peels flours: Dough quality and effect of Bacillus subtilis SPB1 biosurfactant addition. Food chemistry, 194, 758-769.
13. de la Rosa-Millán, J., Pérez-Carrillo, E., & Guajardo-Flores, S. (2017). Effect of germinated black bean cotyledons (Phaseolus vulgaris L.) as an extruded flour ingredient on physicochemical characteristics, in vitro digestibility starch, and protein of nixtamalized blue maize cookies. Starch-Staerke, 69(3-4), 1600085.
14. Moreno-Jiménez, M. R., Cervantes-Cardoza, V., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Estrella, I., García-Gasca, T. D. J., ... & Rocha-Guzmán, N. E. (2015). Phenolic composition changes of processed common beans: their antioxidant and anti-inflammatory effects in intestinal cancer cells. Food Research International, 76, 79-85.

Efecto antiinflamatorio *in vivo* de una botana horneada de maíz y frijol común

Ivan Luzardo-Ocampo[a*], Rocio Campos-Vega[a], Luis Mojica[b], Elvira González de Mejía[c], Jorge A. Acosta-Gallegos[d], Guadalupe Loarca-Piña[a**].

[a] Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC), Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro (México).
[b] Tecnología Alimentaria, Centro de Asistencia y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Guadalajara, Jalisco (México).
[c] Departamento de Nutrición Humana y Ciencias de los Alimentos, Universidad de Illinois en Urbana-Champaign, Urbana, Illinois (Estados Unidos).
[d] Centro de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)-Campo Experimental Bajío, Celaya, Guanajuato (México).

* E-mail: ivan.8907@gmail.com
** Autor de correspondencia: loarca@uaq.mx

Resumen

La colitis crónica (CU) es una condición inflamatoria creciente a nivel mundial. Productos elaborados de ingredientes como maíz (*Zea mays* L.) y frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) podrían ser una alternativa para la prevención de CU por su contenido de compuestos bioactivos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antiinflamatorio de una botana horneada de maíz nixtamalizado y frijol común cocido (CBS) en un modelo *in vivo* de colitis crónica, utilizando dextrán sulfato de sodio (DSS, 2% v/v, 6 semanas) como agente colitogénico. Ratones CD-1 (45) fueron distribuidos aleatoriamente en cinco grupos: G1 (dieta basal, BD), G2 (2% DSS), G3 (20 g CBS/kg peso corporal, BW-día+BD), G4 (40 g CBS/kg BW-day+BD) y G5 (60 g CBS/kg BW-día+BD). BW, índice de actividad de la enfermedad (DAI) y heces se recolectaron durante el tratamiento. Tras el sacrificio: bazo, hígado y colon fueron removidos y pesados. Se analizaron los metabolitos y la actividad de β-glucuronidasa (β-GLUC) en heces. Se realizó análisis histopatológico, actividad de mieloperoxidasa (MPO) y la expresión de genes asociados a inflamación en colon. Se cuantificaron niveles séricos de citocinas. Al finalizar el tratamiento, G4 presentó el menor DAI (0.88) y puntaje histológico ($p<0.05$). G3 mostró los menores niveles de MPO (10.4%) y β-GLUC (8.6%). El consumo de CBS redujo niveles séricos de TNF-α, IL-10 y MCP-1. G4 presentó reducción diferencial de *Il1r1, Il1a, Tlr4* y *Tnfrsf1b.* Concluyendo, el consumo de botanas saludables e hipocalóricas, elaboradas con maíz y frijol común tienen potencial para el tratamiento de CU.

Abstract

Chronic colitis (CU) es a worldwide growing condition. Products made from ingredients such as corn (*Zea mays* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) might help as an alternative in the prevention of CU for its content of bioactive compounds. This research aimed to assess the anti-inflammatory effect of a baked snack made from nixtamalized corn (*Zea mays* L.) and cooked common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) (CBS) in chronic colitis *in vivo.* Dextran sodium sulfate (DSS, 2 %, 6-weeks treatment) was used as a colitogenic agent. CD-1 mice (45) were randomly distributed into 5 groups: G1 (basal diet, BD), G2 (2% DSS), G3 (20 g CBS/kg body weight BW-day+BD), G4 (40 g CBS/kg BW-day+BD), and G5 (60 g CBS/kg BW-day+BD). BW, disease activity index (DAI) and feces were collected throughout the treatment. After euthanizing, organs (spleen, liver, colon) were excised and weighed. Fecal metabolites and β-glucuronidase activity (β-GLUC) was analyzed. Histopathological analysis, myeloperoxidase activity (MPO), and inflammation-associated gene expression levels in the colon were conducted. Seric cytokines levels were quantified. At the end of the treatment, G4 showed the lowest DAI

(0.88) and histological grade ($p<0.05$). G3 presented the lowest MPO (10.4%) and β-GLUC (8.6%). CBS consumption reduced seric levels of TNF-α, IL-10, and MCP-1. G4 presented a differential reduction of *Il1r1, Il1a, Tlr4* y *Tnfrsf1b.* In conclusion, the consumption of healthy and low-calorie snacks, made from corn and common bean, has the potential for the treatment of CU.

Palabras Clave: Botana, frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), maíz (*Zea mays* L.), inflamación, colitis crónica.

Keywords: Chronic colitis, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), corn (*Zea mays* L.), inflammation, snack.

Introducción

La colitis crónica (CU) es una enfermedad inflamatoria intestinal de amplio crecimiento a nivel mundial, caracterizada por una condición inflamatoria idiopática en el colon que se manifiesta en forma de sangre en las heces y diarrea (Ungaro, Mehandru, Allen, Peyrin-Biroulet, & Colombel, 2017). A pesar de los avances que ha habido en el tratamiento de la enfermedad, muchos pacientes experimentan respuestas diversas a los mismos sin mostrar mejora de la condición inflamatoria, por lo que un enfoque en los factores de riesgo de colitis, como los factores ambientales y el estilo de vida, podría ser una estrategia diferencial en el abordaje de CU (Asakura & Kitahora, 2018).

Tanto el maíz (*Zea mays* L.) como el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) son alimentos nutracéuticos con una cantidad considerable de compuestos bioactivos, en los que la fibra dietaria constituye una importante proporción (Awika, Rose, & Simsek, 2018). El contenido de fibra en los frijoles ha sido vinculado a una importante modulación de CU debido a que su fermentación por parte de la microbiota colónica genera ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales al activar de los receptores acoplados a proteínas G en los colonocitos median en diferentes vías supresoras de inflamación como la inhibición del complejo NF-κB y sus promotores pro-inflamatorios (iNOS, COX-2, TNF-α), IL-1β e IL-6 (McLeod, Richards, Yap, & Mariño, 2019).

Estudios previos realizados por el equipo de trabajo demostraron que el uso de maíz nixtamalizado y frijol común cocido como ingredientes para elaborar botanas hipocalórica tiene potencial efecto antiinflamatorio en macrófagos murinos RAW 264.7, estimulados con lipopolisacárido (LPS) como inductor de inflamación, manifestado en la disminución de la producción de óxido nítrico, peróxido de hidrógeno y modulación de la vía de señalización de TNF-α y enfermedad inflamatoria intestinal (Luzardo-Ocampo et al., 2017, 2018). Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antiinflamatorio de una botana horneada de harina de maíz nixtamalizado y frijol común cocido en un modelo *in vivo* de colitis crónica. La hipótesis fue que el consumo de la botana reduciría marcadores de inflamación colónica por medio de la regulación del receptor de IL-1 y vías asociadas a TNF-α y TLR4.

Metodología

Elaboración de la botana horneada de harina de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado y frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocido (CBS)

El maíz (*Zea mays* L.) y el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) fueron donados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)-Campus Experimental Bajío. Para preparar la botana (CBS) se siguió el procedimiento reportado por Luzardo-Ocampo et al. (2017). Brevemente, 70 % de harina de maíz nixtamalizado (cocción alcalina con 1% $Ca(OH)_2$ p/v por 30 minutos, 92 ºC; seguido de 12 h de reposo a temperatura ambiente, y lavado) se mezclaron con 30 % de harina de frijol cocido (relación 1:4 de frijol común:agua, cocidos a 92 ºC durante 2 horas). Posteriormente, la masa fue cortada en forma de triángulos (totopos, 1.5 ± 0.1 g) y se hornearon en horno eléctrico a 180 ± 2 ºC por 16 minutos. Esta proporción de harina de maíz y frijol fue seleccionada basada en previos estudios de optimización donde dicha formulación alcanzó la

mejor valoración sensorial y el contenido de macronutrientes más favorable.

Diseño experimental del modelo

Este modelo contó con previa aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (CBQ16/1116-6) y siguió los lineamientos del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (NIH) para el tratamiento y cuidado de animales. Ratones macho de la cepa CD-1/ICR (n=45, 6-8 semanas de edad) fueron adquiridos en el Instituto de Neurobiología (UNAM, Campus Juriquilla, México). Los animales fueron mantenidos en jaulas plásticas, a temperatura controlada (21-23 ºC) y un ciclo día/noche de 12 h. Como agente inductor de colitis crónica se usó dextrán sulfato de sodio (DSS) grado colitis, de 40 kDa de peso molecular (Tdb Consultancy, Uppsala, Suecia) disuelto en el agua de bebida de los animales (2% p/v) y se administró alternado con agua durante un período de 6 semanas. Se utilizó este agente químico y este modelo ya que es el que más se asemeja a un proceso de colitis crónica humana (Chassaing, Aitken, Malleshappa, & Vijay-Kumar, 2014).

Luego de 1 semana de aclimatación con dieta basal (BD), los animales (n=9 animales/grupo) fueron distribuidos aleatoriamente en 5 grupos: G1 (control sano, alimentado con dieta basal, BD), G2 (control inducido con 2 % de DSS + BD), G3 (20 g CBS/kg BW-día), G4 (40 g CBS/kg BW-día) y G5 (60 g CBS/kg BW-día). Los animales tuvieron acceso al agua y la dieta *ad libitum.* Durante el tratamiento se registró el peso corporal, el índice de actividad de la enfermedad (DAI) y se recolectaron heces, las cuales fueron preservadas a -80 ºC, protegidas de la luz, para posterior análisis metabolómico y enzimático.

Mediciones macroscópicas e Índice de Actividad de la Enfermedad (DAI)

Durante el tratamiento se midió dos veces el peso corporal por semana utilizando una balanza calibrada. Al finalizar el tratamiento, los animales fueron anestesiados utilizando dióxido de carbono (CO_2) y pentobarbital (10 mg/kg BW, inyectado intraperitonealmente) y sacrificados por dislocación cervical. Los órganos (bazo, hígado y colon) fueron removidos y pesados. Se midió la longitud del colon y se reservó tejido en formaldehído (10 % v/v) por 24 h para análisis histopatológico, y para análisis posterior de mieloperoxidasa (MPO) colónica y nivel de expresión de genes (solución RNA*later,* Sigma-Aldrich, -80 ºC).

Durante el tratamiento se registró el índice de actividad de la enfermedad (DAI), una escala basada en la asignación de un puntaje que considera la pérdida de peso corporal, el sangrado rectal y la consistencia de las heces (Chassaing et al., 2014)

Análisis histopatológico

Los tejidos colónicos preservados en formaldehído se prepararon para análisis histopatológico utilizando la técnica de tinción en hematoxilina y eosina siguiendo la metodología de Dominguez-Uscanga, Loarca-Piña, & Gonzalez de Mejia (2017). Tres investigadores realizaron de forma independiente (n=9/grupo) asignaciones del puntaje histológico teniendo en cuenta el grado de inflamación del tejido colónico.

Cuantificación de metabolitos fecales por microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gases-masas (GC-MS)

Los metabolitos fecales de analizaron por extracción en SPME y análisis en GC-MS utilizando la metodología reportada por Zamora-Gasga et al., (2015). Específicamente para los ácidos grasos de cadena corta (AGCCs), fueron cuantificados utilizando curvas de calibración de ácido acético, propiónico y butírico (Luzardo-Ocampo et al., 2017).

Ensayos enzimáticos colónicos y fecales

La actividad de β-glucuronidasa fecal fue cuantificada espectrofotométricamente por la liberación de fenolftaleína (405 nm) a partir del sustrato fenolftaleín-β-D-glucurónido (Cuellar-Nuñez et al., 2018). Para la actividad de mieloperoxidasa colónica en el tejido colónico, se

siguieron las instrucciones provistas por un kit comercial de mieloperoxidasa (MAK08, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, Estados Unidos). La actividad enzimática fue expresada en nmol/min/g de heces o tejido colónico, respectivamente.

Análisis de citocinas séricas por ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas (ELISA)

Se cuantificaron los niveles séricos de TNF-α, IL-6, IL-12 p70 y MCP-1/CCL12 siguiendo las instrucciones del fabricante de kits comerciales de ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, Estados Unidos. Códigos: DY410, DY406, DY417, DY419, DY479, respectivamente).

Análisis metabolómico predictivo

Se realizó un análisis del perfil metabolómico de las heces de todos los grupos utilizando el software MetaboAnalyst 3.0. Primeramente se hizo un análisis discriminante de cuadrados parciales mínimos (PLS-DA) utilizando un algoritmo para la determinación de la posición de cada metabolito de acuerdo con el número de componentes y el número de variables. Se generaron mapas de calor (*heatmaps*) utilizando normalización de componentes por sumas y agrupación por el algoritmo de Ward (Gertsman & Barshop, 2018).

Expresión de genes en colon y análisis de rutas metabólicas

Los tejidos colónicos preservados en RNA*later* fueron descongelados, homogenizados y su ARN fue extraído y convertido a cADN según lo reportado por Dominguez-Uscanga et al. (2017). El cADN total se analizó en un arreglo 96x96 de Fluidigm (Fluidigm BK-M-96.96, San Francisco, CA, Estados Unidos) utilizando cebadores (*primers*) correspondientes a un microarreglo de inflamación de Qiagen (Qiagen, Hilden, Alemania). La expresión resultante de cada gen fue normalizada utilizando diferentes genes constitutivos (*Housekeeping*) (*ACTB, GAPDH, RPLP0*) y el análisis en el software Fluidigm Real-Time PCR a partir de la fórmula $2^{-\Delta C_t}$. Posteriormente, se utilizó el software Ingenuity Pathway Analysis (IPA,Qiagen) para el análisis predictivo de procesos biológicos y principales condiciones metabólicas y funciones predichas por los genes.

Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron utilizando ANOVA de una vía y prueba de Tukey-Kramer o test de Kruskal-Wallis ($p<0.05$). La normalidad de los datos fue evaluada analizando su distribución, gráficos de normalidad y el test de Shapiro-Wilk. Todos los datos se presentaron como la media ± desviación estándar (DE) de 9 ratones por grupo. Se utilizó el software JMP v. 8.2 para el análisis estadístico y Prism v. 6.0 o Microsoft Excel® 2019 para la elaboración de gráficos.

Resultados

Medidas macroscópicas y análisis histopatológico

La Figura 1 muestra la evolución del peso corporal (Figura 1A), el índice de actividad de la enfermedad (Figura 1B), el peso relativo de bazo (Figura 1C), el puntaje histológico del tejido colónico (Figura 1D), la relación peso/longitud del colon (Figura 1E) e imágenes representativas de las longitudes de colon y los cortes histopatológicos (Figura 1F) de todos los grupos del modelo *in vivo* de colitis crónica.

Como se observa en las figuras, entre los grupos administrados con DSS el G3 mostró la mayor protección frente a la pérdida de peso al finalizar el tratamiento (Figura 1A), G4 mostró el menor índice de actividad de la enfermedad (0.88) (Figura 1B), y fue este mismo grupo el que presentó menor peso relativo de bazo (Figura 1C) y menor puntaje histológico entre los grupos que consumieron la botana (CBS) (Figura 1D). Respecto a la relación de peso/longitud de colon, 40 g/kg BW-día (G4) fue la dosis más efectiva previniendo el incremento de esta relación (Figura 1E), hecho que se confirma en las imágenes representativas donde incluso presentó longitudes similares al control sano y un menor daño epitelial inducido por el DSS (Figura 1F). El DSS

causó alteración de la arquitectura colónica e incremento de la celularidad en la zona de inflamación (Figura 1F), mientras que la mayor dosis de botana (60 g CBS/kg BW-día, G5) no mostró efectos reductores de la inflamación como se evidencia en todas las figuras, mostrando incluso niveles de longitud de colon y daño histológico similares al grupo inducido (G2: 2% DSS). No hubo diferencias en el peso de hígado entre los grupos ($p<0.05$) (datos no mostrados).

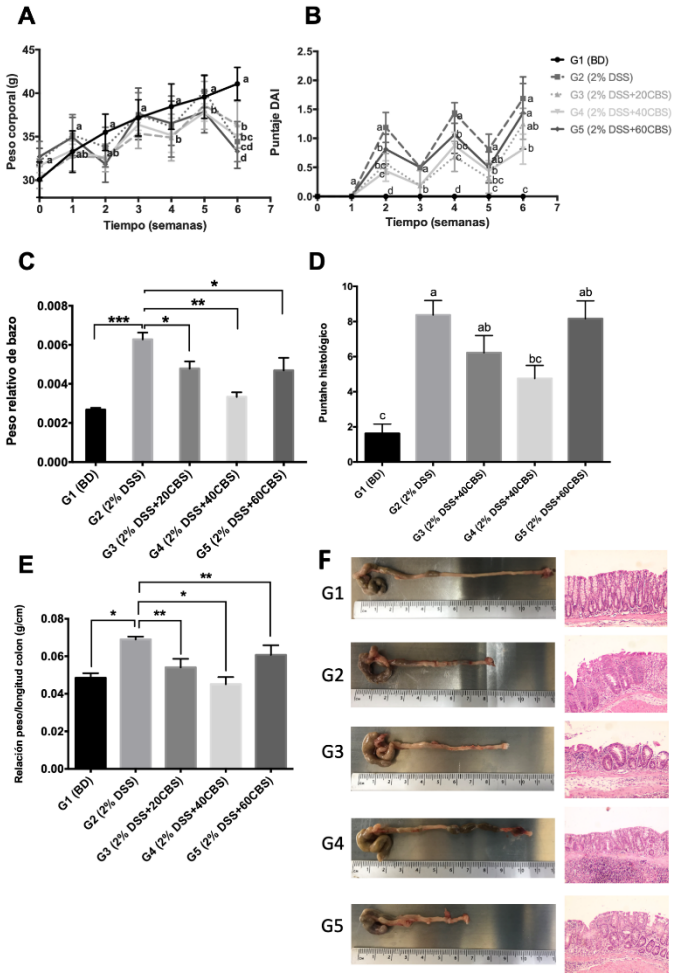


Figura 1. Efecto del consumo de la botana en medidas macroscópicas para los diferentes grupos del modelo *in vivo* de colitis crónica: **(A)** peso corporal; **(B)** Índice de actividad de la enfermedad (DAI); **(C)** peso relativo de bazo; **(D)** puntaje histológico; **(E)** relación peso/longitud de colon y **(F)** imágenes representativas de la longitud de colon y los correspondientes cortes histológicos. Los datos han sido expresados como la media ± DE. Las letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer. Los asteriscos indican diferencias significativas ($p<0.05$) por la prueba de Kruskal-Wallis.

La Figura 2 muestra el efecto del consumo de la botana en los niveles de actividad enzimática de mieloperoxidasa (MPO) colónica (Figura 2A) y β-glucuronidasa fecal (β-GLUC) (Figura 2B). Se muestra que el grupo suministrado con la dosis más baja de botana presentó los menores niveles de actividad de MPO y similares a los del control sano ($p<0.05$), presentando la misma tendencia en la actividad de β-glucuronidasa fecal. La mayor dosis de la botana presentó los mayores niveles de ambas enzimas (9.00±0.76 y 0.71±0.05 nmol/min para MPO y β-GLUC, respectivamente).

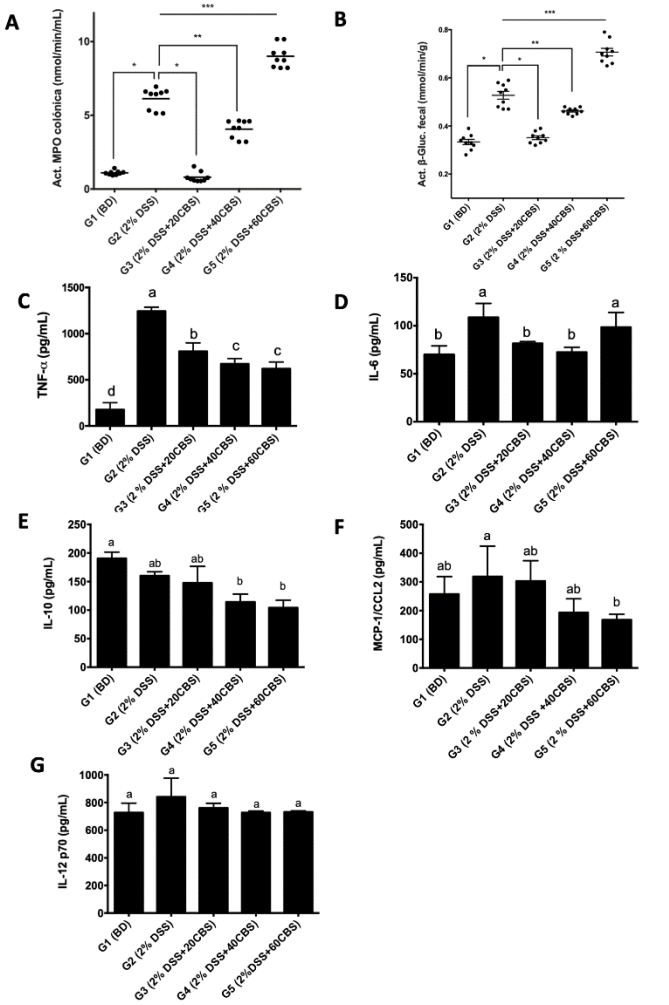


Figura 2. Efecto del consumo de la botana en actividad enzimática y niveles de citocinas séricas en los diferentes grupos del modelo *in vivo* de colitis crónica: **(A)** Actividad de mieloperoxidasa (MPO) colónica; **(B)** Actividad de β-glucuronidasa (β-gluc) fecal; Niveles séricos de citocinas: **(C)** TNF-α, **(D)** IL-6, **(E)** IL-10, **(F)** MCP-1, **(G)** IL-12 p70. Los datos han sido expresados como la media ± DE. Las letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer.

Respecto a los niveles de citocinas séricas (Figura 2C-G), el consumo de la botana redujo ($p<0.05$) y de forma dosis-dependiente las citocinas pro-inflamatorias TNF-α y MCP-1, mientras que las dosis más bajas de botana (G3: 20 y G4: 40 g/kg BW-día) mostraron los niveles más bajos de IL-6, similares al control sano (G1) ($p<0.05$).

De los grupos alimentados con botana, el G4 presentó las mayores cantidades de AGCC totales (Figura 3A), siendo el ácido 9-decenoico, decano y el ácido butírico los metabolitos fecales que son mayormente impactados por el consumo de la botana (Figura 3B), participando principalmente en la modulación de vías de β-oxidación general y mitocondrial de AGCCs.

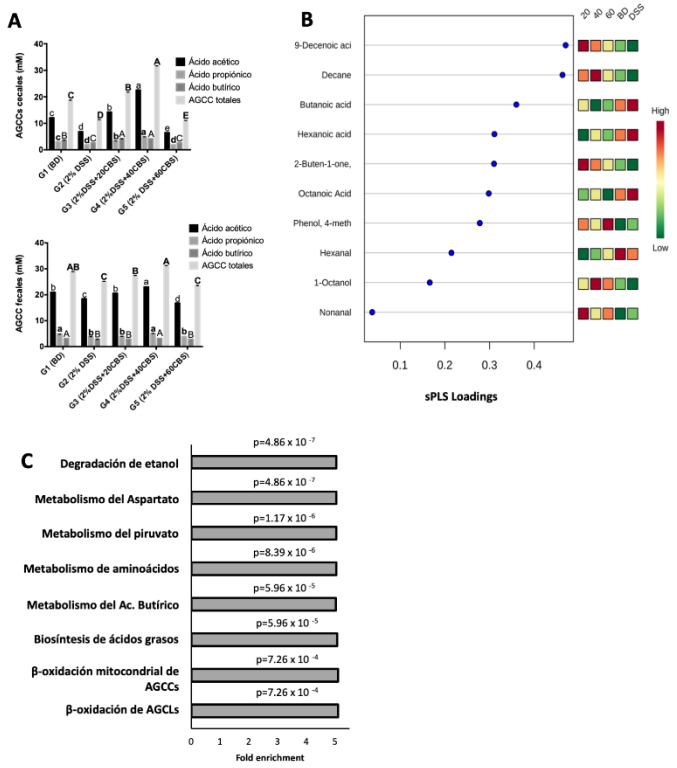


Figura 3. Impacto del consumo de la botana en el perfil metabolómico de los grupos del modelo *in vivo* de colitis crónica. **(A)** Ácidos grasos de cadena corta (AGCCs) cecales y fecales; **(B)** Puntaje de posicionamiento (sPLS loadings) de los principales metabolitos fecales y su abundancia relativa; **(C)** Análisis predictivo de vías metabolicas moduladas por el consumo de la botana. Para la Figura 3A, los datos han sido expresados como la media ± DE y las letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer.

La Figura 4 representa los mapas de calor (*heatmaps*) de los principales genes vinculados a respuesta inflamatoria (Figura 4A) y remodelación y metabolismo del epitelio intestinal (Figura 4B), observándose que el G4 fue agrupado en los dos mapas con el G1. Se muestra que el consumo de la dosis intermedia de la botana (G4: 40 g CBS/kg BW-día), en comparación con el control inducido (G2), reduce la expresión de *Ccl11, Il1B* y *Nfkb1*, genes vinculados a la modulación del inflamasoma y la ruta canónica de inflamación. Asimismo, disminuyen la expresión del receptor de TNF-α (*Tnfrsf9*), impacta en los receptores desencadenantes de inflamación TLR4 y TLR2, disminuye la actividad de la metaloproteinasa *Mmp9* e incrementa la expresión de *Mmp,* y estimula la expresión del gen ligado a producción de mucosidad (*Muc1*).

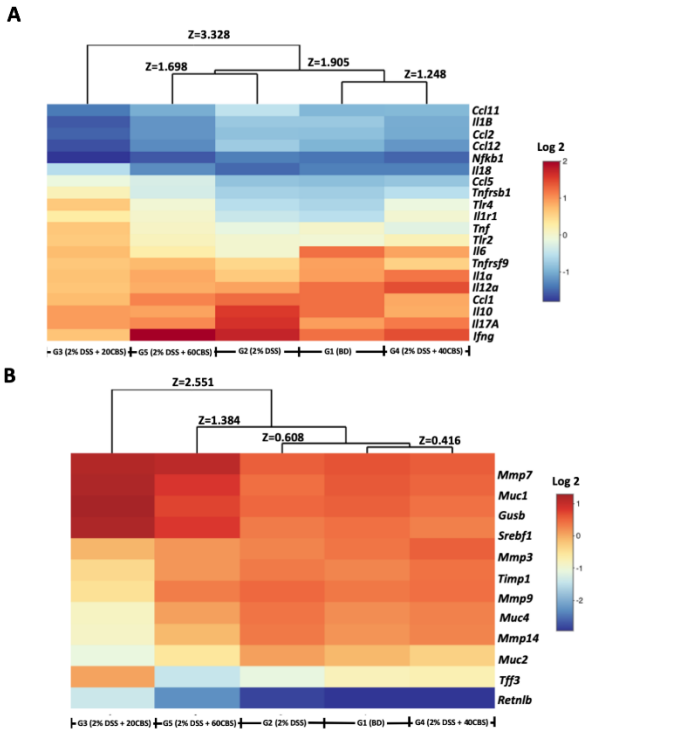


Figura 4. Principales genes modulados por el consumo de la botana en el modelo *in vivo* de colitis crónica (representación en forma de mapas de calor o *heatmaps*). **(A)** genes asociados a respuesta inflamatoria; **(B)** genes asociados a remodelación y metabolismo de epitelio intestinal.

Discusión

En este estudio evaluó el efecto antiinflamatorio derivado del consumo de una botana hornerada de harina de maíz nixtamalizado y frijol común cocido

en un modelo *in vivo* de colitis crónica inducido en ratones CD-1 con el agente colitogénico DSS.

Estudios previos han demostrado el efecto benéfico del consumo de frijol cocido en la reducción general de parámetros de inflamación en modelos de colitis (Monk et al., 2015) pero no realizan un abordaje conjunto entre los resultados observados y los metabolitos que podrían incidir en esas respuestas observadas. La botana utilizada contiene principalmente compuestos fenólicos y oligosacáridos que son retenidos en la fracción no digerible (Luzardo-Ocampo et al., 2017), materia prima para ser fermentada por la microbiota colónica para la producción de AGCC, en los que el butírico ha mostrado el mayor efecto antiinflamatorio. Asimismo, las dosis utilizadas, calculadas con base en su equivalencia calórica, no sobrepasan el máximo de 30 Kcal, que es el aporte máximo sugerido que debería provenir del consumo de botanas (Dominguez-Uscanga et al., 2017; Hess, Jonnalagadda, & Slavin, 2018).

El uso de DSS como inductor de colitis impactó en el tejido colónico de los animales destruyendo el epitelio intestinal, aunque el consumo de la botana causó efecto moderados previniendo la pérdida de peso corporal o el índice de actividad de la enfermedad (Figura 1A, B). Esto coincide con un nivel bajo de inflamación colónica, similar a lo que sucedería en un proceso de CU humano (Hoffmann et al., 2017). Sin embargo, en cuanto al efecto sobre un marcador típico de inflamación como es el acortamiento del colon producto de anomalías en las criptas basales y el adelgazamiento de la pared muscular del intestino (Cuellar-Nuñez et al., 2018), las dosis intermedia de la botana es la más efectiva evitando el daño inducido por el DSS observado en la preservación de la arquitectura colónica (Figura 1F)

Niveles enzimáticos de MPO (Figura 2A) se asocian con infiltración secundaria del tejido por parte de neutrófilos, puesto que esta enzima hace parte de su actividad en los sitios de reclutamiento de células immunes (Wéra, Lancellotti, & Oury, 2016). En este sentido, las dosis más bajas de la botana alivian el efecto inflamatorio del DSS. Este efecto también se observa en la redución de la actividad de β-GLUC (Figura 2B), una enzima vinculada a la transformación de xenobióticos en carcinógenos pro-inflamatorios (Fotschki et al., 2016). La disminución del proceso inflamatorio igualmente se manifestó en los niveles de citocinas séricas (Figura 2C-G), en los que la disminución de TNF-α y MCP-1 indica que hay un efecto reductor de la atracción de células a la zona inflamatoria, a pesar de la disminución de IL-10, de conocido efecto antiinflamatorio.

Debido a que parte de estos efectos podrían ser explicado por la acción conjunta de metabolitos producidos en el colon, se realizó un análisis metabolómico que contó con cuantificación de AGCC, demostrando que la dosis intermedia de la botana (G4) generó la mayor producción de estos en ciego y heces, sugiriendo una posible incidencia de estas sustancias en las respuestas observadas. Anteriormente, ya se había sugerido el significativo efecto antiinflamatorio del ácido butírico al desencadenar una cascada de señalización que impide la acción de NF-κB, evitando la generación de varias citocinas pro-inflamatorias como IL-6 y TNF-α (Panasevich, Allen, Wallig, Woods, & Dilger, 2015). De acuerdo con el análisis metabolómico realizado, el consumo de la botana alteró el perfil de las heces, generando diferentes metabolitos de los que el ácido butírico fue perfilado como el tercero más importante en la composición.
El análisis predictivo del impacto de la botana igualmente confirmó que son rutas metabólicas de estos AGCC las principalmente afectadas.

El perfil de expresión de genes mostró que el G4 es el que tiene el comportamiento más similar al G1, mostrando la disminución en la expresión de genes clave de la ruta del inflamasoma y contribución al balance homeostásico de la microbiota intestinal, así como la disminución de la susceptibilidad del tejido a daño (Rathinam & Chan, 2018). Como principales objetivos de la botana, receptores desencadenantes de inflamación como el de IL-1, TNF-α y TLR4 fueron reducidos, coincidiendo igualmente con efectos biológicos observados del ácido butírico y metabolitos fenólicos en la disminución de

inflamación, no solo a nivel general, sino en un proceso de colitis (Dubé, Punit, & Polk, 2015).

De forma complementaria, el consumo de induce a una remodelación del epitelio intestinal, contribuyendo a la expresión de genes que favorecen la producción de mucosidad, elemento indispensable para proteger los enterocitos colónicos de un proceso inflamatorio (Barratt-Stopper, Nemeth, & Rolandelli, 2016). Una integración de todos estos mecanismos se encuentra representando en la Figura 4.

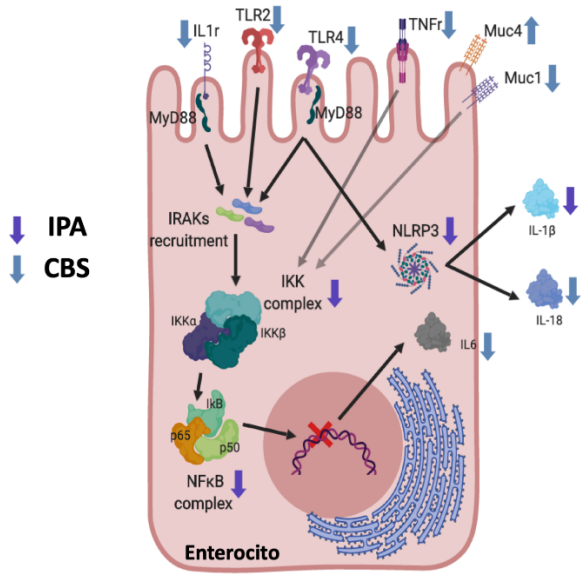


Figura 4. Propuesta de rutas metabólicas moduladas por el consumo de la botana (CBS) en los enterocitos colónicos del modelo *in vivo* de colitis crónica. La figura fue elaborada con el software BioRender® e integra la predicción realizada por el software Ingenuity Pathways Analysis (IPA).

Conclusiones

En conclusión, el consumo de botanas horneadas elaboradas con harina de maíz nixtamalizado y frijol común cocido tiene potencial en reducción del efecto de colitis crónica gracias a la producción de diferentes metabolitos colónicos que, en conjunto, disminuyen diferentes rutas de inflamación asociadas a la activación del inflamasoma y el factor nuclear NF-κB. Sin embargo, se requieren más estudios que conlleven a la declaración de ingestas apropiadas de la botana con el fin de disminuir inflamación colónica.

Referencias Bibliográficas

Asakura, H., & Kitahora, T. (2018). Antioxidants and Polyphenols in Inflammatory Bowel Disease: Ulcerative Colitis and Crohn Disease. In Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease (2nd ed.). https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813008-7.00023-0

Awika, J. M., Rose, D. J., & Simsek, S. (2018). Complementary effects of cereal and pulse polyphenols and dietary fiber on chronic inflammation and gut health. Food and Function, 9(3), 1389–1409. https://doi.org/10.1039/c7fo02011b

Barratt-Stopper, P., Nemeth, Z., & Rolandelli, R. (2016). Crohn's Disease and Ulcerative Colitis Show Unique Cytokine Profiles. Inflammatory Bowel Diseases, 22(4), S59. https://doi.org/10.1097/01.mib.0000480254.25267.ff

Chassaing, B., Aitken, J. D., Malleshappa, M., & Vijay-Kumar, M. (2014). Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. Current Protocols in Immunology, (104), 1199–1216. https://doi.org/10.1002/0471142735.im1525s104.Dextran

Cuellar-Nuñez, M. L., Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., Gallegos-Corona, M. A., González de Mejía, E., & Loarca-Piña, G. (2018). Physicochemical and nutraceutical properties of moringa (Moringa oleifera) leaves and their effects in an in vivo AOM/DSS-induced colorectal carcinogenesis model. Food Research International, 105(C), 159–168. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.004

Dominguez-Uscanga, A., Loarca-Piña, G., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Baked corn (Zea mays L.) and bean (Phaseolus vulgaris L.) snack consumption lowered serum lipids and differentiated liver gene expression in C57BL/6 mice fed a high-fat diet by inhibiting PPARγ and SREBF2. The Journal of Nutritional Biochemistry, 50, 1–15. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.08.011

Dubé, P. E., Punit, S., & Polk, D. B. (2015). Redeeming an old foe: protective as well as pathophysiological roles for tumor necrosis factor in inflammatory bowel disease. American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, 308(3), G161-70. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00142.2014

Fotschki, B., Juśkiewicz, J., Jurgoński, A., Kołodziejczyk, K., Milala, J., Kosmala, M., & Zduńczyk, Z. (2016). Anthocyanins in strawberry polyphenolic extract enhance the beneficial effects of diets with fructooligosaccharides in the rat cecal environment. PLoS ONE, 11(2), 1–17. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149081

Gertsman, I., & Barshop, B. A. (2018). Promises and pitfalls of untargeted metabolomics. Journal of Inherited Metabolic Disease, 41(3), 355–366. https://doi.org/10.1007/s10545-017-0130-7

Hess, J. M., & Slavin, J. L. (2018). The benefits of defining "snacks." Physiology and Behavior, 193, 284–287. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.04.019

Hoffmann, M., Schwertassek, U., Seydel, A., Weber, K., Falk, W., Hauschildt, S., & Lehmann, J. (2017). A refined and translationally relevant model of chronic DSS colitis in BALB/c mice. Laboratory Animals, 52(3), 240–252. https://doi.org/10.1177/0023677217742681

Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., Cuellar-Nuñez, M. L.,

Vázquez-Landaverde, P. A., Mojica, L., Acosta-Gallegos, J. A., & Loarca-Piña, G. (2018). Fermented non-digestible fraction from combined nixtamalized corn (Zea mays L.)/cooked common bean (Phaseolus vulgaris L.) chips modulate anti-inflammatory markers on RAW 264.7 macrophages. Food Chemistry, 259(C), 7–17. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.096

Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., Gaytán-Martínez, M., Preciado-Ortiz, R., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2017). Bioaccessibility and antioxidant activity of free phenolic compounds and oligosaccharides from corn (Zea mays L.) and common bean (Phaseolus vulgaris L.) chips during in vitro gastrointestinal digestion and simulated colonic fermentation. Food Research International, 100(Pt 1), 304–311. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.018

McLeod, K. H., Richards, J. L., Yap, Y. A., & Mariño, E. (2019). Dietary Short Chain Fatty Acids: How the Gut Microbiota Fight Against Autoimmune and Inflammatory Diseases. In R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases (Second, pp. 139–159). https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813820-5.00007-6

Monk, J. M., Zhang, C. P., Wu, W., Zarepoor, L., Lu, J. T., Liu, R., … Power, K. A. (2015). White and dark kidney beans reduce colonic mucosal damage and inflammation in response to dextran sodium sulfate. Journal of Nutritional Biochemistry, 26(7), 752–760. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.02.003

Panasevich, M. R., Allen, J. M., Wallig, M. A., Woods, J. A., & Dilger, R. N. (2015). Moderately Fermentable Potato Fiber Attenuates Signs and Inflammation Associated with Experimental Colitis in Mice. The Journal of Nutrition, 145(12), 2781–2788. https://doi.org/10.3945/jn.115.218578

Rathinam, V. A. K., & Chan, F. K. M. (2018). Inflammasome, Inflammation, and Tissue Homeostasis. Trends in Molecular Medicine, 24(3), 304–318. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.01.004

Ungaro, R., Mehandru, S., Allen, P. B., Peyrin-Biroulet, L., & Colombel, J. F. (2017). Ulcerative colitis. The Lancet, 389(10080), 1756–1770. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32126-2

Wéra, O., Lancellotti, P., & Oury, C. (2016). The Dual Role of Neutrophils in Inflammatory Bowel Diseases. Journal of Clinical Medicine, 5(12), 118. https://doi.org/10.3390/jcm5120118

Zamora-Gasga, V. M., Loarca-Piña, G., Vázquez-Landaverde, P. A., Ortiz-Basurto, R. I., Tovar, J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2015). In vitro colonic fermentation of food ingredients isolated from Agave tequilana Weber var. azul applied on granola bars. LWT - Food Science and Technology, 60(2), 766–772. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.032

Cuantificación y caracterización de polen atmosférico en el norte de la ciudad de Santiago de Querétaro, Qro.

Fátima Ojeda Flores[1]
Luis Hernández-Sandoval[1]
[1] Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.
fojeda1375@gmail.com
luishs@uaq.mx

Resumen

Los estudios aeropalinológicos son importantes en problemas de salud relacionada con alergias ya que generan información precisa de las especies que las provocan en diferentes épocas del año. En México existen varios estudios de polen atmosférico en diversas ciudades donde se han registrado granos de polen de diferentes especies y concentraciones a través del tiempo. Sin embargo, para Querétaro no se cuenta con este tipo de registros. El objetivo de este trabajo fue monitorear el norte de la ciudad de Querétaro en un periodo anual para identificar y cuantificar los granos de polen presentes en el aire. El muestreo se hizo de junio del 2018 a mayo del 2019, con registros semanales, utilizando el aparato Spore-trap Burkard y procesando muestras con glicerogelatina teñida con verde rápido y se observaron al microscopio para lograr su identificación. Como resultado, se identificaron 113 tipos polínicos, la cantidad total de granos de polen en el año fue de 2950 granos/m^3, se reconocieron 24 familias y solo 12 de ellas presentan el Índice Polínico Anual arriba del 1%: Poaceae (25.49%), Cannabaceae con el género *Celtis* (11.10%), Fabaceae con dos géneros, *Mimosa* y *Acacia* (10.16%), Pinaceae con el género *Pinus* (9.56%), Asteraceae (8.06%), Moraceae (6.15%), Euphorbiaceae con la especie de *Ricinus communis* (5.9%), Amaranthaceae (4.79%), Cupressaceae (4.08%), Fagaceae con el género *Quercus* (2.76%), Casuarinaceae con el género *Casuarina* (1.97%) y la familia Salicaceae con el género *Populus* (1.4%). De estos granos de polen, Poaceae, Asteraceae, Amaranthaceae, *Ricinus communis*, *Quercus* sp. y *Populus* sp. son potencialmente alergénicos.

Palabras clave: aeropalinología, alergias, México, polen, Spore-trap.

Abstract

Aeropalynology studies are important within health problems related to allergies, they bring precise information about the species that induce this allergies in different seasonalities through the year. There are some studies in different cities in Mexico about the atmospheric pollen where the concentration and species related have been registered. Nevertheless, Queretaro City has no record of this kind of studies. The aim of this work was to monitor the north side of Queretaro City through an entire year to identify and quantify the pollen grains present in the air. The samples were gathered from July 2018 to May of 2019 weekly using the Spore Trap Burkard instrument, the samples were processed with glycerol gelatin aqueous slide mounting medium and stained with fast green and observed through microscope for identification. As result, 113 pollen types were identified. Pollen concentration was 2950 grains/m^3. 24 families were identified and only 12 of them have an Intraannual variation in the pollinic spectrum higher than 1%. Poaceae (25.49%), Cannabaceae with the genus *Celtis* (11.10%), Fabaceae with two genera, *Mimosa* and *Acacia* (10.16%), Pinaceae with the genus *Pinus* (9.56%), Asteraceae (8.06%), Moraceae (6.15%), Euphorbiaceae with the species *Ricinus communis* (5.9%), Amaranthaceae (4.79%), Cupressaceae (4.08%), Fagaceae with the genus *Quercus* (2.76%), Casuarinaceae with the genus *Casuarina* (1.97%) and the Salicaceae family with the genus *Populus* (1.4%). From this pollen grains identified, Poaceae, Asteraceae, Amaranthaceae, *Ricinus communis*, *Quercus* and *Populus* are potentially allergenic.

Key words: Aeropalynology, allergies, Mexico, pollen, Spore-trap.

Introducción

De acuerdo con Cervigón, *et al*. (2016), el término Aerobiología fue utilizado por primera vez por F.C. Meier, para describir esencialmente las bacterias aéreas. El concepto se fue ampliando y posteriormente en 1973, Edmonds & Benninghoff definieron la Aerobiología como la Ecología de la atmosfera, lo que significa que su objetivo se dirige al estudio de toda la diversidad de partículas biológicas aerovagantes, de las cuales podemos encontrar virus, bacterias, polen, esporas, fragmentos de plantas, pelos y escamas de animales, algas, semillas diminutas e insectos

El polen atmosférico, ha sido objeto de interés desde hace muchos años, el motivo principal es que el polen puede desencadenar reacciones alergénicas y esto tiene repercusiones en la salud (Cervigón, *et al*. 2016). En México los estudios de polen atmosférico son escasos. En la Ciudad de Toluca, México se determinaron los diferentes tipos polínicos, las variaciones estacionales y su comportamiento en las cuatro estaciones del año, se contaron un total de 13,542 granos de polen y durante el invierno se encontró la mayor cantidad de granos de polen pertenecientes a la familia Cupressaceae, esto se relaciona con la cantidad de árboles sembrados de esta especie en la ciudad de Toluca (Cid del Prado *et al*., 2015).

En la Ciudad de México se hizo un estudio por ocho años (2008-2016), se encontró que el 95% del polen pertenece a árboles que incluye *Fraxinus* spp. (40.2%), Cupressaceae (*Cupressus, Thuja* y *Juniperus*: 29.9%), *Alnus* spp. (5.4%), *Pinus* (4.3%) y *Quercus* (3.8%). El polen de plantas herbáceas solo representa el 5% del total y estas pertenecen a Poaceae (2.5%), Urticaceae (1.4%), Amaranthaceae (0.6%) y Asteraceae (0.6%) (Calderon-Ezquerro *et al*., 2018)

Debido a los escasos estudios que hay en México y la importancia que estos tienen en la salud, el presente trabajo tiene como objetivo monitorear el norte de la Ciudad de Querétaro en un periodo anual para identificar y cuantificar los granos de polen presentes en el aire, así como determinar las concentraciones y sus fluctuaciones en el año.

Metodología

Área de estudio

Se llevó a cabo el monitoreo aerobiológico de granos de polen en la zona norte de la Ciudad de Santiago de Querétaro. El sitio de muestreo se encuentra dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma de Querétaro, el aparato "Spore-trap" Burkard se instaló en la azotea del edificio principal del Campus Juriquilla (20°42'3.75"N, 100°26'35.35"O). El periodo de muestreo fue de un año, comprendió las fechas de 31 de mayo de 2018 al 1 de junio de 2019.

Características del área de muestreo

Juriquilla junto con Jurica y Santa Rosa Jauregui son zonas rurales que se han incorporado a la ciudad, y a esta área se le denomina Zona conurbada de Querétaro (Martínez *et al*., 2016).

Los climas predominantes son el semiseco templado y el semiseco- semicálido, la temperatura promedio anual es de 19°C y la precipitación promedio anual es de 549 mm. El municipio y zona conurbada tiene una vegetación predominante de matorral xérofito, con zonas de pastizal y bosque espinoso (Martínez *et al*., 2016).

Captación de polen

Se utilizó el captador "Spore-trap" Burkard cuyo principio es el impacto por succión mediante una bomba de vacío que impulsa el aire aspirado contra la superficie receptora. Ésta es una cinta Melinex de 345 mm X 19 mm que se dispone tensada alrededor de una pieza cilíndrica (tambor) y se recubre con una fina película de aceite de silicona (Gelvatol). El aparato presenta un flujo de aire constante de 10 l/min y penetra a través de un orificio de 2x14 mm. El tambor es impulsado por un mecanismo de relojería, gira continuamente a razón de 2 mm/hr, el tiempo de rotación es de siete días exactos.

Montaje de las muestras

La cinta de 345 mm que rodea el tambor se corta en fragmentos de 48 mm que corresponde a 24 horas. Cada fragmento se colocó en un portaobjetos utilizando el medio de montaje glicerogelatina teñida

con verde rápido (Red Española de Aerobiología , 2002).

Cuantificación e identificación

Para determinar la concentración de granos de polen, en cada laminilla se hicieron observaciones al microscopio óptico con cuatro barridos longitudinales en cada una, utilizando el objetivo 40x (Red Española de Aerobiología , 2002) Los resultados del conteo se convirtieron a unidades de granos de polen por metro cubico de aire (granos/ m^3), multiplicándose por el factor de corrección de 0.73. Para la identificación de los granos de polen se utilizó material de internet en las plataformas de PalDat, Polleninfo.org (PalDat-Palynological Database, 2019; Medical University of Vienna , s.f.) y muestras de polen del herbario de Querétaro "Dr. Jerzy Rzedowski" (QMEX).

Índice polínico anual

Para definir los tipos polínicos de mayor incidencia atmosférica se obtuvo el Índice Polínico Anual (IPA), el cual consiste en la suma total de las concentraciones diarias de granos de polen por metro cúbico de aire registrados durante un año, este dato se transforma a porcentaje y se seleccionan aquellos tipos polínicos que superan el 1% (González y Cebrino, 2016)

Resultados

La cantidad total de granos de polen fue de 2950 granos/m^3, los meses con mayor cantidad de polen fue julio 2018 con 1403 granos/m^3 y agosto con 418 granos/m^3 junio 2018 con 361 granos/m^3 (Fig. 1).

Se registró un total de 113 tipos polínicos durante el estudio (Cuadro 1), 30 de estos se identificaron dentro de un grupo taxonómico de las plantas y los restantes no se ubicaron en ningún grupo debido a que no hay características observables para su clasificación.

Tipos polínicos más representativos.

Se identificaron 24 familias de plantas, y solo 12 familias presentan arriba del 1% de IPA. Estas corresponde a las familias Poaceae (753 granos/m^3, 25.49%), Cannabaceae con el género *Celtis* (328 granos/$m^{3,}$ 11.10%), Fabaceae con dos géneros *Mimosa* y *Acacia* (300 granos/m^3, 10.16%), Pinaceae con el género *Pinus* (283 granos/m^3, 9.56%), Asteraceae (238 granos/m^3, 8.06%), Moraceae (182 granos/m^3, 6.15%), Euphorbiaceae con la especie de *Ricinus communis* (174 granos/m^3, 5.9%), Amaranthaceae (142 granos/m^3, 4.79%), Cupressaceae (120 granos/m^3, 4.08%), Fagaceae con el género *Quercus* (82 granos/m^3, 2.76%), Casuarinaceae con el género *Casuarina* (58 granos/m^3, 1.97%) y la familia Salicaceae con el género *Populus* (42 granos/m^3, 1.4%) (Fig. 2).

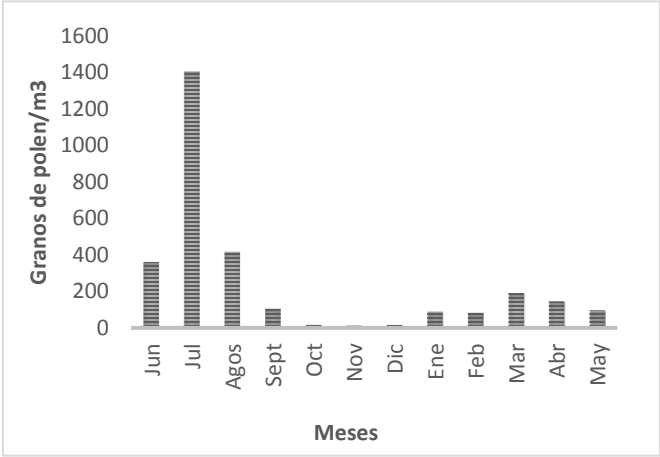


Figura 1 Concentración polínica (granos/m3) en el período de junio 2018 a mayo de 2019.

Los resultados del estudio indican que el periodo de polinación principal de Poaceae es julio-agosto, *Celtis* sp. de junio-julio, *Mimosa* sp. en julio, *Pinus* sp. de junio-julio y febrero-mayo, Asteraceae de junio-agosto, Moraceae de junio-julio, *Ricinus communis* de junio-agosto, Amaranthaceae de julio-septiembre, *Quercus* sp. en julio y marzo, *Casuarina* sp. en julio y *Populus* sp. en febrero.

Discusión

Durante un año se obtuvo una cantidad total de 2950 granos de polen/m^3 en el aire, en comparación con los estudios desarrollados en Toluca y Ciudad de México que obtienen cantidades arriba de 10,000 granos/m^3, la concentración de polen atmosférico en la zona norte de Querétaro es inferior, esto puede deberse al tipo de clima semiseco-templado (Martínez *et al*., 2016) y la cantidad de cobertura vegetal la cual se ve reducida debido que la zona muestreada se encuentra en

Cuadro 1. Tipos polínicos y su concentración mensual (granos/m^3 de aire) durante junio 2018 a mayo 2019.

Tipos polínicos	2018							2019					
	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Total
Acacia sp.	1	3										1	5
Aizoaceae	1	16	3								1		21
Alnus sp.							1	6	9	2		1	19
Amaranthaceae	7	30	35	61	8	1							142
Apocynaceae										1			1
Asteraceae	112	181	64	19	3	4	8	2	7	2	10	9	421
Brassicaceae	1	9							4	3			17
Cactaceae	1	1											2
Casuarina sp.	7	50				1							58
Caryophyllaceae		2	1						1				4
Celtis sp.	118	188	7							8	3	4	328
Cupressaceae	18	8				1	9	63	7	2	6	7	121
Cyperaceae		9								1			10
Fabaceae	2	1							1		1	3	8
Fraxinus sp.								4	1				5
Loranthaceae	1												1
Mimosa sp.	17	239	30		1								287
Moraceae	55	105	16							2	2	1	181
Myrtaceae	4	4				1			2	4	1		16
Nyctaginaceae		1											1
Pinus sp.	19	17			1	1		3	23	83	94	41	282
Poaceae	27	484	207	18	4	2	1	1		1	4	2	751
Populus sp.	5						1	4	30	1		1	42
Quercus sp.	9	18	4							46	3	2	82
Ricinus communis	27	64	52	6	1	1		2	1	4	4	8	170
Rosaceae	2												2
Schinus molle	3	2									5	4	14
Solanaceae	9	12	4									1	26
Tipo monocotiledonea	5	4											9
Typhaceae	3	3			3								9
No identificado	2	31		1	2	1	1	2	4	42	10	6	102

crecimiento urbano y hay aumento de construcciones (Huacuz y Vázquez, 2018).

Los tipos polínicos encontrados en el estudio coinciden con el tipo de vegetación que predomina en la zona conurbada (Martínez *et al*., 2016) y con el tipo de polinización anemófila.

Las familias Poaceae, Asteraceae, y Amaranthaceae son grandes grupos de plantas herbáceas que presentan polinización anemófila. El periodo de polinización de Poaceae comienza en primavera y tiene un pico máximo a finales de mayo y mediados de julio, en Asteraceae ocurre de primavera a otoño y en Amaranthaceae de junio a octubre. El polen de estas familias es considerado altamente alergénico, los géneros que causan polinosis en Asteraceae son *Ambrosia* spp., *Artemisia* spp., *Cosmos bipinnatus* y *Helianthus annuus* y en Amaranthaceae, *Chenopodium, Salsola* y *Amaranthus* (García-Mozo, 2017; Denisow-Pietrzyk, Pietrzyk y Denisow, 2019; Villalba *et al*., 2014)

Cupressaceae: Esta familia presenta árboles o arbustos de gran altura, presentan polinización anemófila y el periodo de polinización es de octubre hasta abril. Los géneros más abundantes y con polen alergénico son *Cupressus* sp. (ciprés) y *Juniperus* sp. (sabino) (Charpin *et al*., 2013).

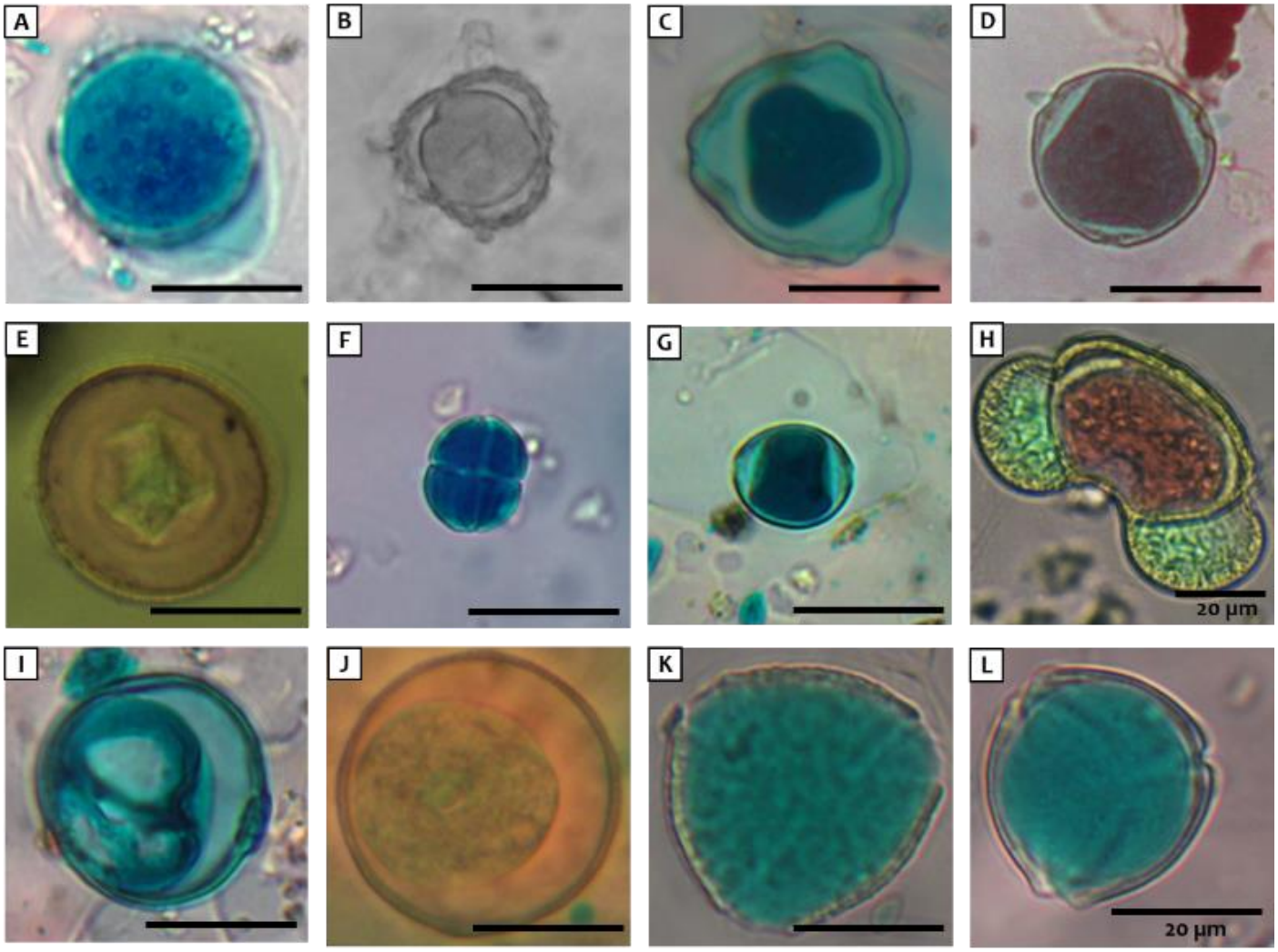


Figura 2. Tipos polínicos más representativos en el muestreo. A) Amaranthaceae, B)Asteraceae, C) *Casuarina* sp., D) *Celtis* sp., E) Cupressaceae, F) *Mimosa* sp., G) Moraceae, H) *Pinus* sp., I) Poaceae, J) *Populus* sp., K) *Quercus* sp., L) *Ricinus communis*

Celtis sp. y *Mimosa* sp. Pertenecen a la familia Cannabaceae y Fabaceae, respectivamente. Ambos se encuentran presentes en la vegetación de Querétaro y no hay registros de que sean potencialmente alergénicos. El polen de la familia Moraceae presenta polinización anemófila, las especies de esta familia no son potencialmente alergénicas, pero si tienen una prevalencia moderada (Aydan *et al*., 2015).

Pinus sp., *Casurarina* sp. *Quercus* sp., *Populus* sp. Son árboles pertenecientes a las familias Pinaceae, Casuarinaceae, Fagaceae y Salicaceae, respectivamente. Presenta polinización anemófila, excepto *Quercus* sp. con polinización entomófila. El periodo de polinización de *Pinus* ocurre en invierno, en *Quercus* es de octubre hasta abril y en *Populus* de marzo a mayo. El polen de *Casuarina* y *Quercus* se considera altamente alergénico, *Populus* presenta una alergenicidad escasa y *Pinus* no la presenta en México (Velasco y Velázquez, 2014; Grundström *et al*., 2019).

R. communis: Este tipo polínico pertenece a la familia Euphorbiaceae y es una planta exótica invasiva muy dominante en terrenos abandonados, su polinización es anemófila. Sus granos de polen presentan alérgenos, provocando complicaciones respiratorias (Teixeira *et al*., 2019).

De las 12 familias de plantas que tienen mayor incidencia atmosférica, los tipos polínicos de Poaceae, Asteraceae, *Ricinus communis*, Amaranthaceae, *Quercus* sp. y *Populus* sp. son potencialmente alergénicos. Otros granos de polen alergénicos son *Fraxinus* sp. y *Alnus* sp. (Calderón Ezquerro *et al*., 2018), se encontraron en el estudio, pero con un IPA menor al 1%.

Conclusiones

Los estudios aeropalinológicos en México son pocos y son importantes en la medicina debido a que brindan datos para conocer cuales granos de polen se encuentran en el aire y así saber si estos son los causantes de polinosis, así como medir la calidad de aire en las ciudades. Biológicamente también son importantes para conocer la evolución, riqueza y concentración ambiental de los distintos polínicos y pueden ser indicadores para conocer si existe deforestación en la zona.

Este estudio es el primero para la Ciudad de Querétaro y debido a su importancia en la salud es necesario seguir con un monitoreo continuo.

Referencias

Acar A., Münevver Pınar N., Şafak F., Silici S. (2015). Analysis of Airborne Pollen Grains in Kayseri,Turkey. Karaelmas Fen ve Müh. Derg. *5*(2):79-88.

Calderón-Ezquerro M.C., Guerrero-Guerra C., Gálan C., Serrano-Silva N., Guidos-Fogelbach G., Jiménez-Martínez M.C., Larenas-Linnemann D., López Espinosa E.D., Ayala-Balboa J. (2018). Pollen in the atmosphere of Mexico City and its impact on the health of the pediatric population. Atmospheric Environment, vol. *186*, pp: 198-208.

Charpin D., Calleja M., Pichot C., Penel V., Hugues B., Poncet P. (2013). Cypress pollen allergy. Rev Mal Respir, vol. *30*(10): 868-78.

Cid-del Prado M., Piedras-Gutiérrez B., Salgado-Visoso A., Becerril-Ángeles M. 2015. Estudio aerobiológico de pólenes anemófilos en la ciudad de Toluca, México. Revista Alergia México, núm. 62: 8-14.

Denisow-Pietrzyk, M., Pietrzy L., Denisow B. (2019). Asteraceae species as potential environmental factors of allergy. Environ Sci Pollut Res, Vol. *26*: 6290-6300.

García-Mozo H. (2017). Poaceae pollen as the leading aeroallergen worldwide: A review. Allergy, vol. *72*(12):1849-1858.

González Minero F.J., Cebrino J. (2016). Importancia de los recuentos polínicos en el aire, un ejemplo. Rev. Salud Ambient vol.*16* (1):43-51.

Grundström Ma., Adams-Groom B. Pashley C. H., Dahl Å., Rasmussen K., Weger L.A., Thibaudon M., Fernández-Rodríguez S., Silva-Palacios I., SkØth C.A. (2019). Oak pollen seasonality and severity across Europea and modelling the season start using a generalized phenological model. Science of The Total Environment, vol. 663 (1): 527-536.

Huacuz Elías R. de J., Vázquez Cruz R. del R. (2018). El proceso de Metropolización en Querétaro 1990-2010. Contexto. Vol. *XII,* N°16.

Teixeira F.M., Shah M., Domont G.B., Nogueira F.C.S., Campos F.A.P. (2019). In-Depth Proteome Analysis of *Ricinus communis* Pollens. Proteomics *19* (3): e1800347.

Martínez y Díaz de Salas M., Hernández-Sandoval L., Gómez-Sánchez M., Bárcenas Luna R., Guevara Escobar A., Suzán Azpiri H. y Malda Barrera G. (2016). Flora y vegetación del municipio de Querétaro y la zona conurbada. En R. W. Jones y V.S. Cárdenas. Historia Natural de Querétaro (pp. 133-153). Querétaro, México: Editorial Universitaria.

Medical University of Vienna . (s.f.). Vi: Agosto-2019 Obtenido de Polleninfo: https://www.polleninfo.org/ES/es/aerobiologie/methodik/messungen.html

PalDat- Palynological Database. (5 de Septiembre de 2019). Obtenido de https://www.paldat.org/

Red Española de Aerobiología. (2002). Obtenido de: https://www.uco.es/rea/

Velasco-Medina AA, Velázquez-Sámano G. (2014). Sensibilización al polen de *Casuarina equisetifolia* y *Pinus* spp. en pacientes con rinitis alérgica y asma en la Ciudad de México. Revista Alergia México; 61:9-13.

Villalba M., Barderas R., Mas S., Colás C., Batanero E., Rodríguez R. (2014). Amaranthaceae pollens: review of an emerging allergy in the medirranean area. J Investig Allergol Clin Immunol, vol. 24(6): 371-81.

Síntesis y caracterización de recubrimientos de ZnS químicamente depositados

E.A. Ordaz-Fernández[1], D.L. Garcia-Antonio[1], A.L. González-Rostro[1], G. Hernández-Pérez, M.A. Saldaña-Salas, M.B. Ortuño-López[1], G. Barreiro-Rodríguez[1], J.M. Yáñez-Limón[1], R. Flores-Farías[1]

Resumen

Se presenta la síntesis química por la técnica de depósito por baño químico (CBD por sus siglas en inglés) para la obtención de películas de Sulfuro de Zinc (ZnS), usando una solución constituida por iones S^{-2} y Zn^{+2} a partir de Tiourea y Sulfato de Zinc, citrato de sodio como agente acomplejante e hidróxido de potasio como fuente de iones hidroxilo y un buffer de pH. La nucleación y el crecimiento se controló sobre un sustrato de vidrio, ejecutando múltiples ensayos con variaciones en los parámetros que afectan la deposición para encontrar las condiciones idóneas para la obtención. Se empleó un espectrofotómetro uv-vis para la caracterización óptica de las muestras.

Palabras clave *— Baño químico, sulfuro de zinc, películas, propiedades ópticas.*

Abstract

The chemical synthesis is presented by means of the chemical bath deposition (CBD) technique to obtain Zinc Sulfide (ZnS) films, using a solution consisting of S^{-2} and Zn^{+2} ions from Tiourea and Zinc Sulfate, sodium citrate as complexing agent and potassium hydroxide as a source of hydroxyl ions and a pH buffer. Nucleation and growth was controlled on a glass substrate, executing multiple tests with variations in the parameters that affect the deposition to find the ideal conditions for obtaining. A uv-vis spectrophotometer was used for the optical characterization of the samples.

Keywords *— Chemical bath, zinc sulphide, films, optical properties.*

Introducción

La síntesis por baño químico es una técnica ampliamente utilizada para el crecimiento de películas de materiales semiconductores debido a su simplicidad ya que utiliza material accesible como un recipiente para contener la solución química, el sustrato en el que se requiere hacer el depósito y un controlador de temperatura. De la misma forma se debe tener un control de los parámetros principales como agitación, tiempo, temperatura y pH que en general no es tan sencillo, ocasionando complicaciones en los depósitos de las películas.

La importancia del baño químico radica en gran parte a su uso exitoso en el depósito de películas de CdS (y materiales similares) para aplicaciones en celdas fotovoltaicas; sin embargo, el uso de este compuesto desde el punto de vista ambiental no es conveniente debido a su alta toxicidad [1]. Por esta razón algunos centros de investigación e universidades se han dado a la tarea de hallar materiales que sustituyan al CdS sin deteriorar la eficiencia que proporciona el mencionado compuesto.

Estudios reportan el uso de ZnS es uno de los compuestos que ha demostrado tener propiedades ópticas y estructurales similares al CdS, convirtiéndolo en un potencial candidato a remplazarlo además que presenta una menor toxicidad y su síntesis se efectúa de forma similar [1-2].

En este trabajo se presenta la síntesis recubrimientos de ZnS mediante la técnica de CBD, manipulando los parámetros temperatura, tiempo y pH para obtener para estudiar sus efectos en la producción de materiales de buena calidad. El mecanismo de

[1]Tecnológico Nacional de México / I. T. Querétaro.
[2]Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-Unidad Querétaro. *mbortuno@mail.itq.edu.mx

reacción reportado aceptado se describe a continuación. Todo comienza con la disociación en solución acuosa de todos los componentes de la reacción, y el establecimiento de todos los equilibrios químicos descritos por las constantes de disociación de cada uno. En la ecuación 1 se muestra la disociación en solución acuosa de la fuente de iones de zinc.

$$ZnSO_{4\,(s)} + H_2O \rightarrow Zn^{2+}_{(ac)} + SO^{-2}_{4\,(ac)} \qquad Ec.\ 1$$

Simultáneamente y gracias al medio alcalino, la tiourea se hidroliza hasta convertirse en iones azufre. Esta reacción es favorecida por el calentamiento del reactor.

$$CS(NH_2)_2 + OH^- \rightleftarrows SH^- + CH_2N_2 + H_2O$$
$$SH^- + OH^- \rightarrow S^{-2} + H_2O \qquad Ec.\ 2$$

Cuando los iones libres de S^{-2} y Zn^{2+} interactúan en la solución, pueden reaccionar para formar ZnS [3].

$$Zn^{2+} + S^{-2} \rightarrow ZnS \qquad Ec.\ 3$$

Se ha reportado condiciones óptimas para el crecimiento de las películas de ZnS, de pH en un intervalo de 10-11, de temperatura de 70-90°C y tiempos de depósito de 70-120 minutos [2-4].

Metodología

El diseño experimental se basa en el estudio de la influencia que tienen las variables pH, temperatura y tiempo de depósito en películas delgadas de ZnS. Los parámetros de síntesis se variaron para encontrar condiciones idóneas para el control de la reacción, nucleación del sustrato y crecimiento de películas homogéneas y bien adheridas. Se descartaron todas aquellas muestras producidas a partir de condiciones experimentales que derivaron en muestras de pobre calidad, por lo que no son objeto de este estudio. A partir de las formulaciones propuestas de la Tabla 1 fueron obtenidos recubrimientos de muy buena calidad macroscópica

La síntesis de estos materiales por la técnica DBQ se llevó a cabo en tres etapas: a) Preparación del baño químico, compuesto de soluciones diluidas componentes fuente de iones azufre y zinc, Tiourea y Sulfato de Zinc respectivamente; citrato de sodio, el agente acomplejante de iones metálicos; e hidróxido de potasio como fuente de iones hidroxilo. Cada uno de los componentes fueron vertidas continuamente en un vaso de precipitado de 100 ml, con los volúmenes y concentraciones que se reportan en la Tabla 1. En esta tabla se muestran las diferencias en composición de cada una de las fórmulas estudiadas, y los pH de cada reactor. b) Crecimiento de los recubrimientos sobre sustratos de vidrio portaobjetos, se sumergieron en la solución química de un reactor que se colocó dentro de un baño maría en temperatura controlada y por tiempos determinados. c) Después del depósito los sustratos con la película fueron enjuagados con agua y haciéndoles pasar un trozo de algodón; posteriormente fueron secados y almacenados para su posterior caracterización óptica y estructural.

Tabla 1. Variables de reacción estudiadas.
Fuente: Propia

	Volúmenes de cada componente por fórmula de reacción (ml)						
Compuesto químico	**Q2**	**Q3**	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Sulfato de Zinc ($ZnSO_4$) 0.1 M	10	10	10	10	10	10	10
Tiourea (CH_4N_2S) 0.1 M	15	15	15	15	15	15	15
Citrato de Sodio ($Na_3C_6H_5O_7$) 0.5 M	10	10	10	10	10	10	10
Hidróxido de Potasio (KOH) 0.5 M	2	2.5	3	3.3	2.8	2.5	2
Buffer de borato pH 10	10	10	10	10	10	10	10
Temperatura °C	90	90	70	70	70	70	70
Tiempo de depósito (min)	30, 60,120 y 180		30, 90 y 150			30, 60,120 y 180	

Los instrumentos empleados en la caracterización de formulaciones y recubrimientos fueron: Analizador multiparamétrico de pH CONSORT C3010, Espectrofotómetro UV-Visible Hach DR6000 (EUV), Espectrofotómetro de Fluorescencia (EF).

Difractómetro de rayos X Rigaku (DRX), Perfilómetro Bruker Contour GT.

Resultados y discusión

Con cada una de las formulaciones estudiadas se obtuvieron baños químicos trasparentes en las etapas iniciales de la reacción, lo que es indicativo del control de la precipitación del ZnS a través de la composición del baño, siendo adecuadas las proporciones del agente acomplejante, la fuente de iones metálicos, el pH y la fuente de iones sulfuro. El pH que del baño se reporta en la Tabla 2, junto con las características macroscópicas de los recubrimientos.

En todos los casos las películas de sulfuro de zinc resultaron de una excelente calidad macroscópica, es decir homogéneas, transparentes y fuertemente adheridas a su sustrato, como se demuestra en la Fig.1 y de describe en la tabla 2.

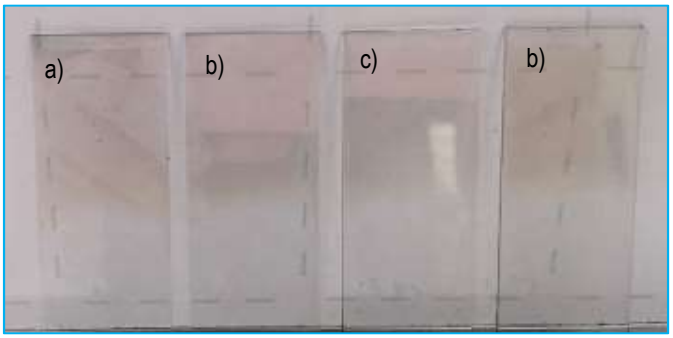


Fig.1. Imágenes de las películas de la Serie Q3 de tiempos de depósito de a) 30, b) 60, c) 120 y d) 180 min.
Fuente: Propia

Para la evaluación de las propiedades se realizó una caracterización óptica de las diversas películas obtenidas utilizando un espectrofotómetro uv-vis, con lo que fue verificada la identidad de los materiales sintetizados. Se tomó como base datos reportados en artículos y se compararon con los datos experimentales obtenidos [4-5].

Tabla 2. Serie de películas obtenidas por variaciones en parámetros que fueron caracterizadas ópticamente.
Fuente: Propia

Serie	pH	Características macroscópicas de los recubrimientos
Q3	11.3	Películas trasparentes homogéneas, reflejantes, fuertemente adheridas a su sustrato y de tonalidad ahumada
Q2	9.89	Películas trasparentes homogéneas, fuertemente adheridas a su sustrato, reflejantes.
A1	11.7	
B1	11.8	
C1	11.68	
D1	10.44	
E1	10	

En la gráfica de la Fig.2 se observa el borde característico de la trasmisión de los recubrimientos de sulfuro de zinc de la serie Q3 en diferentes tiempos de depósito, ubicado en los 346 nm. Tales espectros demuestran que las películas son altamente transparentes en toda la región visible del espectro electromagnético, y opacas para la región ultravioleta estudiadas con un porcentaje de trasmisión superior al 80% por encima de los 346 nm, y menores de 30% por debajo. Las diferencias sutiles entre los espectros se atribuyen a los diferentes espesores de la serie.

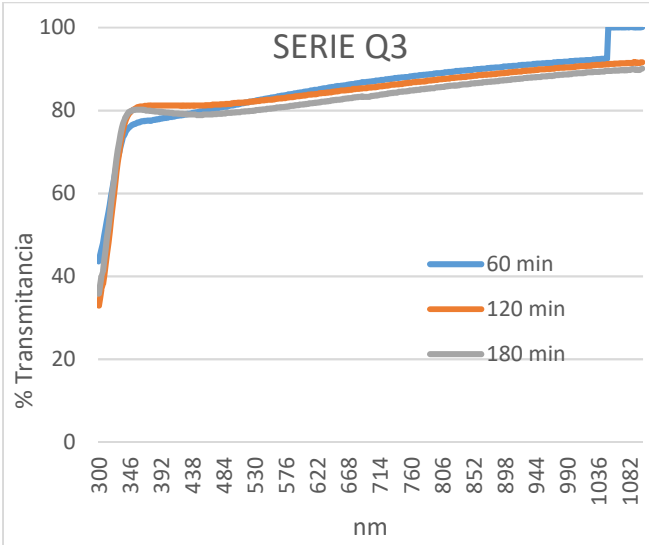


Fig. 2. Espectro de transmisión de la serie Q3. Fuente: Propia

En la figura 3 se observa que la influencia de la temperatura y pH en el índice de crecimiento de las películas. De manera convencional se acepta que la temperatura incide directamente en el espesor lo cual

puede comprobarse en la gráfica de depósitos de igual tiempo, así mismo el pH influye en lo anterior considerándose como el óptimo entre 10-11. El índice de crecimientos a temperaturas inferiores se compensa en pH de 10 como se deduce al analizar la gráfica de la figura 3. Esto deja ver el potencial de estas formulaciones al conseguir recubrimientos de buena calidad en condiciones de menores requerimientos energéticos debidos a menores temperaturas de crecimiento y sin agitación.

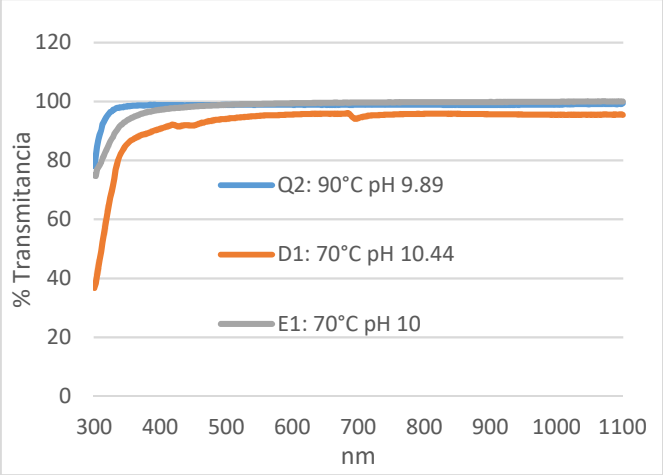


Fig.3. Espectros de transmisión de las películas de ZnS depositadas en 180 min. Fuente: Propia

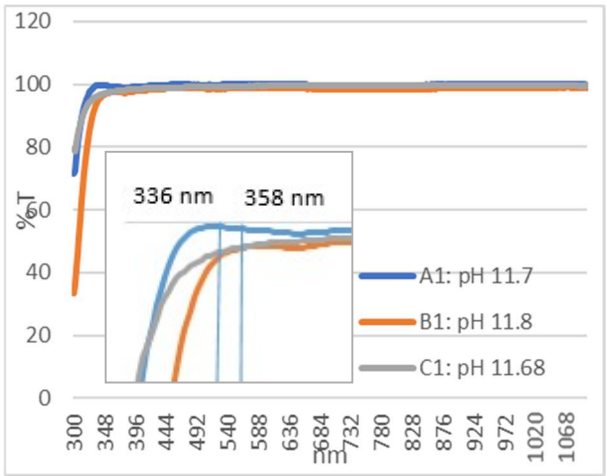


Fig.4. Espectros de transmisión de las películas de ZnS crecidas a 70° en 120 min. Fuente: Propia

En la figura 4 se analiza la influencia de variaciones mínimas del pH en el borde de trasmisión, observando diferencias considerables cercanas a los 20 nm en el borde, cuando el pH varía solo entre 11.7 y 11.8.

En la figura 5 se presenta un espectro representativo de los espectros de absorción de los recubrimientos sintetizados en este estudio. Se pueden observar datos característicos de las películas de ZnS como el borde de absorción ubicado cerca de los 350 nm, que representa el inicio de una banda de absorción característica centrada alrededor de los 300 nm.

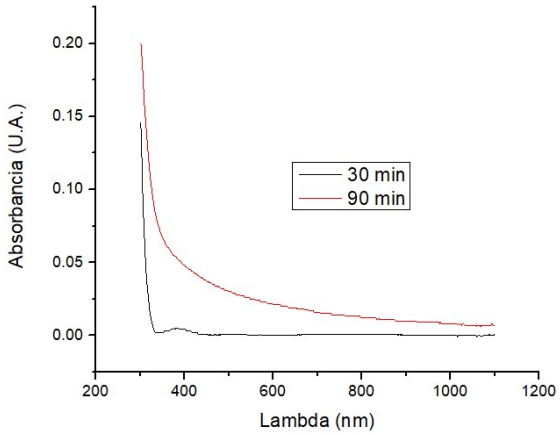


Fig. 5. Espectros de Absorción de los recubrimientos de ZnS de 30 y 90 minutos de depósito, serie A. Fuente: Propia

En la figura 6 se presenta la gráfica de la relación de Tauc, la cual fue aplicada para determinar la energía de banda prohibida (E_g) en las películas semiconductoras de ZnS. Dicho modelo es usado para caracterizar propiedades ópticas de materiales amorfos (*Ec. 4)*.

$$\alpha h\nu = A(h\nu - E_g)^m \qquad \textit{Ec. 4}$$

Donde m toma el valor de ½ para materiales de gap directo. A es una constante específica para cada material, α es el coeficiente de absorción, $h\nu$ es la energía del fotón incidente. La energía del bandgap es determinada extrapolando una región linear de la curva hacia el eje x ($h\nu$). [6,7]

Con los resultados experimentales de los espectros de absorción y empleando el modelo de Tauc (Ec.4), se calcularon las energías gap de las películas de ZnS, como se muestra en la figura 6, encontrando que oscilan en el intervalo de 3.5 a 4 eV. Estos resultados son consistentes con lo encontrados en otros reportes

basados en tecnologías de crecimiento más sofisticadas que el DBQ, siendo cercanos a los 3.5 eV. Así mismo, nuestros resultados indican que esta propiedad puede ser sintonizable controlando las condiciones fisicoquímicas del crecimiento del recubrimiento.

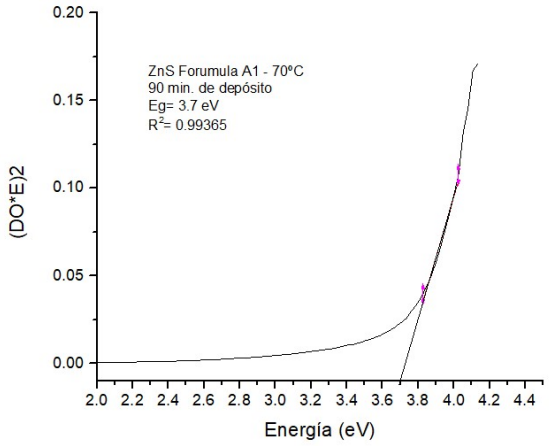


Fig. 6. Gráfica Tauc para el cálculo de la energía gap de las películas de ZnS. Fuente: Propia

En la gráfica de la figura 7, se muestran los resultados de los espectros de emisión de las películas de ZnS, que fueron obtenidos a partir de una fuente de excitación de 300 nm. Las series A, B, C, D y E fueron crecidas a 70 °C y a distintos pH en el intervalo de 10 a 11.8. Se demuestra que cambios mínimos en el pH del reactor, tienen influencia en la intensidad y tipo específico de emisión, como se puede observar en la figura 7.

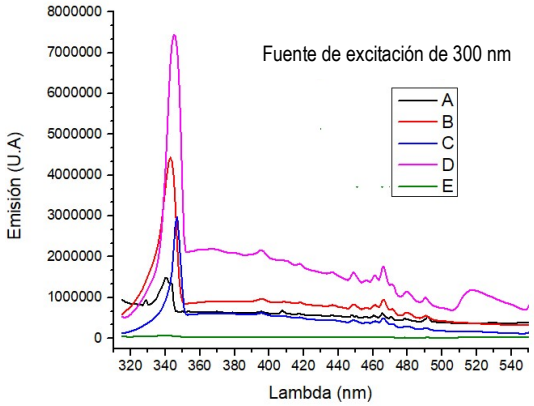


Fig. 7. Espectros de emisión de las películas del ZnS, crecidas en medio de distinto pH A=11, B=11.8, C=11.68, D=10.44, E=10. Fuente: Propia

Conclusiones

Se logró diseñar 7 formulaciones para el crecimiento de películas de ZnS de buena calidad, homogéneas, transparentes y fuertemente adheridas al sustrato. Se demostró que la temperatura y tiempo de depósito influyen de manera directa en la calidad y el índice de crecimiento, en crecimientos de 70 y 90° C y tiempos de 30 a 180 minutos. Se comprueba que el pH óptimo se encuentra en el intervalo de 10 a 11, y que las líneas de emisión son sensibles a este parámetro de crecimiento. Se demuestra que los recubrimientos son altamente transparentes por encima 350 nm, y muy opacos por debajo. Por lo que podrían usarse como filtros de radiación ultravioleta y como ventanas en celdas solares policristalinas. Los resultados de la caracterización óptica y el cálculo de energías gap muestran el potencial de nuestras formulaciones para producir materiales sintonizables. Los resultados de la caracterización estructural indican ausencia de estructura cristalina.

Referencias

Hodes, G. (10 de Agosto de 2002). *Chemical Solution Deposition Of Semiconductor Films.* Boca Raton: CRC Press.

Cruz Lemus, S. D., Correa Hoyos, J. M., Chamorro Coral, W., Becerra Arciniegas, R. A., Suarez, H. A., Rodríguez Bejarano, O., & Gordillo Guzmán, G. (29 de Abril de 2013). Síntesis de películas delgadas de ZnS por CBD para uso como buffer en celdas solares basadas en Cu2SnZnS4. Bogotá, Colombia.

Zhou, L., Tang, N., Wu, S., Hu, X., & Xue, Y. (2011). Influence of Deposition Time on ZnS Thin Films Performance with Chemical Bath Deposition. *Physics Procedia*, 354-359.

Wei, A., Liu, J., Zhuang, M., & Zhao, Y. (2013). Preparation and characterization of ZnS thin films prepared by chemical bath deposition. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 1478-1484.

Galicia, L. R. (2014). *Tesis de Doctorado del Posgrado en Ingeniería Química de la Universidad de Guanajuato", (Julio 2014), p. 76*

Ahmad M. Al-Diabat, N. M. (2016). Effect of Deposition temperature on Structural and Optical Properties of Chemically Sprayhed ZnS thin Films. *Proceida Chemistry*, 485-491.

Manuel A. Triana, A. F. (2015). Síntesis, Caracterización y Evaluación FotoCatalítica de puntos cuánticos de CdSe Cubiertos con 2 tipos de Tioles. *Información tecnológica*, 121-134.

AmiR*: ADC*-L2, genes involucrados en la tolerancia al cambio climático

Diana Pérez Alegría[1], Ana Isabel Chávez Martínez[2] y Juan Francisco Jiménez Bremont[2].

[1] Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. E-mail: diana.ditb4e@gmail.com

[2] División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica AC, San Luis Potosí, México. E-mail: ana.chavez@ipicyt.edu.mx y jbremont@ipicyt.edu.mx

Resumen

Las poliaminas están involucradas en el crecimiento, desarrollo y respuesta al estrés en plantas. En *Arabidopsis thaliana*, el primer paso de la biosíntesis de poliaminas es catalizado por la arginina descarboxilasa, enzima limitante con dos isoformas codificadas por los genes parálogos *AtADC1* y *AtADC2*. Para el estudio del efecto de las poliaminas ante el estrés generado por bajas temperaturas se utilizó una línea silenciante simultanea de los genes *AtADC* (*amiR:ADC-L2*), la cual fue expuesta durante su germinación a 4, 10 y 22 ± 2°C. Nuestros datos muestran una modificación en la coloración y tamaño de cotiledones, así como en el desarrollo de la raíz primaria, denotando la participación de las poliaminas en la tolerancia ante este tipo de estrés.

Palabras clave

Poliaminas, amiR:ADC-L2, estrés por frío, aclimatación, tolerancia.

Abstract

Polyamines are involved in the growth, development and response to stress in plants. In *Arabidopsis thaliana*, the first step of polyamine biosynthesis is catalyzed by arginine decarboxylase, a limiting enzyme with two isoforms encoded by the paralogs *AtADC1* and *AtADC2* genes. For the study of the effect of polyamines on stress generated by low temperatures, a line with simultaneous *AtADC* non-lethal silencing was used for both genes (amiR:*ADC*-L2), exposed during germination at 4, 10 and 22 ± 2 ° C. Where there was a change in the color and size of cotyledons, as well as morphological defects in the development of the primary root, denoting the participation of polyamines in tolerance to this type of stress.

Keywords

Polyamines, amiR:ADC-L2, cold stress, acclimatization, tolerance

Introducción

Las plantas al ser organismos sésiles, están expuestas a condiciones adversas generadas por diferentes factores físicos, químicos y biológicos que limitan su crecimiento y que les provocan diversos tipos de estrés. En este sentido, estas condiciones desfavorables pueden alterar o incluso interrumpir la homeostasis metabólica de la planta, bloqueando crecimiento, desarrollo, y si el estrés persiste, inducir de la muerte [1]. En general, estos factores adversos pueden ser clasificados como estrés biótico y abiótico. El estrés biótico es causado por la acción de otros seres vivos: animales, microorganismos y otros agentes fitopatógenos como los virus y viroides [2]. En el caso del estrés abiótico, este es causado por factores físicos y químicos ambientales, como la sequía, la salinidad, las temperaturas extremas, el estrés oxidativo, entre otros. Particularmente, el estrés generado por bajas temperaturas, es conocido por ser la principal causa de pérdida de cultivos en el mundo, al reducir el rendimiento promedio de los principales cultivos por más del 50% a partir de una serie de cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y moleculares que afectan el crecimiento, desarrollo y la productividad de las plantas [3]. Sin embargo, a lo largo de su evolución, las plantas han desarrollado diferentes estrategias a nivel molecular para generar

tolerancia al estrés abiótico, entre las cuales se encuentran: la activación de factores de señalización, la modulación de la expresión génica, la síntesis de proteínas de estrés, el ajuste del balance hormonal y la acumulación de poliaminas (PAs). Particularmente, las PAs participan en la aclimatación y sobrevivencia de las plantas ante este tipo de estrés [5]. Estos policationes están implicadas en múltiples procesos biológicos fundamentales, tales como, el empaquetamiento de ácidos nucleicos, la modulación de receptores de membrana y canales iónicos, la regulación de la expresión génica, la traducción y la señalización celular, razón por la que resultan esenciales para el funcionamiento de los organismos vivos [5]. En las plantas, están involucradas en la embriogénesis, organogénesis, diferenciación, promoción de crecimiento, formación de polen, desarrollo del fruto y retraso de la senescencia [6]. Adicionalmente, el incremento de PAs libres y conjugadas, así como su catabolismo, están asociados a la tolerancia a diversos tipos de estrés como la salinidad, temperaturas extremas, sequía, ozono y radiación UV, entre otros [7]. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales actúan, así como interactores aún no han sido completamente descritos. Por tal motivo, se utilizó la línea silenciante de los genes *ADC* (amiR:*ADC*-L2) [4] con bajos niveles de PAs para analizar su respuesta a una condición estresante que principalmente afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas, el estrés por frío.

Marco teórico

Las PAs más abundantes son la diamina putrescina (Put), la triamina espermidina (Spd), las tetraminas espermina (Spm) y termoespermina (tSpm). Las plantas pueden sintetizar PAs mediante dos vías. La primera deriva directamente de la ornitina mediante la enzima ornitina descarboxilasa (ODC) para producir Put. La segunda es una vía indirecta, la cual genera Put a partir de la arginina en varios pasos sucesivos catalizados por las enzimas arginina descarboxilasa (ADC), agmantina iminohidrolasa (AIH) y N-carbomoil putrescina aminohidrolasa (NCPAH). La síntesis de las PAs superiores espermidina (Spd), espermina (Spm) y termoespermina (tSpm) se lleva a cabo mediante la adición secuencial de grupos aminopropilo a una molécula amino-aceptora (Put o Spd); esta reacción es catalizada por las aminopropil transferasas espermidina sintasa (SPDS), espermina sintasa (SPMS) o termoespermina sintasa (tSPMS), respectivamente. Los grupos aminopropilo son derivados de la metionina, la cual es convertida a *S*-adenosil metionina y después es descarboxilada por la *S*-adenosilmetionina descarboxilasa (SAMDC) [4]. En *A. thaliana* la biosíntesis de Put se realiza a través de la descarboxilación de la arginina [8]. En este sentido, *Arabidopsis* cuenta con dos copias de los genes *ADC (ADC1* y *ADC2)*, una sola copia de los genes *AIH, NCPAH*, dos genes *SPDS (SPDS1* y *SPDS2*), un gen *SPMS* y *tSPMS*, y cuatro genes *SAMDC (SAMDC1-4)* [4].

En *A. thaliana* las semillas de la doble mutante homocigota para los genes parálogos *ADC1* y *ADC2* son abortivas. Por otro lado, la línea mutante *adc2* muestra una disminución del 75% del contenido de Put y es más sensible a estrés salino comparada con la línea parental; incluso también a la línea mutantes *adc1* [9]. En estudios realizados por diversos grupos, se han obtenido resultados que corroboran la importancia de la biosíntesis de las PAs, como una ruta esencial para el desarrollo de la planta, donde efectos antagónicos se caracterizaron mediante el uso de inhibidores específicos de su biosíntesis [3]. Recientemente se han generado plantas transgénicas de *A. thaliana* que expresan constitutivamente un microRNA artificial (amiR:*ADC*-L2) con el objetivo de silenciar la expresión ambos genes *ADC* a fin de estudiar el efecto de la disminución de PAs sobre procesos de desarrollo y respuesta a estrés en planta [4].

Metodología

A.- Material vegetal y condiciones de crecimiento

Se utilizaron semillas de *Arabidopsis thaliana* ecotipo Wassilewskija (Ws) y de la línea AmiR:*ADC*-L2 [2]. La suferficie de las semillas se esterilizó con una solución de hipoclorito de sodio al 20% (v/v) durante 7 minutos, seguido de cuatro enjuagues con agua destilada estéril. Posteriormente, las semillas se vernalizaron a 4 °C, durante 48 h en oscuridad. Posteriormente, las semillas fueron sembradas y crecidas en placas petri con medio de Murashige y Skoog (MS) 0.2X que contenían 0.5% (p/v) de sacarosa y 0.8% (p/v) de fitagel

B.- Ensayo de germinación

El ensayo fue llevado a cabo usando 20 semillas de cada una de las líneas por cada tratamiento por triplicado. Todas las semillas utilizadas en este estudio fueron obtenidas de plantas maduras crecidas al mismo tiempo bajo las mismas condiciones de desarrollo. Las semillas fueron germinadas y crecidas en cajas de Petri de forma vertical en cámaras de crecimiento con un fotoperíodo de 16 h de luz (150 µmol m^{-2} s^{-1}) y 8 h de oscuridad a 4, 10 y 22°C ± 2. El nivel de germinación fue monitoreado cada 24 h por un periodo de 9 días. Cada semilla fue considerada como germinada un vez que la radícula emergió rompiendo la testa. El registro fotográfico, así como, el conteo de cotiledones verdes se efectuó a los 20 días post-germinación.

C.- Análisis estadístico

Se realizó un análisis de prueba *t* de Student para evaluar la significancia estadística. Se utilizó la versión 5.0b de GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, California, EE. UU.). Los datos representan la media ± SE. Las diferencias en P <0.05 fueron consideradas significativas.

Resultados

La línea amiR: *ADC*-L2 presentó un fenotipo de sensibilidad ante las bajas temperaturas aplicadas durante su germinación (10 y 4 °C), en donde es notable la reducción del largo de la raíz y del número de cotiledones (Fig 1.A), en comparación con la línea parental Ws. Respecto a los cotiledones verdes, en la Figura 1 se puede observar que la línea silenciante amiR: *ADC*-L2 presentó una menor cantidad de cotiledones bajo estrés por frío. Además se observó la producción de pigmentos morados a lo largo de la plántula de la línea silenciante al someterse en condiciones de frío, lo cual resulta interesante al compararse con respecto a la tasa de germinación, ya que a partir del día 4 se observa una tendencia creciente de geminación por parte de la línea amiR: *ADC*-L2 superior a la línea parental, principalmente a 10°C (Fig 1.B).

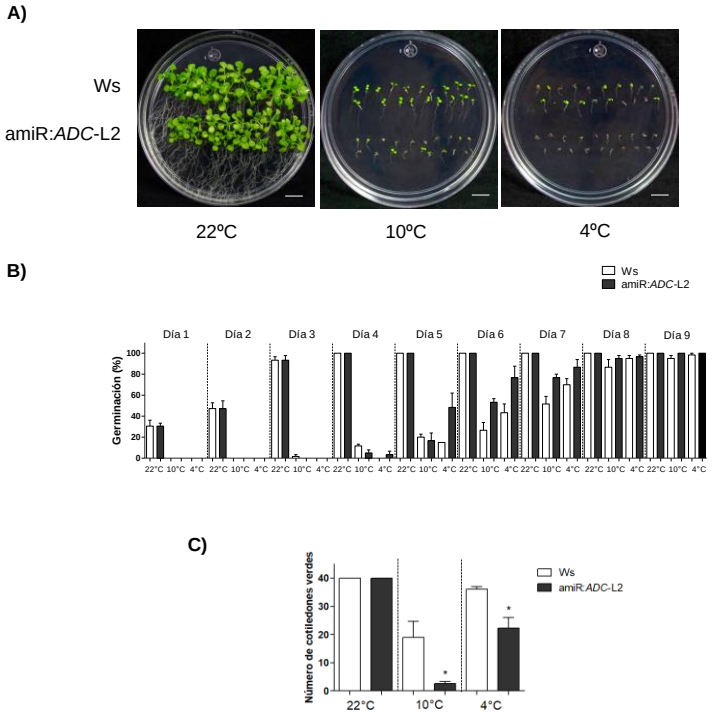


Fig 1. Análisis de fenotipo de las líneas Ws y amiR: *ADC*-L2 bajo condiciones de estrés por frío. Las semillas de *Arabidopsis* de las líneas Ws y amiR:*ADC*-L2 fueron germinadas en medio MS 0.2X. A) Fenotipo representativo de ambas líneas a los 20 días de edad crecidas a 22, 10 y 4°C ± 2. B) Nivel de Germinación correspondiente al periodo del día 1 al 9 post-siembra, expresado en porcentaje (%). C) Cuantificación del número de cotiledones verdes desarrollados. Las barras representan la media ± del error estándar (n=20) de tres replicas. Los asteriscos indican la diferencia significativa entre la línea amiR:*ADC*-L2 y la Ws, calculado mediante una prueba de comparación *t* student (P<0.05).

Discusión

Las PAs están implicadas en un amplio rango de procesos celulares fundamentales, tales como desarrollo, crecimiento, retraso de senescencia y respuesta a estrés biótico y abiótico [6]. En *Arabidopsis*, la enzima arginina descarboxilasa es la responsable de la síntesis de Put; esta planta cuenta con dos copias de los genes *ADC* (*ADC1* y *ADC2*) [9]. A nivel de proteína estos dos genes tienen una identidad del 80%. Sin embargo, a nivel de promotor presentan solo un 28.8% de identidad en nucleótidos, a lo que se atribuye que cada parálogo posea un patrón de expresión diferencial [10]; así, transcripcionalmente estos genes son inducidos por diversos tipos de estrés. En este sentido, se ha reportado que el estrés osmótico, la sequía, la salinidad, las heridas y deficiencia de K^+ inducen la expresión del gen *ADC2*; por su parte la expresión del gen *ADC1* es inducida por frío [8].

En este estudio se utilizó una línea silenciante de los genes At*ADC1* y *2* de *Arabidopsis thaliana*, quien fue retada a crecer a bajas temperaturas (4, 10 y 22 ± 2 ° C). La línea transgénica amiR:*ADC*-L2 mostró un alto porcentaje de germinación respecto a la parental (Ws) a partir del 4 día de germinación a cada temperatura (Fig 1. B). Lo cual, sugiere una mayor acumulación de giberelinas, un regulador de crecimiento que induce la germinación de las semillas. Sin embargo, a los 20 días de edad, las plantulas de la linea silenciante mostraron clorosis y una una tonalidad morada oscura, así como una reducción en el tamaño de la raíz primaria y los cotiledones (Fig 1. A y C), principalmente a los 4 °C y en menor proporción a los 10°C. Esto puede asociarse al papel esencial que representan las poliaminas para la aclimatación y supervivencia adecuada al frío, en parte asociada a las alteraciones en los niveles de ácido abscísico (ABA). Una fitohormona con importantes funciones dentro de la fisiología de la planta, quien participa en procesos del desarrollo y crecimiento así como en la respuesta adaptativa a estrés tanto de tipo biótico como abiótico, regulada esencialmente por los niveles de putrecina [7]. Otro fenotipo interesante fue el retraso del crecimiento de la raíz principal y las raíces secundarias en la línea seleccionada respecto a línea parental. En este sentido, se ha reportado que las PAs están estrechamente relacionadas con el crecimiento vegetal, en particular se ha observado incrementos de estas aminas durante el ciclo celular. La aplicación exógena de Spd y Spm a plantas de *Arabidopsis* genera un mayor número de raíces laterales, así como un incremento en la longitud de la raíz principal; esto mediante la regulación de los genes de las ciclinas tipo A y B, las cuales son esenciales para la transición de la fase G1/S y la G2/M, modulando de esta forma los puntos de control del ciclo celular [11]. Por otro lado, estudios con mutantes de las enzimas de la biosíntesis de las PAs han demostrado que están estrechamente ligadas al desarrollo de las plantas [9].

Conclusiones

La línea amiR:*ADC*-L2 con silenciamiento simultáneo no letal de los genes *AtADC1* y *AtADC2* nos permitió obtener información respecto a la función de las poliaminas en la respuesta a estrés por frío.

La línea amiR:*ADC*-L2 mostró diversos fenotipos cuando creció a bajas temperaturas, por ejemplo mostró una tasa de germinación mayor que la parental; sin embargo presentó una mayor sensibilidad en el crecimiento y desarrollo de las plántulas, denotando la participación de las poliaminas en la tolerancia ante el estrés por frío.

Reconocimientos

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) y al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

Al Dr. Juan Francisco Jiménez Bremont, la Dr. María Azucena Ortega Amaro y la M.C. Ana Isabel Chávez Martínez del IPICYT por toda su paciencia,

enseñanzas, apoyo y colaboración en el laboratorio durante la estancia de verano para el proyecto realizado.

Referencias

[1] Salas, S. Rodríguez, A. Ortega, A. Salazar, F. y Jiménez, J. (2016). *Arabidopsis AtDjA3 Null Mutant Shows Increased Sensitivity to Abscisic Acid, Salt, and Osmotic Stress in Germination and Post-germination Stage.*. IPICYT, San Luis Potosí: Frontiers in Plant Science. Doi: 10.3389/fpls.2016.00220

[2] Gonzales, A. Medina, C. Pérez, N. Olivas, A. Rodríguez, R. y Cruz, M. (2017). *Estrés*. Chihuahua, México: Innovak Global.

[3] Monteoliva, M. Bustos, D. Celina, N. (2019). *Abordajes fisiológicos para el estudio del estrés abiótico en plantas: Disertaciones y protocolos.* Buenos Aires: Secretaría de Agroindustria. Ministerio de Producción y Trabajo. Presidencia de la Nación.

[4] Chávez, A. *(2015). Silenciamiento simultáneo no letal de los genes de arginina descarboxilasa de Arabidopsis thaliana mediante un microRNA artificial.* San Luis Potosí: Biología Molecular, IPICYT. Frontiers in Plant Science.

[5] Guasco, C. Chávez, J. Ferriz, R. Torre, K. Elton, E. y García, T. (2014). *PAs: pequeños gigantes de la regulación metabólica*. México: REB. 33(2): 51-57.

[6] Espasandin, F. Maiale, S. Calzadilla, P. Ruiz, O. y Sansberro, P. (2014). *Transcriptional regulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) gene by putrescine accumulation positively modulates ABA synthesis and drought tolerance in Lotus tenuis plants*. Plant Physiol. Biochem. 76, 29-35.

[7] Huang, X. Zhang, Q. Zhu, D. Fu, X. Wang, M. Zhang, Q. Moriguchi, T. y Liu, J. (2015). *ICE1 of Poncirus trifoliata functions in cold tolerance by modulating polyamine levels through interacting with arginine decarboxylase*. J. Exp. Bot. doi:10.1093/jxb/erv138.

[8] Jiménez, J. Marina, M. Guerrero, M. Franco, R. Sánchez, D. Rodríguez, M. Ruiz, O. y Gárriz, A. (2014). *Physiological and molecular implications of plant polyamine metabolism during biotic interactions*. Front Plant Sci, 5. 95:1-14

[9] Chen, D. Qingsong, S. Lianghong, Y. Younis, A Zheg, B. (2019). Función de poliamina en plantas: metabolismo, regulación del desarrollo y funciones en las respuestas al estrés abiótico. Plant Sci., 10. doi: 10.3389/fpls.2018.01945

[10] Rossi, F. Marina, M. y Pieckenstain, F. (2014). *Role of Arginine decarboxylase (ADC) in Arabidopsis thaliana defence against the pathogenic bacterium Pseudomonas viridiflava*. Plant Physiol. ISSN 1435-8603.

[11] Ortega, M. Rodríguez, K. Becerra, F. and Bremont, J. (2014). *Modulation of Arabidopsis CYCB1 expression patterns by polyamines and salt stress*. Acta Physiol Plant, vol. 34, pp. 461-469.

Pseudomonas: diferencias en el potencial de deterioro de carne de pollo

Cinthia E. Sáenz García[1]*, Pilar Castañeda Serrano[2] , Edmundo Mercado Silva[1], Estela Vázquez Barrios[1] Gerardo M. Nava Morales[1].

[1]Universidad Autónoma de Querétaro; elizabeth.saenz.garcia@gmail.com; mevazquez@uaq.edu.mx, mercado501120@gmail.com, gerardomnava@gmail.com

[2]Facultad de Veterinaria UNAM, pilarcs@unam.mx

Resumen

A nivel mundial, ~20 % de la carne producida se desperdicia y ~4% de este desperdicio es consecuencia del deterioro microbiano. Históricamente se ha considerado a *Pseudomonas* como el principal organismo deteriorador de productos cárnicos y se cree que todos los miembros de este género tienen la capacidad de causar deterioro; sin embargo, estudios genómicos han revelado que esté microorganismo posee un genoma extenso y variado que le permite especializarse para adaptarse a diferentes nichos ambientales. Basado en esta premisa, el objetivo del presente trabajo fue identificar el potencial deteriorador de miembros del genero *Psedomonas* prevalentes en carne de pollo. Para cumplir esta meta, se obtuvieron 76 aislamientos del genero *Pseudomon*as a partir de carne de pollo almacenada a 4 ºC y se sometieron a un modelo de deterioro utilizando filetes de pechuga estéril. Al día 8 de almacenamiento, se determinó la concentración de Nitrógeno Volátil Total (TVB-N). Este estudio reveló que solo el 36% de los aislamientos de *Pseudomonas* tienen la capacidad de generar deterioro de la carne en el modelo experimental. Estos resultados sugieren un proceso diferencial de adaptación que permite a algunos miembros del genero *Pseudomonas* utilizar tejido muscular de pollo como sustrato. Esta información respalda la hipótesis de la existencia de Bacterias Causantes de deterioro (BCD), establecida hace más de 20 años. Se están llevando a cabo estudios moleculares en nuestro laboratorio para identificar las determinantes genéticas asociadas al deterioro de carne de pollo.

Palabras clave: Pseudomonas, carne de pollo, deterioro

Abstract

In the world, ~20 % of meat were lost or wasted. From this number, microbial spoilage contributes ~4% of food waste. It was established that *Pseudomonas* is the main responsible organism for meat spoilage; it has been proposed that all members of *Pseudomonas* genera posses the ability to cause spoilage. Recent genomic studies suggest that *Pseudomonas* should possess an extensive genome size to survive and proliferate in raw meat, a cold, nutrient-limited, complex and hostile environment. The objective of the present study was to identify members of *Pseudomonas* genera with potential to chicken meat spoilage. For this goal we recovered 76 isolates of *Pseudomonas* genera from chicken meat. These isolates were inoculated in fresh and decontaminated chicken meat and stored (4 ºC) during eight days; production of TVB-N was evaluated. The results reveals tan 36% of isolates of *Psuedomonas* caused meat spoilage. These results suggest a differential adaptation process from some members of *Pseudomonas* to has ecological strategies to use chicken muscle tissue

as a substrate to proliferate. Molecular studies are in progress to identify genetic determinants associated to chicken meat spoilage.

Key words: *Pseudomonas*, chicken meat, spoilage

Introducción

La carne de pollo tiene cargas bacterianas iniciales entre 10^4 y 10^5 UFC/cm^2 (Boziaris and Parlapani, 2017); durante los primeros días (1 al 5), bajo condiciones de refrigeración (~3 a 5°C), estos niveles bacterianos se mantienen estables sin alterar la frescura de la carne; sin embargo, después de este tiempo los microorganismos psicrófilos (rango de proliferación 0 - 25°C) comienzan a desarrollarse causando deterioro y putrefacción del producto (Parlapani et al., 2014).

El género *Pseudomonas* se ha considerado como uno de los principales organismos causantes del deterioro de la carne de pollo (Ercolini et al., 2010). Miembros del género *Pseudomonas* tienen una gran capacidad para adaptarse a una gran variedad de ambientes, debido a la diversidad metabólica codificada en su genoma (Remenant et al., 2015). Actualmente existen ~200 especies de *Pseudomonas* reconocidas (Silby et al., 2011) y se ha revelado que diferencias alélicas en sus loci facilitan la adaptación a diferentes nichos y hospederos (Morales et al., 2016).

En el caso de la carne de pollo, se han recuperado diferentes especies del genero Pseudomonas y aunque se ha propuesto que este género es el principal deteriorador de la carne de pollo; algunos estudios han demostrado que sólo algunos miembros del genero Pseudomonas poseen el potencial de deterioro (Wang et al., 2017). Algunos miembros del género *Pseudomonas* tienen la capacidad de producir enzimas extracelulares a temperaturas <12 C (Mellor *et al.,* 2011). Por ejemplo, *P. fluorescens* produce metaloproteasas extracelulares dependientes de Zinc con actividad similar a la tripsina (Morales et al., 2016). Otros miembros del género *Pseudomonas* tienen la capacidad de producir pigmentos como las fenazinas (piocianina, piorrubina, clororafina, oxifenazina), la proteína azul y la pioverdina. Durante el deterioro de la carne *P. fluorescens* produce pioveridina y piocianina, que causan el color típico verde-amarillento de la carne deteriorada (Stanborough et al., 2018). Sin embargo, hasta el momento se desconocen las características genéticas o metabólicas de los microorganismos responsables de causar deterioro de la carne de pollo. El objetivo del presente trabajo fue identificar el potencial deteriorador entre los diferentes miembros del genero *Psedomonas* prevalentes en carne de pollo.

Metodología

Diversidad de bacterias oligotróficas y psicrótrofas aisladas de carne de pollo deterioradas.

Se recuperaron bacterias a partir de lavados de carne de pollo (0, 4, 8, 10 y 14 días). Se obtuvieron 8 pechugas de un supermercado de la ciudad de Querétaro y las muestras fueron transportadas al laboratorio en condiciones de refrigeración. Una vez en el laboratorio, las piezas fueron cortadas bajo condiciones asépticas en trozos de 25 g y almacenadas en bolsas de cierre hermético a 4ºC durante 14 días. Al final del almacenamiento se realizó un lavado manual con 50 ml de solución salina durante 3 minutos, con la finalidad de desprender las células bacterianas del tejido. Posteriormente se realizaron diluciones decimales seriadas de estos lavados y se colocó 100 µl los medios desarrollados:

1. Medio A: 1.5 g de Tripteína, 0.5 g de Peptona de soya, 0.5 g de Cloruro de sodio y 15 g de Agar bacteriológico (BD Bioxon, EE.UU) por litro.
2. Medio B: 0.15 g de Tripteína, 0.05 g de Peptona de soya, 0.05 g de Cloruro de sodio y 15 g de Agar bacteriológico (BD Bioxon, EE.UU) por litro.
3. Medio C: con 0.015 g de Tripteína, 0.005 g de Peptona de soya, 0.005 g de Cloruro de sodio y 15 g de Agar bacteriológico (BD Bioxon, EE.UU) por litro.

Se seleccionaron colonias representativas (redondas, blancas y cóncavas) y se obtuvieron cultivos. Para la identificación de los cultivos, estos se propagaron (22ºC por 48 h) en caldo soya tripticasa para ser identificados molecularmente, 1 ml del caldo de cultivo se centrifugó a 13,000 rpm por 3 min y el agregado celular se sometió al proceso de extracción de ADN con el kit comercial Quick – gDNA Zymo Research. El ADN se normalizó a 5 ng/µg y fue utilizado para el ensayo de PCR con el gen *16s rRNA* con los iniciadores 8F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) y 1510 (CGGTTACCTTGTTACGACTT) (Frank et al., 2008). Se utilizó el siguiente protocolo: desnaturalización inicial a 94°C por 3 min, seguido de 20 ciclos de 94°C por 45 s, alineación de 5.3°C por 30 s, una extensión de 72°C por 30 s y extensión final a 72°C por 5 min (Frank et al., 2008). Los productos de la PCR se secuenciaron con el metódo Sanger (Genewiz, EE. UU.) y las secuencias del gen *16S rRNA* fueron analizadas a través de la base de datos del Ribosomal Database Project, 11,0 (Cole et al., 2014). Las secuencias fueron categorizadas a nivel de familia con la herramienta Classifier de la base de datos del Ribosomal Database Project 11.0 (Cole et al., 2014).

Microorganismos con capacidad para acelerar el deterioro en carne de pollo.

Para poder identificar a bacterias que causan el deterioro, se seleccionaron todos los aislamientos de *Pseudomonas* obtenidos, se prepararon inóculos bacterianos a una concentración de 10^4 UFC (Ercolini et al., 2010). Los filetes fueron cortados en cubos de ~ 5 cm^2 y con la finalidad de reducir las cargas bacterianas los cubos se lavaron 5 veces con agua destilada estéril, se sumergió en alcohol etílico al 97% por 1 min y se pasó por fuego; posteriormente con un bisturí estéril, se cortaron las secciones de tejido expuestas a la flama. Las muestras fueron inoculadas con los aislamientos de *Pseudomonas* y almacenados durante 8 días. Posterioremente se evaluó la concentración de TVB-N por el método de microdifusión de Conway. Para esto, se homogeneizó en una licuadora durante 1 min 5 g de muestra con 15 ml de agua destilada por 1 min, se adicionó agua destilada para alcanzar a un volumen final de 50 ml. El homogeneizado se pasó por papel filtro (Whatman No. 1). Un mililitro del filtrado se colocó en el espacio exterior de la unidad de Conway, en el espacio interior se colocó 1ml de H_3BO_3 al 0.01N y 200 µl del reagente de Conway (0.066% de rojo de metilo en etanol: 0.066% de verde de bromocresol en etanol = 1:1). Se adicionó 1 ml de K_2CO_3 saturado en el espacio exterior e inmediatamente se cerró la unidad de Conway. Las cámaras se incubaron a 37ºC por 2 hr (Hwang et al., 2015), para posteriormente llevar a cabo la titulación con H_2SO_4 al 0.02N de la solución de ácido bórico localizada en el espacio interior de la cámara de Conway. El contenido de TVB-N se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\text{TVB} - \text{N}\ \%\text{mg} = \frac{(a-b)\ \text{x}\ f\ \text{x}\ 28.014\ \text{x}\ 100}{S}$$

Dónde: S = tamaño de la muestra en gramos, a = volumen (ml) de H_2SO_4 adicionados a la muestra, b = volumen (ml) de H_2SO_4 adicionados al blanco y *f* = factor estándar de H_2SO_4.

Una manera de categorizar los aislamientos de acuerdo a la concentración de TVB-N es en organismos de causan deterioro (> 35 mg/100 g de TVB-N), medianamente deterioran (34 -19 mg/100 g de TVB-N) y no deteriroran (> 20 mg/100 g de TVB-N).

Pseudomonas con potencial de deterioro

Con la finalidad de corroborar las diferencias entre el potencial de deterioro de *Pseudomonas* se realizó el siguiente experimento. Se seleccionó 2 cepas representativas de *Pseudomonas,* una con capacidad de deteriorar (CD) y otra cepa asociadas al deterioro (AD). Los inoculos se prepararon y se inoculó la pechuga de pollo como se describió previamente. El pollo se almacenó durante 8 días a 4ºC y se midió concentración de TVB-N como previamente se describió**.**

Resultados y discusión

Se obtuvieron 100 aislamientos de la carne de pollo, se identificaron 8 familias (Cuadro 1), la familia *Micrococcaceae* y *Caulobacteraceae* no se habían asociado al deterioro de la carne de pollo. Interesantemente, el 76% de los aislamientos pertenecen a la familia *Pseudomonadaceae.*

Cuadro 1. Aislamientos de organismos oligotróficos y psicrótrofos

Familias	%
Pseudomonadaceae	76
Caulobacteraceae	1
Enterobacteriaceae	10
Micrococcaceae	6
Bacillaceae	2
Moraxellaceae	2
Listeriaceae	3

La distribución de la diversidad los aislamientos fue mayor el día 14 de almacenamiento (*Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Moraxellaceae, Listeriaceae* y *Micrococcaceae)* en comparación el día 8 que sólo se identificaron dos familias (**Figura 1**). *Arthobacter* es un organismo que se ha aislado en productos cárnicos frescos (Chaillou et al., 2015), sin embargo no se ha reportado en aislamientos de carne de pollo deteriorada. Por otro lado la familia *Calubacteraceae* no se había asociado al deterioro en carne de pollo, generalmente se puede asilar en medios acuáticos. La diversidad encontrada en este estudio se debe principalmente al uso de medios no convencionales para este tipo de ensayos.

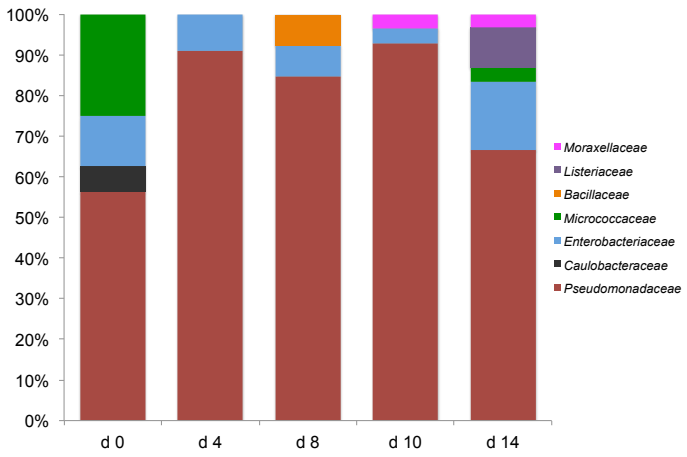


Figura 1. Diversidad de bacterias asociadas al deterioro en diferentes días

Microorganismos con capacidad para acelerar el deterioro en carne de pollo.

Se identificaron 76 aislamientos de *Pseudomonas*, cada uno de los aislamientos fueron inoculados en pechuga de pollo y almacenados por 8 días a 4ºC. Posteriormente se determinó la concentración de TVB-N y los aislamientos se categorizaron de acuerdo a su concentración en organismos de causan deterioro (CD) (> 35 mg/100 g de TVB-N) y organismos asociados al deterioro (AD) (< 35 mg/100 g de TVB-N) (**Figura 2**).

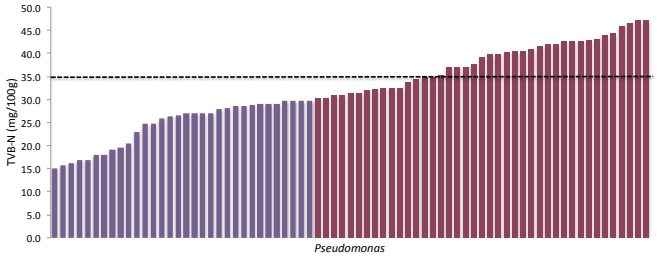


Figura 2. Aislamientos de Pseudomonas de acuerdo a su potencial de deterioro

El 36 % de los aislamientos de *Pseudomonas* tienen la capacidad de causar deterioro en carne de pollo (**Figura 3**). Estos resultados corroboran la idea de dos grupos presentes en la carne de pollo, los que causan el deterioro y los que están asociados al deterioro. Así mismo se corrobora que bacterias del mismo género tiene capacidades diferentes de causar el deterioro.

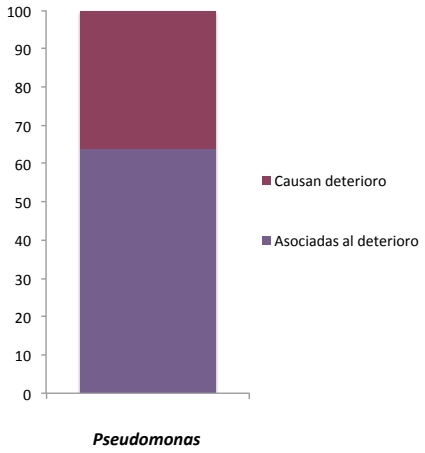


Figura 3. *Pseudomonas* con capacidad de causar el deterioro

Potencial de diferentes *Pseudomonas* de causar deterioro

Con la finalidad de corroborar la diferencia en el potencial de causar deterioro entre *Pseudomonas* aisladas de carne de pollo, se realizó el siguiente ensayo: se seleccionó un aislamiento representativo con capacidad de causan deterioro (>35 mg TVB-N /100 g y un aislamiento representativo que no causan deterioro (AD) (<20 mg TVB-N /100 g), estos fueron inoculados en filetes pechuga de pollo esterilizada, como se describió previamente. Los filetes fueron almacenados a 4 ºC por 8 días y se evaluó la concentración de TVB-N. Las evaluación se realizaron los días 0, 4 y 8. La concentración de TVB-N se realizó como se describió anteriormente con el método de microdifusión de Conway (Hwang et al., 2015). El pollo inoculado con la Pseudomona deterioradora, alcanzó niveles por encima de los 35 mg/100 g para el día 8 de almacenamiento, mientras que el pollo inoculado con la Pseudomona asociadas al deterioro (AD) alcanzó niveles menores a 20 mg/100 g (**Figura 4**). Estos resultados apoyan la idea que existen dos grupos de bacterias (Bacterias que Causan el Deterioro y Bacterias Asociadas al Deterioro) en

el pollo. Es importante resaltar que incluso bacterias del mismo género aisladas de carne de pollo deteriorada tienen capacidades diferentes de metabolizar compuestos para causar deterioro, como es el caso de los dos aislamientos de *Pseudomonas* que se usaron para este ensayo.

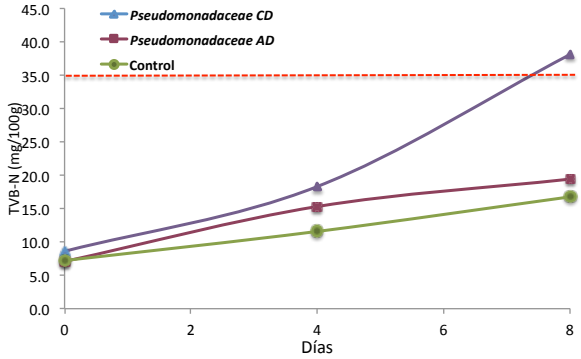


Figura 4 Concentración de TVB-N de pollo inoculado con BCD y BAD

Conclusiones

En el presente estudio, se identificaron 76 aislamientos del género *Pseudomonas*. El estudio reveló que el 36% de los aislamientos tienen la capacidad de generar deterioro en la carne de pollo. Estos resultados sugieren un proceso diferencial de adaptación de algunos miembros del genero *Pseudomonas* que cuentan con una versatilidad metabólica que les permite utilizar tejido muscular de pollo como sustrato. Se están realizando estudios moleculares en nuestro laboratorio para identificar las determinantes genéticas asociadas al deterioro de carne de pollo.

Referencias Bibliográficas

- Boziaris, I.S., Parlapani, F.F., 2017. Specific Spoilage Organisms (SSOs) in Fish, in: The Microbiological Quality of Food. Elsevier, pp. 61–98. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100502-6.00006-6
- Chaillou, S., Chaulot-Talmon, A., Caekebeke, H., Cardinal, M., Christieans, S., Denis, C., Hélène Desmonts, M., Dousset, X., Feurer, C., Hamon, E., Joffraud, J.-J., La Carbona, S., Leroi, F., Leroy, S., Lorre, S., Macé, S., Pilet, M.-F., Prévost, H., Rivollier, M., Roux, D., Talon, R., Zagorec, M., Champomier-Vergès, M.-C., 2015. Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. ISME J 9, 1105–1118. https://doi.org/10.1038/ismej.2014.202
- Cole, J.R., Wang, Q., Fish, J.A., Chai, B., McGarrell, D.M., Sun, Y., Brown, C.T., Porras-Alfaro, A., Kuske, C.R., Tiedje, J.M., 2014. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. Nucleic Acids Res 42, D633–D642. https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244
- Ercolini, D., Casaburi, A., Nasi, A., Ferrocino, I., Di Monaco, R., Ferranti, P., Mauriello, G., Villani, F., 2010. Different molecular types of Pseudomonas fragi have the same overall behaviour as meat spoilers. International Journal of Food Microbiology 142, 120–131. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.012
- FAO, 2015, SAVE FOOD: Global Initiative on Food Loss and Waste Reduction
- Frank, J.A., Reich, C.I., Sharma, S., Weisbaum, J.S., Wilson, B.A., Olsen, G.J., 2008. Critical Evaluation of Two Primers Commonly Used for Amplification of Bacterial 16S rRNA Genes. Applied and Environmental Microbiology 74, 2461–2470. https://doi.org/10.1128/AEM.02272-07
- Hwang, K.-E., Choi, Y.-S., Kim, H.-W.,

Choi, M.-S., Song, D.-H., Kim, Y.-J., Ham, Y.-K., Kim, C.-J., 2015. Combined Effects of Mugwort Herb and Vitamin C on Shelf-Life of Vacuum-Packed Seasoned Pork. Korean J Food Sci Anim Resour 35, 421–430. https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.4.421

- Morales, P.A., Aguirre, J.S., Troncoso, M.R., Figueroa, G.O., 2016. Phenotypic and genotypic characterization of Pseudomonas spp. present in spoiled poultry fillets sold in retail settings. LWT 73, 609–614. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.064
- Parlapani, F.F., Mallouchos, A., Haroutounian, S.A., Boziaris, I.S., 2014. Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of sea bream fillets under various conditions. International Journal of Food Microbiology 189, 153–163. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.006
- Remenant, B., Jaffrès, E., Dousset, X., Pilet, M.-F., Zagorec, M., 2015. Bacterial spoilers of food: Behavior, fitness and functional properties. Food Microbiology 45, 45–53. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.03.009
- Silby, M.W., Winstanley, C., Godfrey, S.A.C., Levy, S.B., Jackson, R.W., 2011. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. FEMS Microbiology Reviews 35, 652–680. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00269.x
- Stanborough, T., Fegan, N., Powell, S.M., Singh, T., Tamplin, M., Chandry, P.S., 2018. Genomic and metabolic characterization of spoilage-associated Pseudomonas species. International Journal of Food Microbiology 268, 61–72. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.005
- Stove Poindexter, J.L., 1964. THE FINE STRUCTURE OF STALKED BACTERIA BELONGING TO THE FAMILY CAULOBACTERACEAE. The Journal of Cell Biology 23, 587–607. https://doi.org/10.1083/jcb.23.3.587
- Wang, G., Wang, H., Han, Y., Xing, T., Ye, K., Xu, X., Zhou, G., 2017. Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from chilled chicken in vitro and in situ. Food Microbiology 63, 139–146. https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.015

Desarrollo de una bebida de frijol común enriquecida.

V. Sánchez-Quezada[a], G. Loarca-Piña[a*], M. Gaytán-Martínez[a], & M. L. Reyes-Vega[b]

[a] Posgrado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario, Santiago de Querétaro C.P. 76010, Qro, México.
[b] Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N. Col. Centro, C.P. 76010 Santiago de Querétaro, Mexico. [*]Datos de contacto: Cerro de Las Campanas, s/n, Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, Qro. México, Tel./fax: +524421921307, E-mail: loarca@uaq.mx

Resumen

Las bebidas veganas son extractos líquidos elaborados de leguminosas, cereales o granos, que se incluyen como nuevos alimentos, disponibles en el mercado con una creciente aceptación entre los consumidores. Dentro de las leguminosas se encuentra el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) considerado un alimento funcional por su composición nutrimental, química y nutracéutica. El objetivo de este trabajo fue desarrollar una bebida elaborada a partir de frijol común extruido variedad Bayo Madero, enriquecida con aislado proteico de frijol y hierro biodisponible, como producto innovador y calidad que no se encuentra en el mercado. Los resultados, destacan una disminución significativa (22-60%) en compuestos antinutricios (taninos condensados, ácido fítico, carbonatos totales e inhibidores de tripsina) respecto a harina no extrudida. Los aislados proteicos obtenidos alcanzaron una pureza de 92.84% y una digestibilidad *in vitro* de 89.95%, incrementando hasta 248% en la bebida, siendo su composición química: proteína 3.39%, lípidos 0.84%, cenizas 0.37%, carbohidratos 2.11%, humedad 93.19%, hierro (Fe^{+2}) 6.36ppm, calcio 14.0 ppm, como parte de las propiedades fisicoquímicas un pH 5.4, acidez titulable de 0.003%, °Brix de 2.50 y densidad de 2.13°Baumé. Se alcanzó un nivel de agrado adecuado en las pruebas sensoriales, siendo aceptados por los panelistas no entrenados. Los resultados concluyen que el proceso de extrusión disminuye el contenido de compuestos antinutricios del frijol y la adición del aislado proteico y hierro mejora nutrimental la bebida, obteniendo un producto innovador que ayudará a retomar la alimentación tradicional del mexicano y a su vez satisfaga las necesidades nutricionales que afectan al país.

Palabras claves: Bebida vegana, Frijol común, extruido, nuevas tecnologías, funcional, Bayo Madero.

Abstract

Vegan drinks are liquid extracts made from legumes, cereals or grains, which are included as new foods, available in the market with a growing acceptance among consumers. Within the legumes is the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) considered a functional food for its nutritional, chemical and nutraceutical composition. The objective of this work was to develop a beverage made from common extruded bean variety Bayo Madero, enriched with bioavailable bean and iron protein isolate, as an innovative product and quality that not found in the market. The protein isolates obtained reached a purity of 92.84% and an *in vitro* digestibility of 89.95%, increasing up to 248% in the beverage, being its chemical composition: protein 3.39%, lipids 0.84%, ashes 0.37%, carbohydrates 2.11%, humidity 93.19 %, iron (Fe + 2) 6.36ppm, calcium 14.0 ppm. As part of the physicochemical properties a pH 5.4, titratable acidity of 0.003%, Brix ° of 2.50 and density of 2.13 °Baumé. An adequate level of satisfaction was achieved in sensory tests, being accepted by untrained panelists. The results conclude that the extrusion process decreases the content of bean antinutrition compounds and the addition of the protein and iron

isolate improves the drink's nutritional content, obtaining an innovative product that will help retake the traditional Mexican diet and in turn satisfy the nutritional needs that affect the country.

Key words: Vegan drink, Common bean, extruded, new technologies, functional, Bayo Madero.

Introducción

Como parte de una buena alimentación, las leguminosas y los cereales han tenido gran importancia, debido a sus propiedades nutritivas, su bajo costo y por los efectos fisiológicos asociados a su ingesta, cualidades que las convierten en un producto básico, especialmente en las poblaciones de bajos recursos y países en vías de desarrollo como lo es México (De león *et al.,* 2015). El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) forma parte de las leguminosas más importantes a nivel mundial, su cultivo está extendido en los cinco continentes, siendo el México el cuarto lugar en producción con 70 variedades nativas y 150 mejoradas, y aunque no está considerado dentro de los cuatro cultivos prioritarios, es uno de los alimentos básicos de los pobladores de regiones de África, América Latina y el Caribe (González *et al.*, 2015).

Así mismo el frijol común se destaca por sus propiedades nutritivas ya que se conforma principalmente por hidratos de carbono y son una buena fuente de nitrógeno y proteínas, contiene gran variedad de minerales como: calcio, magnesio, potasio, fósforo, cobre, hierro, zinc, manganeso y azufre. También es rica en componentes bioactivos como: inhibidores de enzimas, lectinas, fitatos, oligosacáridos y compuestos fenólicos, que exhiben funciones metabólicas en humanos y animales, denominándose así alimento nutracéutico (Suárez-Martínez *et al.,* 2016).

Los compuestos anti-nutricios son compuestos que se encuentran comúnmente en las semillas y granos comestibles, y cuando son ingeridos disminuye la biaccesibilidad en el cuerpo humano especialmente proteínas, vitaminas y minerales. En general, las leguminosas se han reconocidos por su bajo contenido nutritivo debido a la presencia de compuestos o factores anti-nutricios que limita la absorción de compuestos nutricionales y bioactivos, los frijoles crudos contienen componentes anti nutricionales que pueden afectar la salud si no son procesados correctamente, sin embargo, pueden ser desactivados de manera tradicional por proceso térmico corto de alrededor de 15 a 20 minutos a temperatura de 70-80 °C, algunos de ello son hidrosolubles, por lo que un remojo antes del tratamiento ayuda a disminuir significativamente su contenido. Actualmente se utilizan otras tecnologías para reducir los niveles de compuestos anti-nutricios (Zarei y Kafizadeh, 2013).

En la actualidad los cambios en el estilo de vida, reacciones alérgicas y la sustentabilidad en la producción de alimentos hacen que la innovación en los alimentos tenga una orientación agregada con orientación a ciertos grupos de individuos vulnerables, esto se logra a través de nuevos procesos de elaboración de los alimentos, incluyendo estrategias más ecológicas, e implementando tecnologías emergentes como lo es altas presiones hidrostáticas, calentamiento ómico, microondas o extrusión (Muthukumarappan y Karunanithy, 2016); este último es un proceso termo-mecánico de corto tiempo, que involucra modificaciones en el tamaño, forma, textura y sabor del alimento, modificaciones fisicoquímicas como: solubilidad y absorción de agua, disminución de absorción de aceites, expansión, aumento en viscosidad y densidad; así como modificaciones moleculares: gelatinización del almidón, desnaturalización de la proteína, disminución de la humedad y/o aumento de fibra dietaria (Muthukumarappan y Swamy, 2018).

Por otra parte, las expectativas de los consumidores en cuanto alimentos y/o bebidas es la conveniencia en la presentación, transporte y/o distribución, la variedad, el contenido calórico, así como mayor vida de anaquel, lo cual ha provocado la necesidad de modificar y adoptar nuevas técnicas de procesamiento de alimentos, esto con el fin de obtener un

mejoramiento en la calidad sensorial, nutritiva, vida media y sobre todo en la aceptación (Moreno, 2016). Actualmente las tendencias de nuevas bebidas se han incrementado debido al crecimiento de algunos padecimientos como: la intolerancia a la lactosa, alergias, cambios de hábitos y estilos de vida más armoniosos con el medio ambiente, es por ello que en la actualidad en los supermercados las leches vegetales están cada vez más presentes y se están posicionando como alternativa para los consumidores (Andreu, 2016).

Las bebidas vegetales son extractos líquidos de legumbres, frutos secos o cereales. Donde el proceso de elaboración consiste en remojar el grano, molerlo y colarlo para obtener un líquido con un valor nutritivo variable en proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales, en función del sistema de obtención y de la materia prima utilizada. Usualmente se añaden nutrientes tras su elaboración para intentar asemejar su composición a la de la leche de vaca (Nardi, 2017).

El grupo de trabajo busca la innovación, producción y tecnología de alimentos funcionales que proporcionen beneficios al consumidor, como es el caso de una bebida a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) extruido variedad Bayo Madero, por lo que el objetivo de este trabajo fue mejorar y enriquecer la bebida de frijol, mediante la obtención de un aislado proteico del frijol común y sulfato ferroso como hierro biodisponible, evaluando sus propiedades nutricionales, fisicoquímicas y sensoriales mediante pruebas hedónicas con panelistas no entrenados esto para asegurar que posea las características deseadas en el producto final.

Metodología

Material biológico

Pre-tratamiento y tratamiento: se usaron semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Bayo Madero cosecha 2013 donadas por el Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuario (INIFAP), campo experimental del Bajío, la cual se sometieron a un proceso de remojo por 8 horas a 1:2 (v/v) con agua destilada, posteriormente se descascarilló el cotiledón a mano. A los cotiledones descascarillados se les determinó la humedad relativa una vez valorado se hicieron pasar por un extrusor de tornillo sencillo con una relación de compresión de 1:1, con diámetro de 1 pulgada acoplado a un dado con orificio de 5 mm, una velocidad de 12-15 revoluciones por minuto (rpm), temperatura de precalentamiento de 60-80 °C y calentamiento de 130-140 °C, se continuó con un proceso de secado controlado a 41 °C por 2 horas en un deshidratador, las condiciones cambiaron para obtener harina extruida para la bebida (HB) y harina extruida para aislado proteico (HAP).

Aislado proteico de frijol común variedad Bayo Madero

Aislado: se realizó de acuerdo a Valentas y Levne (1991), con modificaciones. La harina de frijol extrudida para aislado de proteína (HAP) se suspendió en agua destilada (1:6, p/v) y el pH de la suspensión se ajustó a 11 con NaOH (1 N), se agitó en vortex por 2 minutos, se centrifugó durante 35 min, posteriormente se pasó por mallas a tamaño de partícula de 425 µm y 180 µm consecutivamente para eliminar la fibra y el almidón, posteriormente se centrifugó 10 min a 800 rpm a temperatura de 25 °C y se separó el sobrenadante. Se ajustó nuevamente el pH del sobrenadante a 4.4 con HCl (1 N) y se centrifugó 20 min para recuperar el precipitado. La cuantificación de proteínas totales se realizó por la metodología de Bradford.

Electroforesis: se tomó 1 mg de muestra del aislado proteico y se re suspendió en 1 mL de NaOH (0.1 N), se lagitó en vortex por 5 minutos hasta su suspensión. Se tomó 100 µL de la muestra suspendida y se colocó en tubos eppendorf, posteriormente se agregó 100 µL del buffer de carga (con/sin βmercaptoetanol), los tubos se colocaron en agua a punto de ebullición por 1 min exactos, una vez pasado el tiempo se tomó una alícuota de 12 y 15 µL y se colocaron en los diferentes pozos del gel (Mini-protean TGX Stain-free, 4-15%), posteriormente el gel se colocó en la cámara de electroforesis (Mini-PROTEAN, BIORAD) y se dejó

correr a 90 volts por 95 min, posteriormente se visualizó en el fotodocumentador.

Digestibilidad *in vitro* del aislado proteico: se realzó por lo descrito por Hsü *et al.*, 1977 con algunas modificaciones, se disolvió exactamente 63.8 mg de proteína pura en 10mL de agua destilada, posteriormente se ajustó el pH, se adicionaron 1 mL de tripsina, quimiotripsina, proteasa de bovino, posteriormente se adicionó 1mL de proteasa bacteriana, para finalizar incubando a 55°C por 10 minutos y agitación continua, pasado el tiempo se enfrió y se midió el pH. La digestibilidad se expresa en porcentaje.

Morfología granular: las micrografías de las harinas obtenidas (HB y HAP) y de la proteína aislada de frijol se observaron por medio de un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) equipado con Phrnom Pro. Las muestras se colocaron en el plato de metal y fueron tapadas con cinta adhesiva doble vista, examinándose a 15.0 kV de aceleración y acercamiento de 500 a 3000 x.

Índice de absorción de agua y aceite: Esta determinación se realizó de acuerdo a lo descrito por Anderson *et al.*, 1969 y por Yuliana *et al.*, 2014.

Elaboración de la bebida a base de frijol común

Proceso del diseño de elaboración: se usó la metodología descrita por Chico en 2015, con algunas modificaciones; para emulsificación se colocó 0.3% de lecitina de soya como emulsificante y 0.75% (p/v) de aceite de canola en 1 tercio de agua destilada (del volumen total) la mezcla se calienta a 60 °C con agitación constante y se sometió a una homogenización por 3 minutos a 8000 rpm en un homogenizador (Ultra-Turra IKA T18 basic).

Determinación de factores anti-nutricios que afectan la absorción del hierro.

Cuantificación de inhibidores de tripsina: esta técnica se desarrolló usando la metodología de Kakade *et al.*, 1974, tomando 1 g de muestra de las BF, HB y harina de frijol sin tratamiento (HST), se adicionaron 50 mL de NaOH (0.01 N) con agitación continua durante 3 horas, una vez transcurrido el tiempo se ajustó el pH a 8.2 con HCl (0.1N), posteriormente se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos. A 5 mL del sobrenadante se agregó 15 mL de agua destilada, realizada la dilución se tomó 500 µL tanto para el tubo muestra como para el blanco. Los resultados se expresan en unidades inhibidoras de tripsina (UIT) por miligramo de muestra.

Cuantificación de carbonatos totales: se cuantificó para BF, HB y HST de acuerdo a Bemer y Morse, 1974. Los datos se reportan como mg de $CaCO_3$ presente en 100 g o mL de muestra o como porcentaje de $CaCO_3$.

Cuantificación de ácido fítico: el contenido de ácido fítico se determinó por el método de Lolas y Markakis en 1977, el cual consistió en pesar 2 g de la muestra **(**BF, HB y HST) se le adicionaron 100 mL de HCl al 2%. Se tomaron 50 mL del filtrado y se adicionaron 10 mL de agua destilada, 10 mL de tiocianato de amonio (NH4SCN) al 3 %, posteriormente se tituló con cloruro de hierro III, hasta el cambio de la coloración a un naranja. Se expresa en porcentaje de ácido fitico.

Cuantificación de taninos condensados: se utilizó la técnica descrita por Deshpande y Cheyra en 1987, con modificaciones para microplaca, 1g de BF, HB y HST, se adicionó 10 mL de metanol puro, se tomó 50 µL y se colocaron en los pozos de la microplaca trasparente, posteriormente se adicionó 200 µL de la solución de vainillina, se corrió un blanco con 50 µL del sobrenadante más 200 µL de HCl (4%), la lectura se realizó a 492nm con ayuda del lector de microplacas (multimodo Synergy HT). Los datos se expresan en mg (+)–catequina equivalentes en gramos de muestra.

Parámetros fisicoquímicos de la bebida a base de frijol común.

Viscosidad, tasa de asentamiento y tasa de solidos totales: la viscosidad de las bebidas de frijol se determinó por medio de un reómetro Anton Paar MCR 101. Por el método de Traynor et al., 2013, se

expresa como porcentaje de asentamiento (%TS). Para la taza de solidos totales se utilizó las mismas temperaturas midiendo la separación por gravedad de los sólidos visibles dentro de las formulaciones. Se expresa como porcentaje de solidos totales.

Densidad, pH y solidos solubles: se determinó el pH de la bebida por medio de un potenciómetro (Orion 3 Star, THERMO SCIENTIFIC). Los sólidos solubles (grados brix) se determinaron con ayuda de un refractómetro. La densidad Se determinó colocando 100 mL de la muestra en una probeta a 20 °C poniendo un densímetro T. Mantay B. de 0 a 10 ° Baumé (20 °C).

Ácidez titulable: se realizó de acuerdo a lo descrito en la normativa mexicana (NMX-F-102-S-1978), el cual consistió en colocar 5 mL de cada una de las formulaciones de la bebida en un matraz de 250 mL, se adicionó 50 mL de agua destilada hirviendo, se continuó calentando por 30 a 60 segundos, se agitó y se dejó enfriar para posteriormente agregar 250 µL de fenoftaleína, para finalizar titulando con NaOH (0.1N), la acidez titulable se expresa en porcentaje.

Composición química de la materia prima y de las formulaciones

Se determinó por los métodos AOAC siendo los carbohidratos por diferencia, proteína (954.01), grasa (920.39), humedad (925.09B), y ceniza (945.46).

Determinación de hierro férrico (Fe^{+3}): esta metodología fue descrita por Siong y Chao (1989), las cenizas fueron tratadas con ácido clorhídrico concentrado 0.1 M y se transfieron a un matraz aforado de 50 mL, se continuó el tratamiento colorimétrico, el cual consistió en hacer reaccionar las cenizas tratadas con 1,10-fenantrolina hidrocloruro hasta el cambio de coloración a rojo, el complejo fue leído en un espectofotómeto de UV-VIS a 510 mn.

Determinación de hierro ferroso (Fe^{+2}): la cuantificación de hierro se determinó por medio de lo descrito por la AOAC 999.11 con algunas modificaciones, la cual consiste mediante digestión vía seca y lectura por espectrofotometría de absorción atómica con llama, las muestras se homogenizaron 5 g o 20 mL, en una mufla con termostato programable, posteriormente se humedecieron las cenizas con 5 mL de HCl (6 M) y se evaporó en parrilla a 100 °C por 5 min, se colocaron nuevamente en mufla por 2 horas a 550 °C se disolvieron las cenizas en agua grado HPLC y se aforaron a 50 mL, se leyeron en el espectrómetro de absorción atómica, las absorbancias obtenidas se interpolaron en una curva de calibración de estándar de hierro.

Evaluación sensorial

Previamente a este estudio se garantizó la inocuidad del producto, al someterse a pruebas microbiológicas (coliformes totales, mesófilos aerobios, además de hongos y levaduras). Para el estudio sensorial se dividió en dos fases convocando a 60 panelistas no entrenados tipo consumidores de edad y sexo indistinta. Consistió en una prueba de agrado general donde se les dieron las formulaciones finales se evaluaron por medio de escalas hedónicas de 7 puntos, para las características de olor y de sabor con puntos específicos (dulce, salado, metálico, amargo, entre otra), así como agrado general, en escala de 7 puntos. Las personas que presenten reacciones alérgicas al frijol, así como alguno de los ingredientes antes descritos o que presenten alguna enfermedad o condición que límite su apreciación sensorial no podrán ser parte de esta investigación. Esta prueba ha sido revisada y aprobada por el comité de bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Análisis estadístico

Para las harinas de se utilizó un diseño unifactorial 1^3, las medias se compararon por *t-student* y Tukey (α=0.05). Para la bebida se utilizó un diseño factorial 22 con variables fijas, las medias se compararon entre sí por la prueba Tukey (α=0.05). El análisis sensorial se determinó por el análisis de correspondencias múltiples. Todas fueron analizadas con ayuda del programa JMP versión 12.2.0.

Resultados

Se determinó la composición química del frijol sin tratamiento, la cual se muestra en el Cuadro 1, los datos concuerdan con lo reportado por USDA (2011) quienes reportaron un contenido de proteína del 25.4%, lípidos 1.7%, carbohidratos 69.11%, cenizas 3.78%, humedad 12.1%, hierro 6.24mg, fibra dietaria total 17.4%. A los cotiledones sin testa del frijol se determinó humedad antes del proceso de extrusión donde se identificó una cantidad de 52.09 %, posterior se sometieron al extrusor teniendo un rendimiento del 60 ±5%, ya que alrededor de un 42.85 ± 1.65% del peso total se pierde durante el proceso. Se observa que existen diferencias significativas en la harina sin tratamiento contra las harinas que se obtuvo después del proceso de extrusión seco (120-150 °C) en la cantidad de humedad y proteína, esto se debe a que esta tecnología modifica el tamaño, la textura, la forma y el color de los alimentos (Muthukumarappan y Swam, 2018).

Cuadro 1. Composición química en las harinas del frijol común (Phaseolus vulgaris L.) variedad Bayo Madero

Composición	HST	HAP	HB
Proteína	24.22 ± 0.5^{A}	28.42 ± 0.2^{B}	28.59 ± 0.3^{B}
Lípidos	1.66 ± 0.4^{A}	2.12 ± 0.1^{A}	2.44 ± 0.06^{A}
Humedad	8.12 ± 0.1^{A}	6.83 ± 0.1^{B}	6.69 ± 0.1^{B}
Cenizas	4.56 ± 0.1^{A}	4.62 ± 0.2^{A}	4.78 ± 0.1^{A}
Carbohidratos [1]	61.44 ± 0.4^{A}	58.01 ± 0.1^{A}	57.50 ± 0.4^{A}
Hierro [2]			
Ferroso (Fe^{+2})	22.79 ± 0.5^{A}	22.82 ± 0.5^{A}	22.84 ± 0.4^{A}
Férrico (Fe^{+3})	7.09 ± 0.1^{B}	7.38 ± 0.3^{AB}	7.50 ± 0.05^{A}

Los datos se expresan como la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes, las letras mayúsculas indican diferencia estadística entre reglones por la prueba de Tukey (α=0.05); HST: harina sin extrusión, HAP: harina extudida para aislado proteico, HB: Harina extrudida para bebida; las muestras fueron molidas y tamizadas a tamaño de 0.250 mm. La composición química está expresada en porcentaje (%). La proteína ajustada (N x 5.85).

1 Carbohidratos por diferencia

2 Hierro en partes por millón (ppm)

Con la finalidad de saber si la morfología del almidón cambia por los tratamientos de extrusión se realizó una microscopía electrónica de barrido. (Figura 1). En la Figura A muestra una morfología estructural de los gránulos de almidón redonda, elíptica de forma regular, ovalada, con superficie lisa y con nulo espacio de aire, mientras que las Figuras B y C se asemejan a una masa amorfa de estructura cohesiva, con pérdida de apariencia granular, se observan espacios amplios de aire, la intensidad de estas es proporcional al aumento de temperatura. El cambio en apariencia de granular a amorfo se debe a la consecuencia de la gelatinización temperatura donde los gránulos de almidón acoplados forman estructura tipo esponja que conduce a la doble hélice en la región interior del almidón retrogradado. Este cambio en la estructura amorfa conduce a la inhibición en la actividad de la alfa amilasa en el almidón retrogradado.

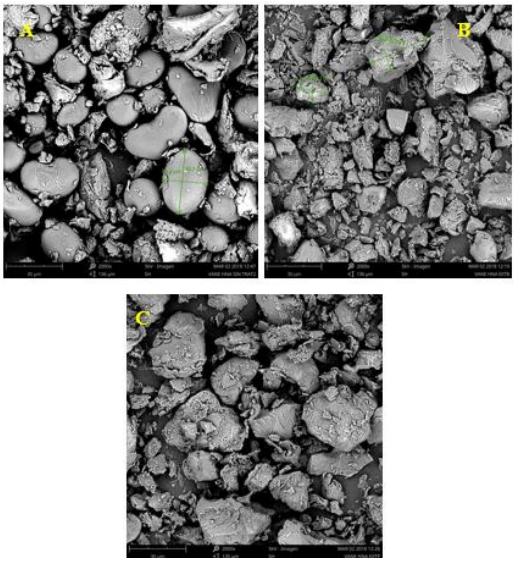


Figura 1. Microfotografía electrónica de barrido de las Harina de frijol común variedad Bayo Madero a 2000x, A) Harina sin tratamiento B) Harina extrudida para aislar la proteína; C) Harina extrudida para elaborar la bebida.

Los resultados de la digestibilidad *in vitro* de la proteína control (caseína) fue de 96.36 % no teniendo significancia estadística con las proteínas obtenidas del frijol extruido (HAP) con un 89.95 %; el contenido aumentó 1.07 veces en comparación al contenido del aislado proteico proveniente del frijol sin extrudir (83.48 %), esto a pesar de que no fueron estadísticamente significativas (α=0.05); el aumento

de la digestibilidad se debe a que el proceso de extrusión provoca la desnaturalización de la proteína y la disminución de los compuestos denominados antinutricios de las leguminosas (Cuadro 2) que forman complejos con la proteína, lo que al ser disminuidos y en conjunto con el cambio de estructura proteica aumenta la solubilidad en medio acuoso, y por lo tanto se refleja en el aumento del 7.75% en la proteína aislada con la HAP.

En el índice de absorción de agua (IAA) no se encontró significancia estadística (α=0.05), sin embargo, el contenido mayor corresponde a la proteína de HAP; el índice de absorción de agua indica una manifestación termodinámica en equilibro entre enlaces proteína-medio acuoso lo que sugiere una buena solubilidad y por tanto buen ingrediente para elaboración de bebidas y geles, entre otros alimentos. Mientras que los sólidos solubles mostraron datos bajos lo que se relaciona con el índice de absorción de agua, es decir a mayor IAA menor cantidad de sólidos solubles (Cuadro 2). La capacidad del índice de absorción de aceite (IAF) para los aislados proteicos de frijol fue de 0.6 mL por gramo del aislado proteico, la diferencia no fue significativa entre los aislados proteicos de ambas las harinas.

Cuadro 2. Características de la proteína aislada de harina de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.).

Composición	Proteína aislada	
	HST	HAP*
Proteínas totales expresado en:		
mg/mg	1.36 ± 0.04^{A}	2.18 ± 0.06^{B}
µg equivalentes a ASB**	141.9 ± 0.4^{A}	242.5 ± 0.9^{B}
Pureza[1]	81.8 ± 1.3^{A}	92.84 ± 0.8^{B}
Digestibilidad *in vitro*[1]	83.48 ± 2.0^{Ab}	89.95 ± 0.9^{Aa}
Índice de absorción de agua[2]	3.37 ± 0.01^{A}	3.39 ± 0.01^{A}
Índice de absorción de aceite[3]	0.6 ± 0.007^{A}	0.61 ± 0.002^{A}
Sólidos solubles[1]	80.4 ± 0.02^{A}	85.37 ± 1.01^{B}

Los datos se expresan como la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes por la prueba de Tukey (α=0.05). HST: harina sin tratamiento, HAP: harina extrudida para aislado proteico. Las letras mayúsculas representan diferencias estadísticas entre filas, las letras minúsculas representan diferencias significativas con el control caseína (96.36 ± 0.63 %) por la prueba de Dunnett (α=0.05). * 120 °C a 10 rpm. ** ASB: albúmina de suero bovino.

[1] Expresado en porcentaje (%)

[2] Expresado en mL por gramo de aislado proteico

[3] Expresado en mL de aceite atrapado por gramos de aislado proteico

Los geles de electroforesis (Figura 2), muestran el aislado proteico proveniente de HAP, las bandas marcadas con A sin presencia de β-mercaptoetanol, mientras las bandas marcadas como B con β-mercaptoetanol, a condiciones desnaturalizantes. De acuerdo a estudios anteriores la proteína de reserva de frijol (faseolina) es la más importante por abundancia con un peso molecular de entre 40 y 60.4 KDa, sin embargo, esta proteína tiene tres unidades donde α y β-Faseolina con pesos moleculares de entre 50-57 KDa. Mientras que otras proteínas como las lectinas se localizan con un peso de 26 a 31 KDa en monómeros y puede presentarse en forma tetramérica de 126 KDa, y finalmente los inhibidores de tripsina en 15 KDa (Deshpande *et al.*, 2018). Lo que sugiere que el proceso de extrusión provoca la desnaturalización proteica, sin diferencia en cuanto a las condiciones desnaturalizantes del β-mercaptoetanol, siendo la faseolina la banda más marcada, con un peso molecuar de 55 KDa.

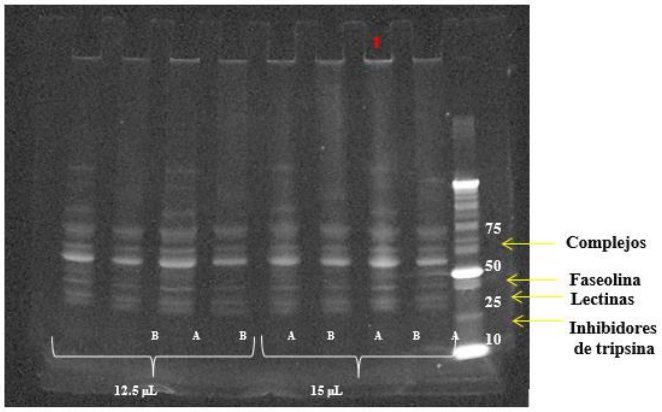


Figura 2. Electroforesis del aislado proteico de harinas de frijol extruido a diferentes concentraciones de carga siendo A) sin β-mercaptoetanol y B) en presencia de β-mercaptoetanol, ambos en condiciones desnaturalizantes. La fila 1 corresponde al marcador molecular.

El Cuadro 3 se presenta el contenido de compuestos anti-nutricios, los valores de cada uno se redujeron a

lo requerido por la normatividad después de la extrusión, a excepción del ácido fítico. El contenido de inhibidores de tripsina en harina sin tratamiento fue de un 25.82 ± 0.94 UIT/mg reduciendo en promedio de 59.48% en comparación con las harinas extruidas cumpliendo con los valores máximos permitidos por la normativa mexicana (NOM-184-SSA1-2002. El ácido fítico, el proceso de extrusión redujo un 21.57% sin diferencia estadística; lo que permitió tener valores dentro de lo permitido por la FAO (2013) para legumbres. Los taninos condensados aún no se han definido los valores máximos permitidos, sin embargo, se redujo significativamente en un 51.2%. En cuanto a carbonatos totales se tuvo una disminución de 58.82% permitiendo así entrar dentro de los valores máximos permitidos (<20 mg de $CaCO_3$ en 100 g) por la norma mexicana NOM-184-SSA1-2002.

Cuadro 3. Compuestos anti-nutricios en harinas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Bayo Madero.

Composición	HST	HB*
Inhibidores de tripsina [1]	25.82 ± 0.94^{A}	10.46 ± 0.46^{B}
Ácido fítico [2]	0.364 ± 0.03^{A}	0.286 ± 0.02^{A}
Taninos condensados [3]	1.01 ± 0.002^{A}	0.488 ± 0.003^{B}
Carbonatos totales [4]	42.5 ± 0.07^{A}	17.5 ± 0.03^{B}

Los datos se expresan como la media ± la desviación estándar de tres experimentos realizados en días independientes, HST: Harina de frijol sin extrusión, HB: harina de frijol extrudida para bebida, las letras mayúsculas significan que son estadísticamente diferentes entre renglones por la prueba de Tukey (α=0.05). * 140°C a 12 rpm.
[1] Se expresa en unidades inhibidores de tripsina por miligramos (UIT/mg)
[2] Se expresa en porcentaje (%),
[3] Se expresa en miligramos equivalentes a (+) – catequina por 100 mg
[4] Se expresa en miligramos de carbonatos por 100 mg

El Cuadro 4 muestra la composición nutritiva de las formulaciones más representativas. El contenido de proteína se aumentó 248 %, comparado con la formulación de Chico (2015), teniendo un comportamiento no dependiente del saborizante ni la concentración de hierro. De acuerdo a la literatura, la concentración de proteína en bebidas sucedáneas a la leche de vaca, varía de acuerdo a la materia que se utilice, siendo la de soya la que contiene mayor porcentaje de 3.2 %, seguida de la almendras con 2.58%, coco con 2.29% y avena con 2.4% (Marquezi *et al.,* 2017), estos parámetros indican que la bebida de frijol se encuentra dentro de lo esperado en la composición nutritiva, para bebidas sucedáneas de leche en cuanto a los demás macronutrientes se encuentran en los siguientes intervalos: carbohidratos 0.72 a 9.17%, lípidos 0.97 a 23.84%, humedad 67.62 a 95.4% y cenizas de 0.3 a 0.74%.

Cuadro 4. Composición química de bebidas a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Bayo Madero.

Bebida	Proteína	Lípidos	Humedad	Cenizas	Carbohidratos [1]	Hierro [2] Férrico (Fe^{+3})
Natural	3.4 ± 0.03	0.8 ± 0.03	93 ± 1.05	0.4 ± 0.01^{BC}	2.11± 0.90^{BC}	3.44 ± 0.03^{C}
Nuez	3.3 ± 0.07	0.9 ± 0.02	93 ± 1.07	0.4 ± 0.00^{BC}	2.35 ± 0.5^{C}	3.50 ± 0.02^{C}
Vainilla	3.4 ± 0.04	0.9 ± 0.03	92 ± 1.04	0.3 ± 0.02^{C}	2.43 ± 0.61^{C}	3.34 ± 0.04^{C}
Nuez (3mg)*	3.4 ± 0.01	0.9 ± 0.03	93 ± 1.24	0.5 ± 0.06^{A}	1.73 ± 0.83^{A}	6.42 ± 0.20^{A}
Nuez (2mg)*	3.4 ± 0.01	0.8 ± 0.04	93 ± 1.11	0.4 ± 0.04^{AB}	1.79 ± 0.55^{A}	5.78 ± 0.02^{B}
Vainilla (3mg)*	3.3 ± 0.05	0.8 ± 0.03	93 ± 1.39	0.5 ± 0.05^{A}	2.05 ± 0.45^{B}	6.38 ± 0.06^{AB}
Vainilla (2mg)*	3.4 ± 0.02	0.8 ± 0.01	93 ± 1.60	0.4 ± 0.03^{AB}	2.04 ± 0.29^{B}	5.70 ± 0.17^{B}

Los datos se expresan como la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes por la prueba de Tukey (α=0.05), las letras mayusculas muestran diferencias significativas entre renglones. La composición química está expresada en porcentaje (%) en base a 100 mL. * De sulfato ferroso [1] Carbohidratos se determinan por diferencia. [2] Expresados en partes por millón (ppm).[3] Basado en la cantidad de calcio agregado en la formulación de las bebidas expresados en partes por millón (ppm).

Los parámetros fisicoquímicos de las diferentes formulaciones de la bebida de frijol se muestran en el Cuadro 5. Dentro de los valores obtenidos para pH tienen rangos entre 5.33 a 5.83, no teniendo diferencia significativa con el contenido de proteína y de hierro, El contenido del ácido málico se comparó con una la bebida comercial de soya, y estando correlacionado con el pH (básico de la bebida de soya), fue inferior en comparación a las bebidas de frijol, esto se debe a la naturaleza del grano utilizado, lo que sugiere una mejor resistencia en la digestión principalmente en la parte del estómago, lo que pudiese ayudar a que los péptidos generados y el hierro lleguen de forma casi intacta al intestino delgado donde son absorbidos. En lo referente a la viscosidad el comportamiento fue el

esperado, al aumentar la temperatura de 4 a 18, 21 y 25 °C disminuye la viscosidad, sin embargo, dentro de los resultados se pudo observar mayor viscosidad de la bebida de frijol en comparación con la bebida comercial de soya, esto indica mayor presencia de sólidos en las formulaciones de frijol común. La densidad en cuanto a los hidrófobos se homogeniza durante el procesamiento de elaboración por medio de una homogenización provocando una emulsión en la bebida.

Cuadro 5. Características fisicoquímicas de las bebidas a base de frijol común (Phaseolus vulgaris L.).

Parámetros	Bebida de frijol		
	Natural	Vainilla	Nuez
pH (25 °C)	5.61 ± 0.03^{B}	5.65 ± 0.09^{B}	5.83 ± 0.05^{A}
° Brix (20 °C)	2.9 ± 0.07^{B}	3.4 ± 0.09^{A}	2.8 ± 0.08^{B}
Viscosidad, 4 °C (cP) [1]	82.94 ± 0.98^{Aa}	88.32 ± 0.04^{Aa}	90.08 ± 0.87^{Ba}
Viscosidad, 18 °C (cP) [1]	77.32 ± 0.70^{Aa}	77.32 ± 2.06^{Aa}	89.03 ± 0.60^{Ba}
Viscosidad, 21 °C (cP) [1]	55.63 ± 1.85^{Aa}	59.10 ± 1.55^{Ab}	70.25 ± 1.83^{Bb}
Viscosidad, 25 °C (cP)*	50.28 ± 0.43^{Ab}	49.15 ± 0.15^{Ac}	61.82 ± 2.87^{Bc}
Acidez titulable (%) [2]	0.0027 ± 0.001^{A}	0.0034 ± 0.001^{A}	0.0022 ± 0.001^{A}
Taza de asentamiento (%) [3]	1.95 ± 0.02^{B}	1.55 ± 0.03^{AB}	1.35 ± 0.07^{A}
Taza de asentamiento de solidos totales (%) [3]	59.05 ± 1.00^{A}	53.33 ± 0.98^{A}	52.38 ± 1.02^{A}
Densidad (Grados Baumé; 20 °C)	1.99 ± 0.04^{A}	2.33 ± 0.02^{A}	2.42 ±0.04^{A}

Los resultados se expresan como la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes por la prueba de Tukey (α=0.05). Las letras mayúsculas representan diferencias estadísticas entre renglones, y las minúsculas representan diferencias estadísticas entre filas.

[1] La viscosidad en condiciones del tornillo al 50% y RPM 3 a 6.25.

[2] La acidez titulable referente a mili equivalentes de ácido málico.

[3] Respecto al volumen inicial después de 10 días a temperatura ambiente.

Se realizó una prueba de nivel de agrado mediante una escala de 7 puntos donde el: valor de 7: me gusta mucho, 6: me gusta moderadamente, 5: me gusta poco, 4: me es indiferente, 3: me disgusta poco, 2: me disgusta moderadamente, 1: me disgusta mucho, se analizó con Chi cuadrada con un α:0.01, los resultados se muestran en la figura 2. Se observa que todas las formulaciones se posicionaron con un 60 al 75% en "me es indiferente a me gusta mucho", siendo relevante para un producto nuevo y panelistas no entrenados que son posibles consumidores. La formulación con una concentración alta del saborizante vainilla tuvo el mayor nivel de agrado por los panelistas, siendo estadísticamente diferentes, la formulación sabor nuez y vainilla concentración baja fueron estadísticamente iguales, mientras que la formulación sin saborizante se posicionó con el nivel de agrado más bajo.

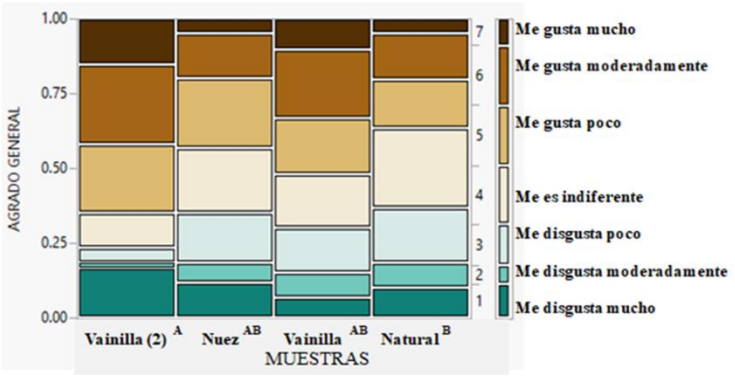


Figura 2. Gráfico de agrado general de las diferentes formulaciones de la bebida de frijol extruido. Las letras mayúsculas muestran diferencias significativas entre cada muestra.

Conclusiones

El proceso de extrusión usado en el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Bayo Madero, logró disminuir de manera favorable los compuestos antinutricios, principalmente los inhibidores de tripsina (59.49 %), taninos condensados (51.68 %), ácido fitico (21.48 %) y carbonatos totales (58.82 %), posicionando su contenido a niveles deseados y permitidos por la normativa.

El aislado proteico obtenido del frijol extruido mostró tener mejores características fisicoquímicas: mayor rendimiento, solubilidad, índice de absorción de aceite y agua; así como mayor contenido de proteínas desnaturalizadas en comparación del aislado proteico

sin tratamiento. Obteniendo un producto adecuado para el enriquecimiento de alimentos principalmente bebidas, o alimentos líquidos.

La modificación propuesta en la formulación de la bebida de frijol, incluyendo el enriquecimiento con aislado proteico de frijol extruido y sulfato ferroso como hierro, permitió ofrecer una alternativa de bebida sucedáneas de leche ya existentes en el mercado como la bebida de soya, almendras o arroz. La aceptabilidad de la bebida se posicionó como "me gusta moderadamente" sin adición de hierro esto destaca una aceptación significativa para el rango de edades de 13 a 49 años de sexo indistintos, que podrían ser posibles consumidores.

El nuevo producto puede entrar al mercado, y aunque va dirigido al público en general podría tener mayor aceptación en aquellas con estilos de vida específicos como el veganismo, vegetarianismo y/o problemas de salud como anemia o deficiencia de hierro.

Bibliografía

Andreu Ivorra M. J. (2016). Nutrición y salud en la dieta vegana, Universidad Oberta de Caraluya, edit. caraluya, España, ed. 1.

De León J. A. R., Marín, R. M. U., Aldana, M. L., Loarca, M. G. F (2013).Avances de ciencia y tecnología alimentaria en México, Cap. 3 pp: 161:175 "Beneficios del frijol común (*Phaseolus vulgaris L*.) contra cáncer de colon. ISBN: 978-607-402-576-7

Deshpande, M., Sathe K. (2018). Interactions with 8-Anilinonaphthalene-1- Sulfoniac Acid (ANS) and Surface Hydrophobicity of Black Gram (*Vigna mungo*) Phaseolin, 1–9. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14204

González, J. J. F., Maldonado, S. H. G., y Hernández, M. G. H. (2015). Nutritional and nutraceutical attribute of loaf and bars made of bean (*Phaseolus vulgaris L*.) FLOUR. Biotecnia, 17(3), 9-14.

Marquezi, M., Gervin, V. M., Watanabe, L. B., Moresco, R., Amante, E. R. (2017). Chemical and functional properties of different common Brazilian bean (Phaseolus vulgaris L.) cultivars. Brazilian Journal of Food Technology, 20, 1–9. https://doi.org/10.1590/1981-6723.0616

Moreno, P., Berrios, J., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Muzquiz, M. & Pedrosa, M.M. (2016)."Novel fiber-rich lentil flours as snack-type functional foods: an extrusion cooking effect on bioactive compounds". Journal of Functional Foods, 6: 3135-3143.

Muthukumarappan, K., Swamy, G. J. (2018). Food Microstructure and Its Relationship with Quality and Stability of extruded products. Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100764-8.00009-5

Nardi, J., Moras, P. B., Koeppe, C., Dallegrave, E., Leal, M. B., y Rossato-Grando, L. G. (2017). Prepubertal subchronic exposure to soy milk and glyphosate leads to endocrine disruption. Food and Chemical Toxicology, 100, 247–252. https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.030

Suárez-Martínez, S. E., Ferriz-martínez, R. A., Campos-vega, R., Elton-puente, J. E., De, K., Carbot, T. (2016). Bean seeds : leading nutraceutical source for human health Semillas del frijol : fuente líder de nutracéuticos para la salud humana, F. De Química, 14(1), 131–137.

Zarei, M., y Kafilzadeh, F. (2013). Effects of using radiation processing in nutrition science and their restriction: A review. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research.Volume 1, Issue 3, Pages 222-231.

Diseño de un nuevo agente antimicrobiano: nanopartículas verdes con extracto de *Argemone mexicana*

Téllez de Jesús D[*1,] Hernández Martínez AR[*2,] Cervantes-Chávez JA[*1]

1 Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Unidad de Microbiología Básica y Aplicada, Santiago de Querétaro, Qro, México

2 Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, Qro, México.

Resumen

La resistencia microbiana ha ido en aumento debido al uso indiscriminado de agentes antimicrobianos y como consecuencia de ello los microorganismos han desarrollado mecanismos para evadir el efecto que estos causan, ya sean antibióticos o fungicidas. Es por ello que es necesaria la búsqueda de nuevas tecnologías que permitan el control adecuado de los microorganismos patógenos. La biosíntesis o síntesis verde de nanopartículas además de sus efectos microbicidas es un método que por la facilidad de obtención representa una alternativa ya que hace uso de recursos y materiales que no requieren un costo elevado, como aquellas plantas que no son de interés comercial, además de que evita el uso de reactivos tóxicos. Por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto antimicrobiano de nanopartículas sintetizadas con extracto de *Argemone mexicana,* una planta que es considerada una maleza. Para ello, se determinó la actividad antimicrobiana de las nanopartículas obtenidas, mediante ensayos de difusión en disco, en diferentes microorganismos como: bacterias sensibles y multirresistentes a antibióticos, en hongos fitopatógenos y en *C. albicans*, levadura patógena de humanos. Los resultados indican que las nanopartículas obtenidas con el extracto de *A. mexicana,* así como el extracto mismo, tienen un amplio espectro de inhibición en el crecimiento de los microorganismos aquí utilizados, por lo que podrían ser una nueva alternativa para el control de patógenos, no solamente de humanos también de plantas.

Palabras clave: *A. mexicana*, nanopartículas, síntesis verde

Abstract

Microbial resistance has been increasing due to the indiscriminate use of antimicrobial agents and as a consequence, microorganisms have developed mechanisms to avoid the effect of these agents such as antibiotics or fungicides. Then, the development of new technologies to control pathogenic microorganisms is necessary. The biosynthesis of nanoparticles in addition to their microbicidal effect, is an alternative because it uses cheap materials, such as plants that are not economicaly important. The objective of this work was to determine the antimicrobial effect of nanoparticles synthesized with *Argemone mexicana* extract, a plant that is considered a weed. For this, the microbial activity of de green synthesis of nanoparticles was determined by diffusion assay in different microorganisms such as: antibiotic sensitive and multi-resistant bacteria, in phytopathogenic fungi and in *C. albicans,* a human yeast pathogen. Our results indicate that the nanoparticles with the extract of *Argemone mexicana,* as well as the extract itself, have a broad spectrum of inhibition of the microorganisms tested, then this could be a new alternative for the

control of pathogens, not only for humans but also for plants.

Keywords: *A. mexicana*, nanoparticles, green synthesis

Introducción

La síntesis verde hace referencia al uso de compuestos biológicos en la formación de materiales como las nanopartículas (Senthil, 2017). Este método resulta ser menos invasivo con el medio ambiente en comparación de los métodos de síntesis de nanopartículas tradicionales los cuales utilizan solventes u otros agentes químicos que en su mayoría además de ser costosos tienen un mayor impacto en el ambiente (Kumar, 2014; Siddiqui, 2018). Aunado a ello, el uso de plantas acoplado a la obtención de nanopartículas representa un método económico y es un recurso casi ilimitado para la biosíntesis (Elia, 2014; Senthil, 2017).

Argemone mexicana L. es una planta considerada maleza, se distribuye en la mayoría del territorio nacional, tiene un alto contenido de alcaloides como la sanguinarina, protopina y barberina, estos compuestos predominan principalmente en las hojas (Hussein, 2017) También en algunas regiones es considerada una planta medicinal, debido a que se utiliza para el tratamiento de infecciones en la piel o gastrointestinales (Brahmachari, 2013).

Actualmente muchos patógenos de plantas e incluso de humanos, presentan resistencia a los antimicrobianos utilizados tradicionalmente, ya sean pesticidas, fungicidas, bactericidas o cualquier otro producto químico utilizado para el control de las enfermedades debido a su manejo irresponsable e indiscriminado por varias décadas (Price, 2015). Por lo que se ha vuelto una necesidad encontrar alternativas que permitan controlar la población o al microorganismo en sí. Debido a esto el uso de extractos de plantas ha cobrado gran interés, aunado a ello es importante considerar la abundancia y fácil acceso de los materiales a investigar. Es así como *A. mexicana* se ofrece como una excelente alternativa, debido a que es considerada una maleza, aunado a la variedad de moléculas que ésta sintetiza, resulta interesante acoplar los metabolitos producidos por esta planta en la síntesis de nanopartículas metálicas, lo cual podría resultar en un efecto sinérgico contra microorganismos patógenos de plantas y humanos, favoreciendo así a encontrar nuevas alternativas para el control de patógenos.

Metodología

Muestreo y obtención del extracto

La planta *A. mexicana* se colectó en el estado de Querétaro, en el municipio de Querétaro, en las coordenadas: 20.6481033, -100.3321360. La colecta se realizó siguiendo la descripción de (Hussein, 2017). La muestra fue trasladada al laboratorio de biomateriales aplicados del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM, Campus Juriquilla, Querétaro.

Las hojas de *A. mexicana* se lavaron con etanol al 70% y se secaron a temperatura ambiente. Fueron trituradas con un molino de alimentos, marca Krups®, hasta la obtención de polvo fino. Se pesaron 5 gramos del polvo y se colocaron en un sobre de papel filtro, de 2µm de poro, para la extracción vía Soxhlet. Para ello se utilizaron 150 mL de isopropanol grado reactivo. 24 horas después, el extracto se colocó en un Rotavapor BUCHI® R-100, a 105mV y a 40°C, para eliminar el solvente. Se obtuvo un volumen final de 50 mL y se almacenó en refrigeración hasta realizar la síntesis verde.

Síntesis verde de nanopartículas de plata y oro

Esta síntesis se realizó en una relación de volumen, 1:1, (sal: extracto), con un volumen final de 6 mL. Para ello, el extracto de *A. mexicana* fue diluido a

100ppm en un volumen de 10ml. Posteriormente se colocaron 3 mL de la solución de nitrato de plata ($AgNO_3$ 1mM) o de Cloruro de oro ($AuCl_3$ 1mM) en un matraz Erlenmeyer, y en una bureta se colocaron 3mL del extracto de *A. mexicana* a 100ppm, por goteo intermitente se agregó el extracto sobre la solución de $AgNO_3$ o $AuCl_3$, la reacción se mantuvo 30 minutos en agitación constante. Todas las síntesis se realizaron a temperaturas de 25°C y 80°C. La formación de nanopartículas se monitoreo mediante espectrofotometría UV-Vis.

Síntesis química de nanopartículas de plata y oro

Para la síntesis química de nanopartículas de oro se siguió el protocolo Turkevich modificado, se colocaron 20mL de $AuCl_3$ 1mM; la solución se mantuvo en agitación y se calentó en aceite a 110°C. Se añadieron 5mL de citrato de sodio ($Na_3C_6H_5O_7$ 1mM). La reacción se mantuvo en agitación y una vez que se observó el cambio de color (indicador de la formación de nanopartículas), se retiró del aceite y la solución se guardó en un frasco ámbar para su uso posterior.

La síntesis química de nanopartículas de plata se realizó siguiendo la metodología estandarizada en el laboratorio de Biomateriales Aplicados del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM, Campus Juriquilla, Querétaro. Se añadieron 50mL de $Na_3C_6H_5O_7$ (7mM) a un matraz y se calentó a 90°C, en agitación constante. Posteriormente con una pipeta se tomó 1mL de la solución de $Na_3C_6H_5O_7$; una vez que la solución alcanzó los 90°C se añadió 1mL de $AgNO_3$ (1mM), la reacción se mantuvo en agitación y al observarse un cambio de color, se dio por finalizada la reacción.

Actividad antibacteriana de nanopartículas.

Para determinar la actividad antibacteriana de las nanopartículas de oro y plata se utilizó la técnica Kirby Bauer, para ello se utilizó el medio de cultivo Mueller Hinton (MCD LAB®). Las bacterias utilizadas fueron: *Klebsiella pneumoniae* BLEE (+), *Escherichia coli* ETP (R), *E. coli* BLEE (+) y *Pseudomonas aeruginosa* IMP/MEM (R). Estas cepas son aislados clínicos del hospital de la Luz, Morelia, Michoacán, y donadas por el QFB Andrés Martínez Ramírez. Las bacterias se crecieron en agar nutritivo durante 24h y posteriormente se inoculó caldo nutritivo con cada una de las bacterias y se incubó de 18 a 24h a 37°C. Posteriormente se ajustó a 1.00 la DO_{600} en el espectrofotómetro (Genesys 10S UV-Vis®). Posteriormente se colocaron en cada placa 60µL, de cada solución de nanopartículas, tanto la síntesis química como la síntesis verde a 25°C y 80°C, así como de extracto de *A. mexicana*. Como control positivo se utilizaron los siguientes antibióticos: Ampicilina (10µg) y Kanamicina(10µg). Las placas se incubaron a 37°C, 24h y posteriormente se midió el diámetro del halo de inhibición con un calibrador vernier, los ensayos se realizaron por triplicado y se realizó una prueba de Anova de dos vías.

Actividad antimicrobiana de nanopartículas en la levadura *Candida albicans*

Para esta levadura se utilizó medio de cultivo YPD. Se realizó la misma metodología de difusión en disco. Del cultivo puro de *C. albicans* se tomaron de 4 a 5 colonias y se colocaron en un tubo falcón con 5mL de medio YPD y se incubaron 18h a 28°C a 150 rpm de agitación. Posteriormente se midió la DO_{600} en un espectrofotómetro (Genesys 10S UV-Vis®) y se ajustó a 1.00 la DO, se colocaron 200µL y con ayuda de un hisopo se extendió por toda la placa, inmediatamente se colocaron los discos, de papel filtro y sobre cada uno de ellos se colocaron 60µL de cada solución de nanopartículas y de igual manera se determinó el efecto del extracto de *A.*

mexicana. Como control positivo se utilizó Higromicina B (50 µg) Las placas se incubaron a 28°C, después de 24 h se midió el halo de inhibición con ayuda de un vernier. El ensayo se realizó por triplicado y se realizó una prueba de ANOVA de dos vías.

Actividad antifúngica de las nanopartículas

Para los ensayos *in vitro* se utilizó el medio papa dextrosa agar (PDA). Las cepas de hongos utilizadas fueron: *A. alternata, F. oxysporum, S. rolfsii, R. solani* y *C. gloesporioides*. Para determinar la actividad antifúngica de las nanopartículas, primero se inoculó el hongo sobre una caja de Petri con medio PDA y al mismo tiempo se colocaron los discos de papel filtro con 100µL de cada solución de la biosíntesis de nanopartículas y con el extracto de *A. mexicana*, como control positivo se utilizó el fungicida comercial, Benomilo 50 (100µg) Las cajas se incubaron a temperatura ambiente durante 2 y 7 días.

Resultados

Síntesis verde de nanopartículas de plata y oro

A partir del extracto isopropanólico de *A. mexicana* se realizó la biosíntesis de nanopartículas de plata y oro, para ello se mezcló la solución de nitrato de plata y cloruro de oro con extracto de *A. mexicana* a una concentración de 100 ppm, dicha concentración fue el estándar que se tomó para realizar todos los experimentos, y se monitoreo la formación de nanopartículas mediante espectroscopia UV-Vis como se muestra a continuación (figuras 1 y 2).

Síntesis verde de nanopartículas de plata

La biosíntesis de nanopartículas puede ser medida de manera cualitativa por cambio de color, de manera que en la biosíntesis de nanopartículas de plata el cambio de color fue de verde traslucido a color marrón. Sin embargo, con la finalidad de hacer el análisis cuantitativo se monitoreo por espectroscopía UV-Vis la intensidad del plasmón superficial de las nanopartículas de plata, el cual mostró una banda de absorción cerca de los 420nm; lo cual indicó la formación de éstas.

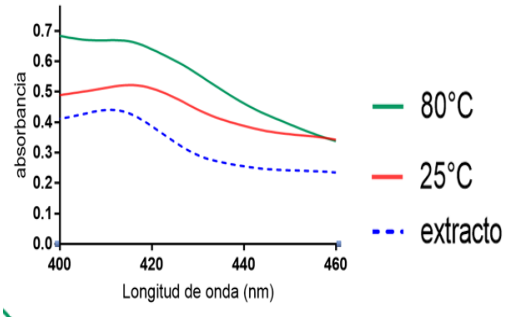


Figura 1. Espectro UV-Vis de la síntesis verde de nanopartículas de plata. Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *A. mexicana* a temperatura de 25°C (rojo), 80°C(verde). Se muestra el extracto *A. mexicana* a 100 ppm (línea punteada).

Los resultados sugieren que las nanopartículas sintetizadas presentan tamaños de partícula menores a los 50 nm, ya que por lo general el rango en que normalmente se encuentran las nanopartículas de plata sintetizadas por esta vía es entre 430 y 450 nm, con tamaños que van de los 50 a 60nm (Alsammarraie, 2018). Además, es posible observar que la absorbancia aumenta conforme incrementa la temperatura, de acuerdo a lo reportado en la literatura, ya que a temperaturas mayores a 25°C la velocidad de reacción tiende a ser mayor, razón por la cual se observan estos cambios en la absorbancia de las muestras (Khalil, 2014).

Síntesis verde de nanopartículas de oro

De la misma manera se monitoreo la biosíntesis de nanopartículas de oro, así mismo se graficaron los valores de absorbancia del extracto de *A. mexicana*. Los valores de absorbancia de la biosíntesis se encuentran por arriba de lo obtenido para el extracto, lo cual indica la formación de nanopartículas, en el rango de absorbancia entre

520 y 560nm, figura 2, rango en el cual, se encuentra el plasmón de las nanopartículas de oro. A pesar de ello, de manera cualitativa el cambio de color, a rosa o violeta, y de manera cuantitativa el aumento de la absorbancia son indicadores de la formación de nanopartículas (Elia, 2014; Varun, 2015).

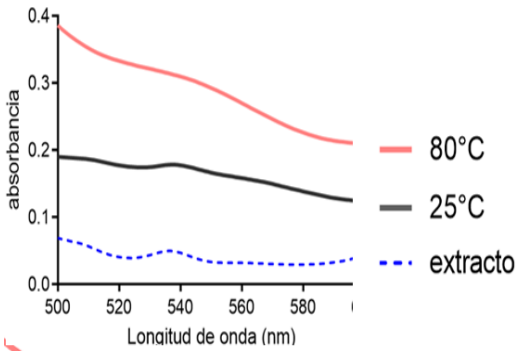


Figura 2. Espectro UV-Vis de la síntesis verde de nanopartículas de oro. Nanopartículas de oro sintetizadas con extracto de *A. mexicana* a temperatura de 25°C (negro), 80°C (rosa). S e muestra el extracto *A. mexicana* a 100 ppm (línea punteada).

Sin embargo, cabe mencionar que la temperatura si tiene un punto importante en la formación y síntesis de nanopartículas, ya que, según lo reportado en la literatura, a temperaturas mayores a 50°C se pueden formar nanopartículas de tamaño menor (Elia, 2014).

Actividad antibacteriana de nanopartículas de plata y oro en bacterias resistentes a antibióticos

El uso excesivo de fármacos para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias, ha provocado un aumento en la resistencia por parte de éstas a los antibióticos. Por lo que es necesario el uso de nuevas alternativas para el tratamiento de infecciones. Una de las opciones que actualmente existe y que se ha estado abordando, es el uso de la llamada síntesis verde o biosíntesis de nanopartículas, (Das, 2017).

Por lo anterior, se determinó el efecto de la biosíntesis de nanopartículas en bacterias resistentes a antibióticos con la finalidad de identificar si tienen potencial de una aplicación futura para el control de microorganismos resistentes a fármacos que hoy en día representan un problema de salud tales como: *K. pneumoniae* (BLEE) y *E. coli* (BLEE) que bacterias β-lactamasas de espectro extendido y por ende resistentes a los antibióticos β-lactámicos. O en aquellas bacterias resistentes meropenem e imipenem, los cuales son antibióticos de tercera generación para el tratamiento de infecciones ocasionadas por bacterias multirresistes como es el caso de *P. aeruginosa* IMP/MEP (R), o *E. coli* enteropatógena.

Los resultados indican que las nanopartículas con extracto de *A. mexicana* así como el extracto mismo son efectivos para la inhibición del crecimiento de bacterias resistentes a antibióticos, figura 3, y es un dato interesante debido a que cada una de ellas está asociada a infecciones que resultan ser difíciles de tratar dado que ya han presentado resistencia puesto que *K. pneumoniae* BLEE (+) y *E. coli* BLEE (+) son bacterias resistentes a los fármacos β-lactámicos, o *P. aeruginosa* IMP/MEP la cual también ya ha presentado resistencia a los antibióticos derivados de los cabapenémicos. Los antibióticos carbapenémicos tienen la capacidad de alterar la síntesis de la pared celular, debido a su elevada afinidad por las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), ya que al unirse a los residuos de serina de las PBP impiden el ensamblaje correcto del peptidoglicano. Sin embargo, estas bacterias constan de mecanismos de evasión constan de un arsenal de enzimas y transportadores encargados de evadir el efecto del antibiótico en sí y son las principales bacterias causantes de infecciones nosocomiales en hospitales lo cual representa un problema de salud grave ya que las infecciones se pueden adquirir dentro de los hospitales y dispersarse fuera de ellos (Blair, 2015).

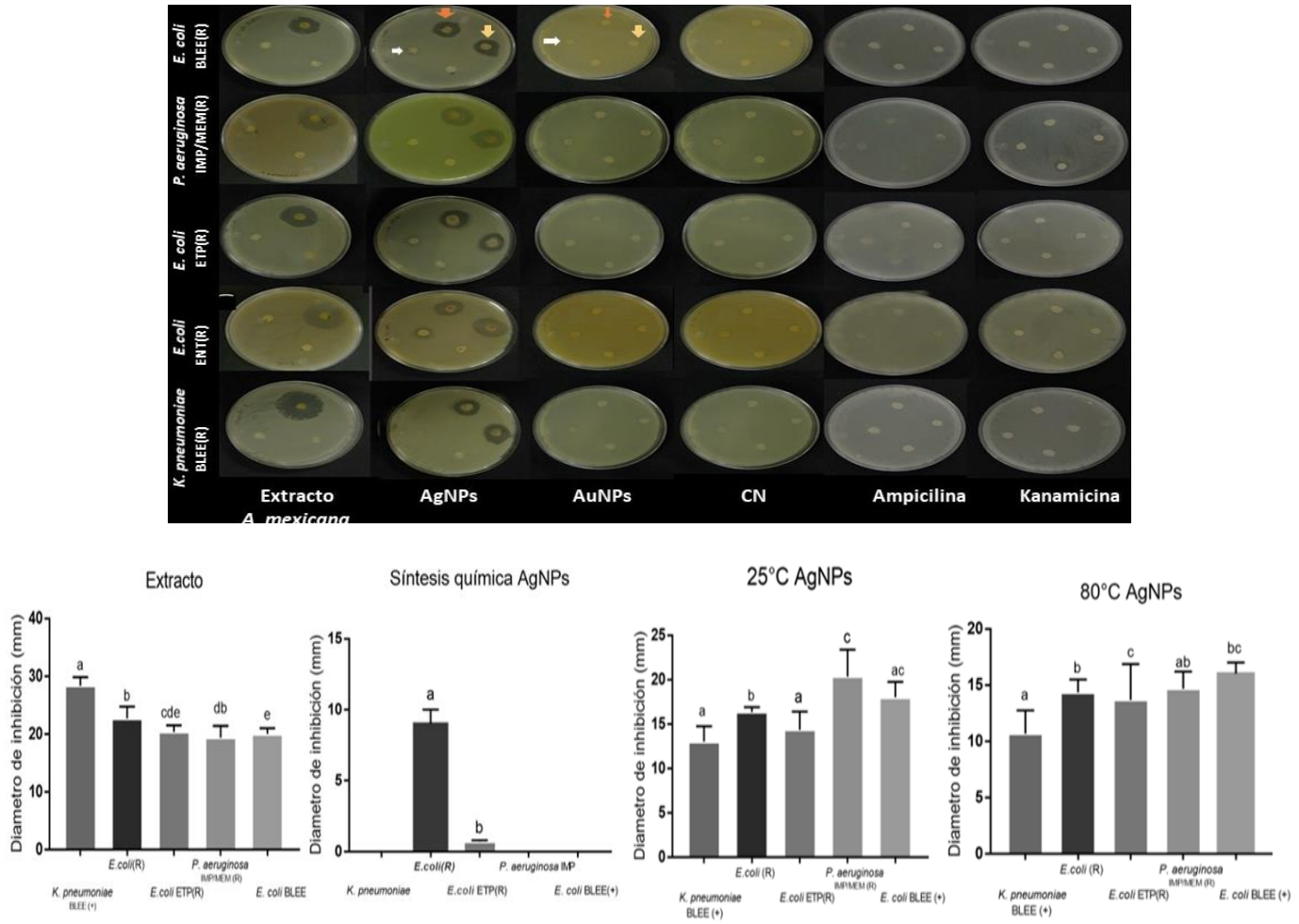


Figura 3. Actividad antibacteriana de nanopartículas de oro y plata en bacterias resistentes a antibióticos. Extracto de *A. mexicana* (60 µL), síntesis química nanopartículas de oro o plata (flecha blanca) y síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNPs) y oro (AuNPs) a 25°C y 80°C (60 µL), flecha naranja y amarilla respectivamente, como control negativo (CN) se utilizó agua y como control positivo se utilizó Ampicilina (10 µg) y Kanamicina (10 µg).

Nuestros resultados muestran diferencias en la eficiencia de los tratamientos debido a que se observa que el efecto antimicrobiano es mayor en la síntesis verde de nanopartículas de plata a 25°C en comparación con la síntesis verde a 80°C. Además, si se comparan estos resultados respecto a la eficiencia del extracto mismo resultan ser valores de inhibición distintos debido a que en el caso del tratamiento con extracto el valor de inhibición fue menor para *P. aeruginosa* IMP/MEM (R) con una media de inhibición de 19.3 mm, mientras que para *K. pneumoniae* BLEE(+) presenta valores de inhibición mayores con una media de 28.3 mm pero esto se puede atribuir a que el extracto se encuentra más concentrado a como se utilizó para realizar la biosíntesis de nanopartículas, con un extracto diluido a 100ppm, por lo cual no son las mismas concentraciones y en la síntesis verde se pierden componentes propios del mismo y el complejo nanopartícula-extracto puede estar funcionando de diferente manera dado que se observan diferencias en los tres tratamientos. Sin embargo, el extracto acoplado a las nanopartículas sí muestra un efecto en la inhibición. El extracto de *A. mexicana*,

obtenido con isopropanol resulta ser más efectivo para bacterias multirresistentes a antibióticos, o al menos en el caso de *P. aeruginosa* IMP/MEM (R) que presentó un valor de inhibición de 19.3 mm y esto es interesante debido a que el meropenem e imipenem son antibióticos derivados de los carbapenémicos, que resultan ser antibióticos de amplio espectro para el control de bacterias multirresistentes (Estepa, 2017). Sin duda, sería interesante probar el efecto que tiene el extracto obtenido con otros solventes, diferentes al isopropanol, en otras bacterias resistentes como las β-lactamasas de espectro extendido debido a que en nuestros resultados el extracto de *A. mexicana* obtenido con isopropanol resulta ser efectivo para éstas. Además, nuestros resultados muestran un espectro mayor de inhibición en los tratamientos aplicados, ya que se observó un efecto positivo en la inhibición del crecimiento en bacterias β-lactamasas de espectro extendido como *K. pneumoniae* BLEE (+) y *E. coli* BLEE (+), las cuales son las principales causantes de bacteremias y se caracterizan por tener un arsenal de enzimas encargadas de inhibir los mecanismos de acción de los antibióticos.

Actividad anfúngica de nanopartículas en Candida albicans

Para determinar el efecto antimicrobiano de las nanopartículas sintetizadas con extracto de *A. mexicana* en *C. albicans* se realizó el mismo ensayo de difusión en placa. Los resultados muestran que el tratamiento con el extracto de *A. mexicana* muestra un halo de inhibición de 20mm. No obstante, se puede observar un efecto positivo en el tratamiento con biosíntesis de nanopartículas de plata a 25°C y 80°C, cuya media del halo de inhibición fue de 14mm y 18mm respectivamente, presentando una diferencia significativa entre estos tres tratamientos, figura 4.

A pesar de que en la biosíntesis de nanopartículas de oro se utilizó el mismo extracto de *A. mexicana*, no se observó ningún efecto en la inhibición del crecimiento de la levadura. Sin embargo, el efecto nulo en *C. albicans* se puede atribuir a que se ha reportado que el oro en forma de nanopartícula no tiene la capacidad de inducir procesos que lleven a la producción de especies reactivas de oxígeno al menos de que sean de tamaño muy pequeño, del orden de 10 nm o menos, ya que la actividad antimicrobiana de nanopartículas de oro depende del tamaño y forma (Elia, 2014). Por lo que tal vez las nanopartículas de oro obtenidas en este trabajo no presenten el tamaño adecuado como para causar un efecto antimicrobiano.

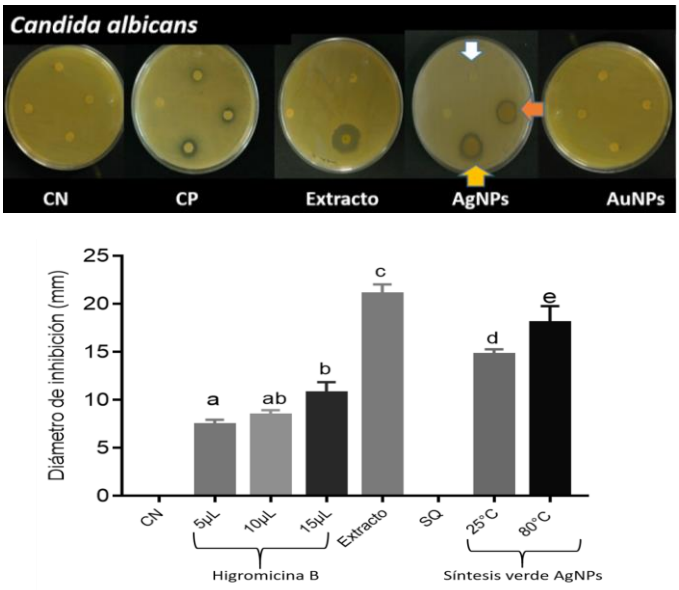


Figura 4. Actividad antifúngica de nanopartículas en la levadura *Candida albicans.* De izquierda a derecha: Control negativo (CN), control positivo (CP) Higromicina B (50µg), extracto de *A. mexicana* (60µL), síntesis química flecha blanca (SQ) y síntesis verde de nanopartículas (60µL) de plata 25°C (flecha naranja) y 80°C (flecha amarilla), síntesis química y verde de nanopartículas de oro 25°C y 80°C(60µL).

Como se ha mencionado, el extracto de *A. m*exicana es usado popularmente para el tratamiento de infecciones en la piel y gastrointestinales (Brahmachari, 2013). Sin embargo, no se había reportado su uso antimicrobiano en levaduras

patógenas como *C. albicans.* Cabe mencionar que ésta levadura actualmente es uno de los principales patógenos causantes de infecciones nosocomiales las cuales pueden ser de origen localizado o llegar a ser sistémicas (Wibawa, 2016) y el uso de fármacos para su tratamiento, ya sea el uso de uno solo o en combinación, llega a generar interacciones entre éstos resultando en un tratamiento ineficaz o bien propicia la generación de resistencia a antifúngicos, además de los efectos secundarios que estos pueden llegar a producir (Höfs, 2018).

Actividad antífúngica de nanopartículas en hongos fitopatógenos

Los hongos son los responsables de la mayor parte de las pérdidas económicas y su control se ha convertido en un reto debido a que han adoptado estrategias para hacer frente a los fungicidas volviéndose resistentes por el uso excesivo y en ocasiones debido al manejo irresponsable de estos productos (Doehlemann, 2017).

Por lo cual se realizaron ensayos para probar el posible efecto que tiene la síntesis verde de nanopartículas en el crecimiento de diferentes hongos patógenos de plantas (figura 5). Nuestros datos revelaron que las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *A. mexicana* inhibieron el crecimiento en *A. alternata. R. solani, C. gloesporioides*, y *F. oxysporum*, dicha actividad es variable dependiendo de qué hongo se trate, de manera que no se tiene una inhibición homogénea que permita tener una medición cuantitativa. Por ejemplo, en *F. oxysporum* se observó que, hay inhibición, pero más bien retarda el crecimiento, dado que no se aprecia de manera directa una inhibición de crecimiento como se observa en *R. solani*, esto a pesar de que el tiempo de incubación fue de 7 días para ambos hongos (figura 5a, 5d), de manera que se podría tratar de un efecto fungistático por parte de las biosíntesis de nanopartículas de plata (AgNPs).

Nuestros resultados indican que las nanopartículas de oro sintetizadas de manera química y por síntesis verde no tienen un efecto alguno en la inhibición del crecimiento de estos hongos. Sin embargo, con las partículas de plata sí se observó un resultado positivo excepto en el caso de *S. rolsfii*, el cual creció sin ninguna restricción en el tratamiento tanto de nanopartículas sintetizadas vía química y de la biosíntesis, figura 20e, puesto que las placas fueron fotografiadas una vez que el hongo cubrió por completo toda la superficie de la caja en la condición control (sin adición). Un aspecto importante de considerar es que dependiendo del estadio del hongo la respuesta podría ser diferente. Es decir, ¿cuál pudiera ser el efecto de estas partículas en la germinación de esporas del hongo? dicho análisis es interesante de ser realizado. Además, se observó que el fungicida comercial utilizado como control positivo no es efectivo para *S. rolsfii* y *A. alternata*, en nuestras condiciones experimentales con un tiempo de incubación de 2 y 7 días respectivamente, ya que su eficacia se ve disminuida en *R. solani* siendo favorecida la inhibición del crecimiento en éste hongo por la biosíntesis de nanopartículas de plata (AgNPs), en donde las fotografías se tomaron 2 días después de su incubación.

La síntesis verde y química de nanopartículas de oro no muestran ningún efecto en la inhibición en comparación con la síntesis verde y química de nanopartículas de plata, las cuales muestran un efecto positivo en la inhibición del crecimiento dado que después de 7 días de incubación, *C. gloesporioides* y *F. oxysporum*, no presentaron crecimiento alrededor de toda la caja indicando así una inhibición del crecimiento y el posible efecto fungicida de las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *A. mexicana*, figura 5e y 5d

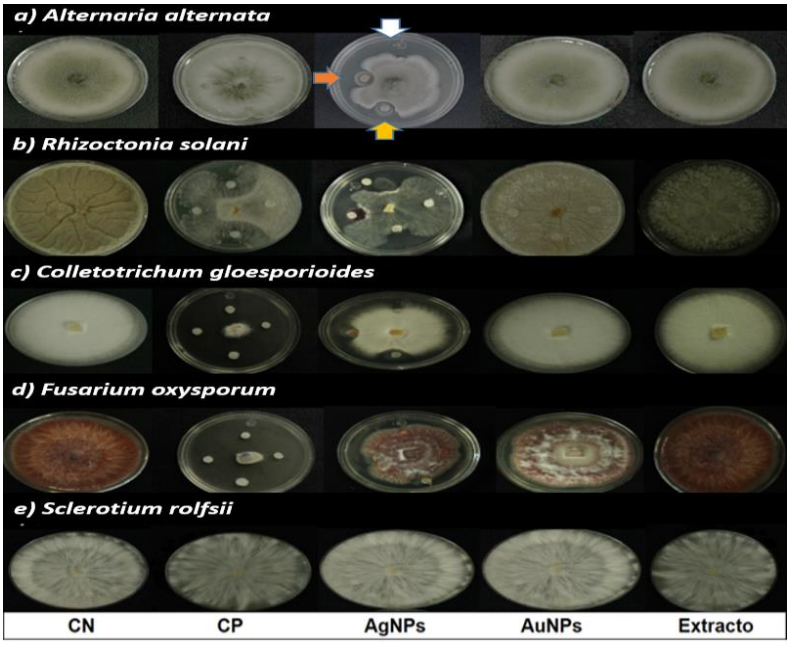


Figura 5. Actividad antifúngica de nanopartículas, sintetizadas con extracto de *A. mexicana* en hongos fitopatógenos. Se sembró un disco de 5 mm de micelio del hongo indicado, se incubó a temperatura de 28°C. De izquierda a derecha: control negativo agua (CN), control positivo (CP) fungicida comercial Benomilo 50(100µg), tratamiento con nanopartículas de plata síntesis química (flecha blanca) y síntesis verde 25°C (flecha naranja) y síntesis verde 80°C (flecha amarilla) 100µL (AgNPs), tratamiento de nanopartículas de oro síntesis química y síntesis verde 100µL (AuNPs) y extracto de *A. mexicana* 100µL. Las placas se fotografiaron a los 2 días para *S. rolfsii* y *R. solani,* a los 7 días para *A. alternata, C. gloesporioides y F. oxysporum.* El experimento se realizó por triplicado.

Se conoce que algunos componentes de *A. mexicana* podrían tener un efecto en la inhibición de la germinación de esporas y el crecimiento de hifas. De igual manera, se han reportado alcaloides con posible actividad antifúngica como la protopina y barberina (Bais, 2013). A pesar de ello en nuestros resultados no hay un efecto por parte del extracto de *A. mexicana* por sí solo, pero si existe un efecto en conjunto con las nanopartículas de plata por lo que pueden ser una alternativa para el control de estos hongos.

Las diferencias en la eficiencia de la actividad antifúngica por parte de la síntesis verde de nanopartículas puede ser atribuida a que existen hongos que tienen mejor tolerancia al estrés, lo cual está dado por la composición en la membrana y pared celular, si bien los componentes principales de la pared celular son la quitina y los glucános, hay diferencias en la concentración de éstos dependiendo de la especie de hongo, de manera que pueden modificar la estructura o composición de acuerdo al nivel de daño, ya sea un daño químico o un estímulo físico, puesto que es una estructura con alta plasticidad (Gow, 2017).

Por lo anterior, la biosíntesis de nanopartículas podría estar provocando un daño físico y conduciendo a una modificación en la estructura de la pared celular, de tal manera que inhiban en función del daño y composición misma de la pared del hongo en cuestión debido a que en los resultados obtenidos se muestra una variabilidad en el crecimiento de los hongos aquí probados.

Conclusiones

El uso de nanopartículas recubiertas con extractos de plantas representa un método novedoso contra

microorganismos que ya han generado resistencia a antimicrobianos. Las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *A. mexicana* tienen un amplio espectro de inhibición en los microorganismos aquí probados por lo que podrían ser una futura alternativa para el control de patógenos no solamente de humanos sino también de plantas. Sin embargo, su aplicación requiere de experimentación que avale su seguridad en humanos, utilizando protocolos aprobados por la COFEPRIS, así como su uso controlado de manera que se evite lo que ocurre hoy en día con el uso indiscriminado de fármacos.

Referencias

Alsammarraie, F. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,* 171, 398-405

Bais, Y. (2013). Evaluation of antimicrobial activity of plant leaf Argemone Mexicana. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, *3*(1), 41-45.

Blair, J. M. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*, 13(1), 42.

Estepa, V. R.-B.-G. (2017). Caracterización de mecanismos de resistencia a carbapenémicos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital español. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica,* 35(3), 141-147

Brahmachari, G. (2013). *Argemone mexicana*: chemical and pharmacological aspects. Revista Brasileira de Farmacognosia, 23(3), 559-567

Das, B. D. (2017). Green synthesized silver nanoparticles destroy multidrug resistant bacteria via reactive oxygen species mediated membrane damage. Arabian Journal of Chemistry, 10(6), 862-876.

Doehlemann G, Ö. B. (2017). Plant pathogenic fungi. *Microbiol spectrum*, 5(1)-0023.

Gow, N. A., Latge, J. P., & Munro, C. A. (2017). The fungal cell wall: structure, biosynthesis, and function. *Microbiology spectrum*.

Höfs, S. M. (2016). Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. *Journal of Microbiology,* 54(3), 149-169.

Hussein, A. (2017). Unconventional Oilseeds and oil sources. Academic Press

Khalil, M. M.-B. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry,* 7(6), 1131-1139

Kumar, P. V. (2014). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their anti bacterial activity. *Industrial Crops and Products*, 52, 562-566.

Ouda, S. M. (2014). Antifungal activity of silver and copper nanoparticles on two plant pathogens, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*. *Research Journal of Microbiology,* 9(1), 34-42

Price, C. L. (2015). Azole fungicides–understanding resistance mechanisms in agricultural fungal pathogens. *Pest management science*, 71(8), 1054-1058.

Senthil, B. D. (2017). Non-cytotoxic effect of green synthesized silver nanoparticles and its antibacterial activity. *journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 177, 1-7

Siddiqui, M. N. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles and study of their antimicrobial properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(2), 423-433

Shaikh, S. F. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 22(1), 90-101

Varun, S. S. (2015). Green synthesis of gold nanoparticles using *Argemone mexicana L*. leaf extract and its characterization. *Int J Pharm Sci Rev*, 32, 42-44

Wibawa, T. (2016). The role of virulence factors in *Candida albicans* pathogenicity. *J Med Sci,* 48(1), 58-68

7 ENCUENTRO
DE JÓVENES INVESTIGADORES
2019
IDEAS JÓVENES PARA IMPULSAR EL CRECIMIENTO DEL PAÍS

III

Medicina y Salud

EDUCO EN LA VERDAD Y EN EL HONOR

CONCYTEQ

Índice

Factores asociados a la evolución del trasplante renal.
Ricardo Adrián Argüello Hoyos H.E. Noriega-Jiménez, J.M. García Romero, D. Díaz de la Vega-Mondragón, J.G. Bravo Quiroz, G. Zaldívar- Lelo De Larrea, C.F. Sosa Ferreyra, H. Mayorga-Madrigal, A. García-Pulido, J.M. Sandoval Cuéllar, S.S. Ixta Martínez, M.G. Valdés Lecona, R. Hernández Vargas, R.M. Pérez Serrano

Migración, invasividad y ciclo celular en NB por Casiopeínas®
Lizbeth Karina Avalos-Velázquez, Mayra Lizbeth Vitela-Ramos, Lena Ruiz-Azuara, Carmen Mejía

Perfil epidemiológico de *Acinetobacter Baumannii*
Daniela De Noriega Guzmán, Jessica Alejandra Pérez Trejo, Lizbeth Correa Anaya, Viridiana Sotomayor Villezcas, Nadia Jiménez Luna, Guadalupe Zaldívar Lelo de Larrea, Rocío Romero, María Guadalupe Ortega Ramírez

Identificación del gen MYOC en el glaucoma primario de ángulo abierto.
Jessica García-Morales, Viridiana Sotomayor Villezcas, Nadia Angélica Jiménez Luna, María Guadalupe Ortega Ramírez, Brenda Rodríguez Camacho, Guadalupe Zaldívar Lelo de Larrea, José Macario Cordova Argueta

c. albicans en conductos radiculares de pacientes con diabetes mellitus tipo ii
Alejandra Hernández Gracian; Rocío de la Torre Luna, Rosa Martha Pérez Serrano, Irak Osiris Villareal Vera, Santiago Andaracua García, Rubén Abraham Domínguez Pérez

Prevalencia de Trombólisis en el evento vascular cerebral isquémico
Rocío Luis Díaz Martha Leticia Martínez Martínez, Claudia Garduño Rodríguez

Microorganismos en lente de contacto blando en Querétaro
Pamela Netro Sánchez, Viridiana Sotomayor Villezcas

Análisis lipidómico después del consumo de edulcorantes
Liliana Olalde Mendoza, Miriam Aracely Anaya-Loyola, Iza Fernanda Pérez-Ramírez

Efecto Del Trasplante De Microbiota En Murino con DMNID
Pérez-Tinajero Juan Fernando, Z. Bueno-Hermosa, C.E. Gómez-Martínez, F.R. Esquivel Guadarrama, D.V. López-Guerrero

Efectos del bisfenol-a en el proceso de diferenciación de adipocitos
Getsemani Natalia Ramírez Novoa, Ana Gabriela Hernández Puga, Manuel Fernando Guerrero Meza, Luz Cecilia Galván Soto

Relación miostatina-cortisol en adultos con entrenamiento físico sistemático
Ramírez-Reséndiz Fátima, V. Curiel-Cervantes, M. Camacho-Barrón, A. Anaya-Loyola

Consumo de sodio y yodo y su correlación con la tensión arterial en escolares del Municipio de Querétaro, Querétaro

María de los Ángeles Torres González, Adriana, Jheny Rodríguez-Méndez, Nicolás Camacho Calderón, David Gustavo García-Gutiérrez, Pablo García-Solís

---

Presencia de SNP Thr92Ala en población adulta en el estado de Querétaro

Vega León Paulina, Ana Gabriela Hernández Puga, Atenea Ponce Zúñiga

---

Factores asociados a la evolución del trasplante renal.

Argüello-Hoyos RA[1]., Noriega-Jiménez HE[2]., García-Romero JM[1]., Díaz de la Vega-Mondragón D[1]., Bravo-Quiroz JG[1]., Zaldivar- Lelo De Larrea G[2]., Sosa-Ferreyra CF[2]., Mayorga-Madrigal H[3]., García-Pulido A[3]., Sandoval-Cuéllar JM[3]., Ixta-Martínez SS[3]., Valdes-Lecona MG[3]., Hernández-Vargas R[4]., Pérez-Serrano RM[2].,

1. Estudiante de la licenciatura de medicina general de la universidad autónoma de Querétaro.
2. Laboratorio de genética y biología molecular de la facultad de medicina de la UAQ
3. Área de trasplantes del hospital general de Querétaro
4. Centro estatal de trasplantes

Resumen

La insuficiencia renal crónica (IRC) se caracteriza por un daño progresivo que culmina con la pérdida de la función renal, lo cual promueve el empleo de terapias sustitutivas (TS) como la diálisis peritoneal o hemodiálisis, siendo el trasplante renal el tratamiento óptimo por los beneficios que presenta. En el 2018, en México, se realizaron 3,048 trasplantes renales, denotando un avance médico-quirúrgico importante, sin embargo, se siguen presentando complicaciones que ponen en riesgo la viabilidad del injerto. El objetivo general fue conocer las características sociodemográficas de la población con trasplante renal y los factores asociados a la evolución del cuadro clínico, en pacientes tratados en el Hospital General de Querétaro (2012-2017). Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal y retrospectivo. Se registró un total 197 pacientes con trasplante renal, en su mayoría jóvenes (20 - 29 años, 47%) que estudian o trabajan. La causa más frecuente de IRC fue idiopática, seguido por la nefropatía diabética. Se determinó que a menor tiempo de tratamiento sustitutivo los niveles de creatinina se normalizan más rápido poscirugía. La supervivencia registrada fue de 93% al año y 90% a los 5 años.

Palabras clave: Insuficiencia renal Crónica, Trasplante Renal, Factores de Riesgo.

Summary

Chronic renal insufficiency (CRI) is characterized by progressive damage that culminates in the loss of renal function, which forces the use of replacement therapies (RT) being renal transplantation the optimal treatment for CRI. In 2018 Mexico made 3,048 kidney transplants, denoting an important medical-surgical advance, however there are still presenting complications that risk the viability of the injector. The general objective is to study the factors associated with the evolution of renal transplantation, in patients with 12 months post-transplant treated at the General Hospital of Querétaro (2012-2017). An epidemiological, observational, descriptive, cross-sectional and retrospective study was conducted, obtaining 197 patients, mostly young people (20-29 years, 47%). The most frequent cause of CRI was idiopathic (146 patients). It was determined that when the period of time of RT treatment was low the creatinine levels normalized faster. An analysis of variance was performed, obtaining a significant difference in the difference of pre- and post-transplant creatinine in the group previously treated with peritoneal analysis against those who received hemodialysis or both treatments. Kaplan-Meier graphics were made for survival, finding 93% a year and 90% at 5 years. **Keywords:** Chronic Allograft Renal Dysfunction, Kidney Transplant, Biomarkers.

Introducción

La enfermedad renal crónica (ERC) se define como la alteración en la función renal con una tasa de filtrado glomerular de <60 ml/min/1.73 m2 o presencia del daño renal durante al menos 3 meses[1]. Actualmente no existe tratamiento que logre revertir los efectos de la enfermedad, por lo que se considera una enfermedad progresiva y degenerativa. Debido a la gran capacidad de

compensación que tiene el riñón, la convierte en una enfermedad con evolución subclínica silenciosa con secuelas y complicaciones graves; ya que no genera sintomatología hasta etapas muy avanzadas[2].

La progresión de la ERC a la Insuficiencia Renal Crónica (IRC), con una TFG <15 ml/min/1.73 m^2, se asocia con una mayor tasa de mortalidad y elevados costos en la atención médica. La IRC requiere, de forma obligatoria, la terapia de reemplazo renal, ya sea diálisis peritoneal (DP), hemodiálisis (HD) o trasplante renal (TR)[3]. Aunado a esto, la cantidad de pacientes con IRC crece considerablemente cada año. Esto ha generado una mayor demanda en el Sector Salud para cubrir con las necesidades de atención médica y tratamientos para la población susceptible.[3] El pronóstico de los pacientes con IRC (a consecuencia de varias enfermedades) es reservado y en su mayoría está en riesgo su vida. A la fecha, la única esperanza que tienen estos pacientes es el trasplante de riñón. La calidad de vida entre los pacientes con diálisis y los que fueron trasplantados, es amplia y notoria. Los pacientes trasplantados, con evolución exitosa, presentan un cuadro clínico mejor, disminuye la tasa de mortalidad y el gasto económico[4]

El trasplante renal se define como la terapia de reemplazo del riñón dañado por un riñón donado funcional. En México se encuentran cerca de 22,620 personas en lista de espera de un trasplante, de estos, 15,494 son de riñón. En los primeros 24 días del 2019, se han registrado 106 trasplantes a nivel nacional, Hasta octubre del 2017 se han reportado 2,076 trasplantes de riñón en el país. Del 2000 a la fecha se registraron 44,352 trasplantes renales en México[5]. A costos actuales, la diferencia en el gasto del tratamiento con DP y HP vs TR es de 3 a 1 (a los 5 años postrasplante), resultando más económico a mediano plazo. El 87% del total de trasplantes realizados en México, se han practicado en instituciones de Seguridad Social[6]

A costos actuales se ha comprobado que, al cabo de 5 años, la diferencia en el gasto del tratamiento con HD vs TR es de 3 a 1, lo cual, a mediano plazo, resulta ser más económico. La donación cadavérica de diferentes órganos podría incrementarse sustancialmente y por consiguiente disminuir la mortalidad que este tipo de insuficiencias orgánicas representa[6]. El riñón trasplantado ya sea de un donador vivo o cadavérico, tiene una serie de ventajas y desventajas, así como contraindicaciones que den ser consideradas antes de elegir al donador: cuando el injerto se obtiene de un donador vivo la supervivencia del injerto es mayor que cuando procede de donante cadavérico. [6,7].

La ventaja de los trasplantes que vienen de donante vivo tienen una mejor supervivencia debido a la isquemia fría es casi inexistente y el riesgo de rechazo agudo disminuye debido a que los mecanismos inflamatorios inespecíficos que se ocasionan durante la muerte encefálica por lo que disminuye la respuesta inmunológica[8].

Por lo anterior, la presente investigación tiene como objetivo el generar el primer precedente en describir a la población que recibió un trasplante renal en el Hospital General de Querétaro del periodo del 2012 al 2017 en el Estado de Querétaro, además para analizar a detalle y caracterizar a esta población, en aras de obtener mayor información para futuras investigaciones.

Metodología.

Diseño: Estudio observacional, descriptivo, transversal y retrospectivo. Fueron incluidos en el estudio las historias clínicas de los pacientes que fueron trasplantados del 2012-2017 en el Hospital General SESEQ. El análisis descriptivo de las variables sociodemográficas se reporta en frecuencias absolutas y relativas. Se hizo un estudio de correlación entre el tiempo de terapia de sustitución de la función renal previo al trasplante contra la diferencia de creatinina antes y después del trasplante. Se realizó un análisis de

varianza para ver la diferencia de creatinina sérica antes y después del trasplante contra el tipo de terapia previa al trasplante. Se realizaron gráficas de Kaplan Meier para supervivencia y rechazo del injerto al primer, tercer y quinto año postrasplante.

Resultados.

Se obtuvo un total de 197 historias clínicas de los pacientes que tuvieron un trasplante renal en el periodo 2012-2017.

En cuanto a las variables sociodemográficas se registró una edad promedio de 30.55±12.92, presentando un total de 47% de la población en el grupo entre los 20 y 29 años, seguido por el de 20 a 39 años con el 20% y el de menores de 19 años con 13%. En cuanto al género, el 62% de la población fueron hombres y el 38% mujeres, de estos 21% están casados y 42% solteros. En cuanto a la ocupación se encontró que 23.35% son empleados y 19.28% estudiantes. Cifra alarmante que evidencia el grave problema de salud pública que se tiene en el país, al demostrarse que la población de pacientes trasplantados es joven, en edad económicamente productiva y reproductiva (tabla 1).

En cuanto a las variables clínicas, se observó que casi dos terceras partes de los pacientes se encuentran con una etiología de la enfermedad renal como idiopática, y el resto se trata de enfermedad renal secundaria a diabetes, preeclampsia, etc. Un 78% de los tipos de donante fue de donador cadavérico, dato que se pretende mejorar al promover la cultura de la donación de órganos. En cuanto al tratamiento que recibían previo al trasplante, el 40% de los pacientes se trataban con DP, 27% con HD, 12.7% fueron tratados primero con DP y posteriormente con HD, y únicamente en un 1% su primer tratamiento de sustitución renal fue el TR. Para la mayoría de los pacientes fue su primer trasplante y únicamente 5 pacientes fue retrasplante, siendo el 2.53%. En cuanto a las comorbilidades se registró que el 2.5% tenían diabetes, 15.7%

Total de pacientes	197	100%
Edad	30.55± 12.92	
Menor 19 años	26	13.2
20 a 29 años	92	46.7
30 a 39 años	39	19.8
40 a 49 años	15	7.6
50 a 59 años	16	8.1
Mayor de 60 años	7	3.5
No especificado	2	1.1
Sexo		
Masculino	122	62
Femenino	75	38
Ocupación		
Empleado	46	23.35
Estudiante	38	19.28
Ama de Casa	28	14.21
Desempleado	22	11.16
Profesionista	10	5.07
Obrero	7	3.55
Pensionado	5	2.53
Jubilado	2	1.01
No especificado	39	19.84
Estado Civil		
Casado	61	31
Soltero	83	42
Viudo	4	2
Unión libre	16	8
Divorciado	4	2
No especificado	29	15

Tabla 1: Datos sociodemográficos de pacientes trasplantados renales en el Hospital General De Querétaro 2012-2017.

Total de pacientes	197	100%
Etiología de la Enfermedad Renal Crónica		
Idiopática	146	74.1
Nefropatía diabética	13	6.6
Preeclampsia	7	3.6
Glomerulonefritis	3	1.5
Nefropatía lúpica	1	0.5
Otra etiología*	26	13.7
Tipo de donador		
Vivo	154	78.2
Cadavérico	43	21.8
Tipo de terapia de sustitución de la función renal		
Diálisis Peritoneal	80	40.6
Hemodiálisis	54	27.4
Ambos	25	12.7
Ninguno	2	1.01
No especificado	36	18.29%
Trasplante Previo		
Sí	5	2.53
No	192	97.46
Comorbilidades		
Diabetes Mellitus	5	2.5
Cardiovasculares	31	15.7
Inmunológicas	1	0.5
Otras comorbilidades**	23	11.67

*Otras etiologías: uropatía obstructiva, enfermedad poliquística, glomerulonefritis membranosa, hipoplasia renal, glomerulonefritis focal y segmentaria. **Otras comorbilidades: hernia inguinal, quiste tiroideo, epilepsia, dislipidemia, nefropatía urémica, anemia, hiperuricemia.

Tabla 2: Datos clínicos de pacientes trasplantados renales en el Hospital General de Querétaro 2012-2017

enfermedades cardiovasculares y 0.5 % enfermedades inmunológicas (tabla 2).

Se evaluó la diferencia de Creatinina Sérica Pretrasplante- Postrasplante con los meses que recibió terapia de sustitución renal, la cual mostró una diferencia significativa al evaluarse con una prueba de T pareada ($p < 0.01$). La correlación de la diferencia de creatinina sérica con los meses que recibió terapia de sustitución renal, se encontró una correlación negativa de baja magnitud (-0.2084) pero significativa ($p<0.05$) (Figura 1)

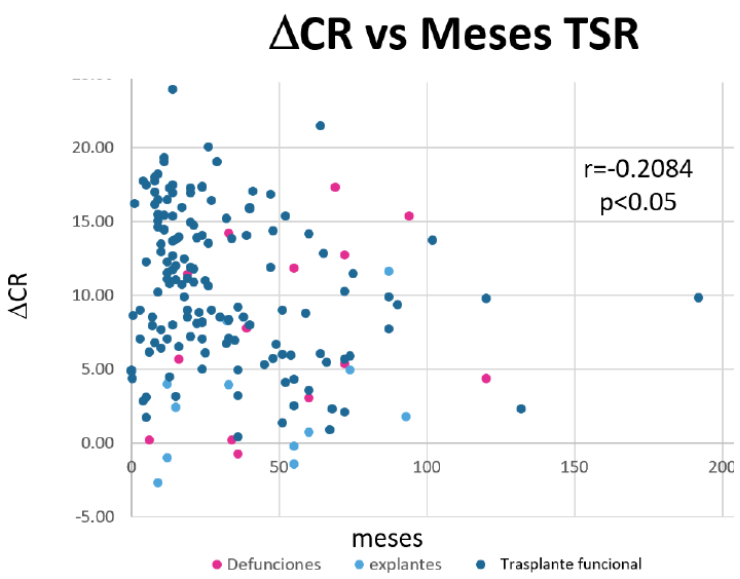


Figura 1: Correlación entre ΔCR con respecto a los meses que recibió terapia de sustitución renal (TSR) previo al trasplante. (r=0.2084, p‹0.05)

Se realizó un análisis de Varianza para determinar si hay efecto de tipo Terapia de Sustitución (TS) sobre la diferencia en creatinina pretrasplante y postrasplante. Se encontró un efecto significativo, entre el tipo de TSR y la reducción en Creatinina, con DP se observa una reducción promedio de 12.91 en comparación con hemodiálisis y quien recibió ambos tratamientos (tablas 3 y 4).

Grupos	Pacientes	Sumatoria ΔCr	Promedio ΔCr	Varianza
Diálisis peritoneal	91	117.38	12.91	154.83
Hemodiálisis	61	518.89	8.50	19.70
Ambas terapias	32	189.14	6.10	13.59

Tabla 3: Efecto de tipo de terapia de sustitución renal sobre ΔCr.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1365.58	2	682.79	7.91	0.000506	3.046
Dentro de los grupos	15524.98	180	86.24			
Total	16890.56	182				

Tabla 4: Análisis de Varianza.

Se realizaron gráficas de Kaplan-Meier y se encontró una supervivencia del 93% al primer año y 90% a los 3 y 5 años (figuras 3 y 4).

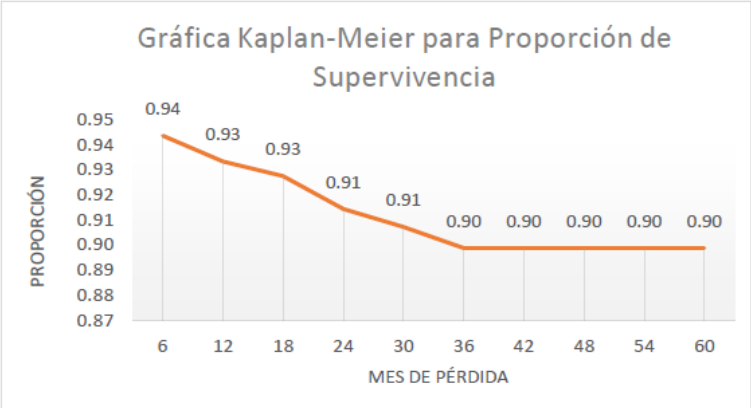


Figura 3: Gráfica de Kaplan.Meier para Supervivencia a 5 años, pacientes con trasplante renal entre 2012 y 2017 del Hospital General de Querétaro.

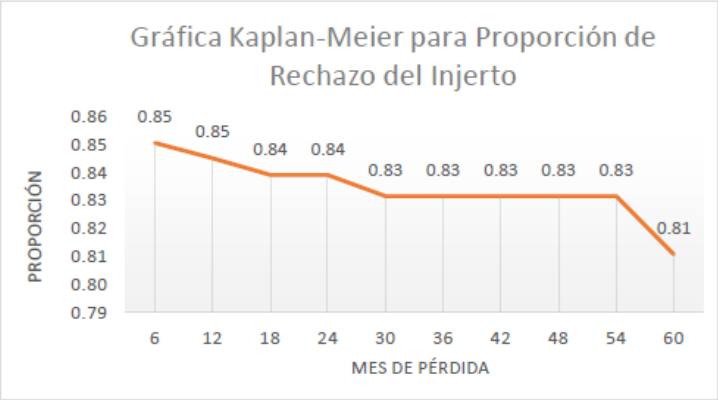


Figura 4: Gráfica de Kaplan.Meier para Rechazo del Injerto a 5 años, pacientes con trasplante renal entre 2012 y 2017 del Hospital General de Querétaro.

Discusión

En cuanto a la edad de los pacientes trasplantados los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en otros estudios (Ramírez-Andrade, 2018), y mantiene la tendencia de la disminución de la edad a la que se realiza el trasplante, al presentarse en pacientes jóvenes, nos enfrentamos también a un problema de salud con repercusiones sociales, al ser personas en edad productiva.

En cuanto al tratamiento que recibían previo al trasplante, el 40% de los pacientes se trataban con DP, 27% con HD, 12.7% fueron tratados primero con DP y posteriormente con HD, y únicamente 1% su primer tratamiento de sustitución renal fue el trasplante, La importancia de esto radica en que, de acuerdo con la literatura, el paciente que es trasplantado sin estar expuesto a TS presenta una menor probabilidad de rechazo.

En cuanto a la correlación de la diferencia de creatinina sérica con los meses que recibió TS, concuerda con los datos del estudio de la CTS (Collaborative Transplant Study), donde el resultado del TR es mejor cuando el paciente no ha recibido DP y disminuye con cada año adicional de tratamiento con DP.

Al comparar los datos de supervivencia y rechazo a 5 años con la supervivencia reportada por Centro de Investigación Medico Quirúrgicas de la Habana, Cuba, se contrasta, notablemente, los registros donde reportaron 82.7%, 78.3% y 73.4% en los mismos años postrasplante respectivamente (Valdivia 2013) y 85% , 83% y 81% de pacientes que no reportaron ningún caso de rechazo del injerto durante el primer, tercero y quinto año postrasplante, respectivamente.

Conclusiones.

En conclusión, es importante resaltar que la población de pacientes trasplantados en el estado, son en su mayoría menores de 30 años, lo cual concuerda con los registros nacionales donde han aumentado las defunciones por enfermedad renal en jóvenes en los últimos años. Siendo que la principal etiología es la enfermedad renal idiopática, a pesar de ser una población joven donde se esperaría encontrar que la enfermedad fuera secundaria a otra patología.

Casi dos terceras partes de las donaciones fueron de donadores vivos, lo que habla de que en nuestro estado hay que continuar fomentando la donación de órganos para que aumente la procuración de injertos,

Por otro lado, la terapia de sustitución renal que más utilizaron los pacientes previo al trasplante fue diálisis peritoneal, señalando que la opción terapéutica que reporta la literatura con mejor pronóstico es el trasplante prediálisis. Y mientras menor tiempo pase con terapia de la sustitución de la función renal, mejor será el resultado del trasplante,

Como áreas de oportunidad para continuar la línea de investigación, se encuentra aumentar el número de pacientes en el estudio.

Con los datos encontrados en el presente proyecto, se sugiere la búsqueda intencionada de daño renal en pacientes jóvenes asintomáticos, así como el seguimiento de enfermedades que puedes desencadenar insuficiencia renal, como en el caso de la preeclampsia.

Referencias bibliográficas

1. Gorostidi,M, et al.2014. Documento de la sociedad española de nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica. Nefrol, 34(3)
2. PAHO. 2015. La OPS/OMS y la Sociedad Latinoamericana de Nefrología llaman a prevenir la enfermedad renal y a mejorar el acceso al tratamiento.
3. González-Bedat MC, et al. Los registros nacionales de diálisis y trasplante renal en América Latina: cómo implementarlos y mejorarlos. Rev Panam Salud Publica. 2015; 38(3)
4. Rivera-Luna, E. N., Cruz-Santiago, J., Meza-Jiménez, G., Bernáldez-Gómez, G., & Moreno-Ley, P. I. (2016). Manejo perioperatorio en el receptor de trasplante renal. Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional «La Raza» IMSS. Revista Mexicana de Trasplantes• Vol, 5(1).
5. CENATRA. Estado Actual de Receptores, Donación y Trasplantes en México, 1er Trimestre 2017. Secretaría de Salud. 2017. México.
6. Protocolo para el trasplante renal 2015. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutricuón “Salvador Zubirán”
7. Torras Ambros J, Sánchez Fructuoso A, Cruzado Garrit JM. Evaluación del donante cadáver, preservación renal y donante a corazón parado. En: Lorenzo V, López Gómez JM (Eds) Nefrología al Día. http://dev.nefro.elsevier.es/es-monografias-nefrologia-dia-articulo-evaluacin-del-donante-cadver-preservacin-renal-donante-corazn-parado-145.
8. Marta Crespo Barrio, Nuria Esforzado Armengol, M. J. R. B. y F., & Salinas., O. (2005). Resultados A Largo Plazo Del Trasplante Renal De Donante Vivo : Supervivencia De Injerto Y Receptor. Arch. Esp. Urol., 6(58), 537–542.

Migración, invasividad y ciclo celular en NB por Casiopeínas®

Lizbeth Karina Avalos-Velázquez[1]*, Mayra Lizbeth Vitela-Ramos[2], Lena Ruiz-Azuara[3], Carmen Mejía[4].

[1]Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro *liz.zy94@hotmail.com.

[2]Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. mayralizbehvitela62@gmail.com

[3]Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

[4]Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. maria.c.mejia@uv.es

RESUMEN

El neuroblastoma (NB) es el tumor sólido extracraneal más frecuente en la infancia (8-10%), con alta capacidad de metástasis y resistencia a fármacos. Lo que ha conducido a la investigación de nuevos tratamientos con mayor efectividad como las Casiopeínas® (Cas). Son compuestos que han mostrado efectos citostáticos y citotóxicos en diversos tumores. En líneas de NB se comprobó su actividad apoptótica (2-4h), autofágica (10h) y de supervivencia (24h), pero se desconocen sus efectos después de 24h, tiempo en el cual la células podrían metastatizar. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue analizar la migración, invasividad y el ciclo celular, en la línea de neuroblastoma SK-N-SH, tratada con la CI50 de cisplatino o CasIIIia. La migración celular se evaluó con el ensayo de la "herida"; mientras que la invasividad celular se determinó empleando el ensayo de "transwell" y el análisis del ciclo celular por citometría de flujo. Los resultados mostraron que los tratamientos disminuyen la capacidad de migración y a partir de las 48h, se observa la pérdida celular total. También se encontró que las células tratadas con CasIIIia no son capaces de atravesar la membrana del "transwell" y permanecen entre las fases G0/G1 y la fase S del ciclo celular. En conclusión, la administración de CasIIIia inhibe la capacidad de migración e invasividad en células de NB.

Palabras clave: SK-N-SH, Casiopeína IIIia, migración celular, invasividad celular, ciclo celular.

ABSTRACT

Neuroblastoma (NB) is the most common extracranial solid tumor in childhood (8-10%), with a high capacity for metastasis and drug resistance. Which has led to the investigation of new treatments with greater effectiveness such as Casiopeína® (Cas). They are compounds that have shown cytostatic and cytotoxic effects in various tumors. In NB cell lines its apoptotic (2-4h), autophagic (10h) and survival (24h) activity were verified, but its effects are unknown after 24h, at which time the cells could metastasize. For this reason, the objective of this work was to analyze the migration, invasiveness and cell cycle, in the SK-N-SH neuroblastoma line, treated with the IC50 of cisplatin or CasIIIia. Cell migration was assessed with the "wound" test; while cell invasiveness was determined using the "transwell" assay and the analysis of the cell cycle by flow cytometry. The results showed that the treatments decrease the migration capacity and after 48h, the total cell loss is observed. It was also found that CasIIIia treated cells are not able to cross the transwell membrane and remain between the G0 / G1 phases and the S phase of the cell cycle. In conclusion, the administration of CasIIIia inhibits the ability of migration and invasiveness in NB cells.

Keywords: SK-N-SH, Casiopeína IIIia, cell migration, cell invasiveness, cell cycle.

Introducción

El Neuroblastoma (NB) es el tumor sólido extra craneal más frecuente en infantes, dicho tumor se origina de células que derivan de la cresta neural durante el desarrollo embrionario. El NB presenta una alta heterogeneidad genética, biológica, clínica y morfológica, dificultando alcanzar una terapia exitosa (Pinto et al., 2015)(Bosse & Maris, 2016).

Este tumor causa el 15% de la mortalidad infantil; su tasa de supervivencia en tumores metastásicos es considerablemente baja (21%) durante los primeros 5 años de vida, mientras que después de los 5 años es de 40% (Fulda, 2018).

La metástasis o formación de tumores en tejidos y órganos lejanos al sitio de origen (Botzer et al., 2016), se relaciona con el 90% de las muertes por cáncer. Es un proceso que forma parte de la carcinogénesis y está asociado con la malignidad y mal pronóstico.

Para llevarse a cabo la metástasis existen tres puntos importantes: La transición epitelio-mesénquima (TEM), la invasividad y la migración. La TEM (Fig. 1) es un proceso biológico de transformación fenotípica donde las células epiteliales se vuelven mesenquimales favoreciendo la progresión tumoral. Múltiples estudios han mostrado que el 90% de los tumores muestran diferentes grados de TEM lo que se asocia a una capacidad relativamente fuerte de metástasis (Wang et al., 2019).

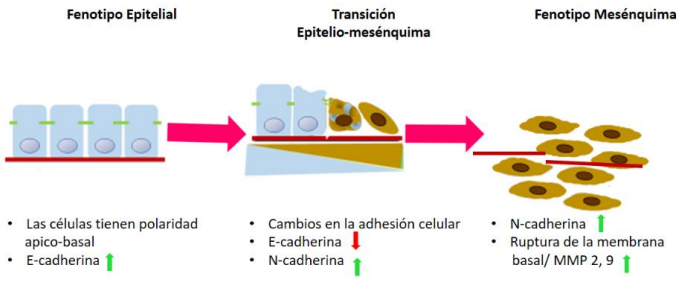


Figura 1. Transición epitelio-mesénquima. El fenotipo epitelial se caracteriza por la polaridad apico-basal y la unión célula-célula asociada a la presencia de E-cadherina. Durante la TEM se pierden las características del fenotipo epitelial asociado a la regulación negativa de E-cadherina y al aumento de N-cadherina, lo cual en el fenotipo mesenquimal favorecerá la motilidad celular. A su vez se presentará la ruptura de la membrana basal asociada al aumento de las metaloproteinasas (MMP) 2 y 9 las cuales favorecen el movimiento de las células tumorales.

Una vez que las células adquieren motilidad por medio de la TEM, son capaces de migrar. Este proceso consiste en la ruptura de la membrana celular y el desplazamiento a través del torrente sanguíneo hasta llegar a un lugar lejano del tumor primario (Fonseka et al., 2019).

Cuando las células se encuentran en el depósito metastásico se activa la fase de invasividad, llevándose a cabo un proceso inverso a la TEM donde las células mesenquimales regresan a su fenotipo epitelial favoreciendo así la adhesión celular, la angiogénesis, y con ello la proliferación celular descontrolada, así como la evasión de los mecanismos de muerte (Fabian et al., 2016).

Debido a la complejidad que implica el proceso de metástasis en la actualidad, el tratamiento administrado para el neuroblastoma de alto riesgo con metástasis, consiste en terapias multimodales intensivas. Entre los quimioterapéuticos comúnmente administrados, se encuentran agentes alquilantes como ciclofosfamida, melfalan, carboplatino o cisplatino (el más utilizado) (Vo, K. T. et al. 2014) (Valter, K., 2018).

El cisplatino (Fig. 2) inhibe la síntesis de DNA y proteínas produciendo enlaces cruzados dentro y entre las cadenas del DNA, al unirse con el nitrógeno 7 de la guanina (Geurten, Geurten, Hoyoux, & Lebrethon, 2019). Sin embargo, su administración se asocia a una deficiente calidad de vida debido a sus efectos adversos como la nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, ototoxicidad e inmunosupresión (Casinelli et al., 2016).(Amable, 2016)

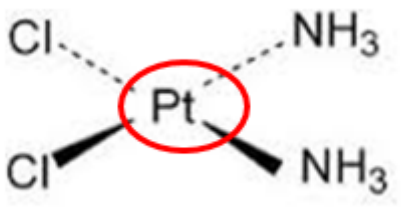


Figura 2. Estructura del Cisplatino®.

Debido a lo anterior diversos grupos de investigación trabajan en nuevos anticancerígenos que resulten más efectivos y con menores efectos adversos entre los que se encuentra la familia de las Casiopeínas®, compuestos de coordinación de cobre(II) cuya fórmula general es [Cu (N-N) (N-O)]NO3 (Ruiz-Azuara 1994) (Fig. 3).

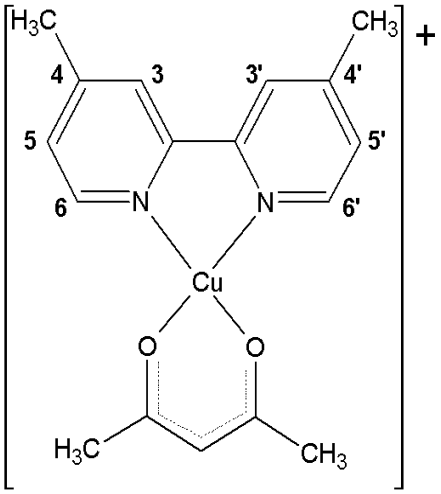


Figura 3. Casiopeína IIIia.

Estos compuestos han demostrado que a menores concentraciones que el cisplatino, producen efectos antiproliferativos, citotóxicos y genotóxicos (Marín-Hernández, Gracia-Mora, Ruiz-Ramírez, & Moreno-Sánchez, 2003) en modelos *in vivo* (De Vizcaya-Ruiz, Rivero-Müller, Ruiz-Ramirez, Howarth, & Dobrota, 2003) *e in vitro* (Trejo C, et al, 2005) (Mejía C, et al, 2008) (Gutiérrez AG, et al, 2013) (García-Ramos JC, et al 2017).

Además, se ha observado una fuerte actividad antitumoral en líneas celulares de carcinomas humanos (Valencia-Cruz et al., 2013), y bajos efectos tóxicos en corazón de rata (Marín, et al, 2012), linfocitos y macrófagos humanos y caninos (manuscrito en preparación), evitando así la presencia de leucopenias (Alemón-Medina, 2011)(García-Ramos, 2016) (García-Ramos et al, 2017).

En células de NB tratadas con Cas IIgly, IIIia y IIIEa se han analizado los procesos de apoptosis, autofagia y supervivencia a las 2, 10 y 24h (Vázquez-Aguirre et al., 2019). Sin embargo, aún no se conocen los efectos de estos compuestos en tiempos posteriores, donde se pueden hacer presentes los procesos de migración y la invasividad.

Por todo lo anterior, el objetivo general de este trabajo fue analizar los procesos de migración e invasividad en células de neuroblastoma SK-N-SH tratadas con Casiopeína® IIIia, mediante la determinación de la capacidad de migración, invasividad y ciclo celular.

Metodología

Empleamos la línea celular SK-N-SH que se caracteriza porque tiene una morfología epitelial, crece de forma adherente, duplica su número cada 43h y tiene alta capacidad invasiva. Las células fueron tratadas con la CI_{50} de CasIIIia o cisplatino (Cis) de acuerdo a lo previamente reportado por nuestro grupo (Mejía C, et al, 2008) (Gutiérrez AG, et al, 2013).

Cultivo celular. Las células fueron cultivadas en Medio de Eagle modificado por Dulbeco (DMEM), adicionado con 10% de suero fetal bovino (SFB), almacenadas en incubadora de CO_2 (5%), a una temperatura de 37°C. El medio se renovó 3 veces por semana hasta alcanzar >80% de confluencia. Bajo estas condiciones, se inició el periodo de expansión realizando transferencias cada tercer día.

Evaluación de migración celular. Para evaluar este proceso se realizó el ensayo de la herida. Brevemente, las células de NB fueron sembradas en placas de 24 pozos con concentraciones bajas de SFB (5%). Al alcanzar una confluencia >80% se realizó la "herida" con una punta estéril de micropipeta amarilla P200. Se procedió a lavar las placas dos veces con buffer de fosfatos (PBS) y se aplicaron los tratamientos. Las células se fijaron con paraformaldehído al 0.4% cada 24h hasta las 120h, se tiñeron con hematoxilina-eosina y se procedió al análisis de la herida mediante microscopia óptica.

Evaluación de la invasividad celular. El análisis de la invasividad se llevó a cabo por medio del ensayo de Transwell. Brevemente, $1x10^5$ células previamente tratadas por 24h, se sembraron en los insertos con 1.5 ml de medio DMEM sin SFB. En el compartimento

inferior se añadieron 2.6 ml de DMEM suplementado con SFB al 10% y se incubaron durante 48h. Los insertos se retiraron cada 24h hasta completar 120h. Las células que migraron desde la cara apical a la cara basal del transwell, se fijaron en paraformaldehído al 0.4% y se procedió a su observación al microscopio óptico.

Evaluación del ciclo celular por citometría de flujo. Se preparó la muestra partiendo de los cultivos previamente tratados. Las células fueron centrifugadas a 300 rpm y se tomaron $1x10^5$ células, se realizaron dos lavados con PBS 1x y se fijaron con etanol al 70% durante 3h a -20°C. Una vez fijadas, se centrifugaron a 300rpm, se retiró el etanol y se realizaron dos lavados más con PBS 1x. El pellet obtenido se resuspendió en 1ml de PBS 1x, se tomaron 200µl del mismo y en oscuridad, se agregaron 200µl del reactivo Cell Cycle (Muse ™), incubándose durante 30 min a temperatura ambiente. Por último, se pasó a la lectura con el software correspondiente.

Todas las metodologías se realizaron por triplicado.

Resultados

La figura 4 muestra los resultados obtenidos en el ensayo de la herida, en los cuales se dio seguimiento a la herida cada 24h hasta las 120h y se identificó el patrón de cierre de la herida.

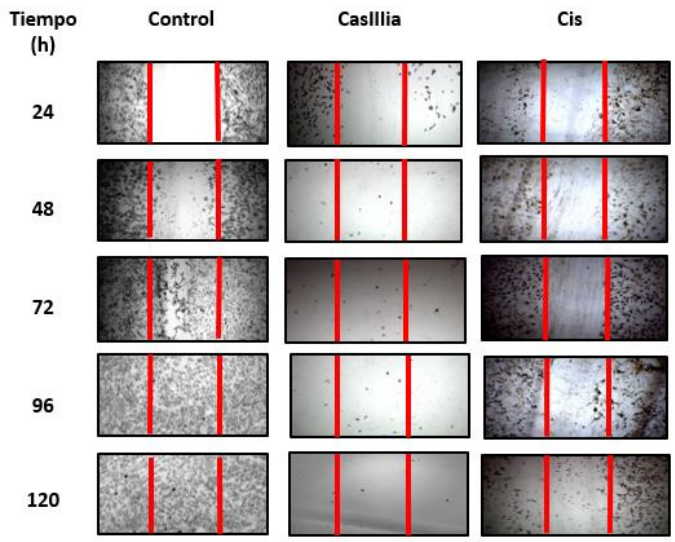


Figura 4. Cinética de cierre de la herida. En células control se observó un cierre total de la herida a las 96h. Por su parte, el tratamiento con CasIIIia fue incompatible con la supervivencia celular y por tanto con la migración. Mientras que con el Cisplatino se identificó un menor número de células en comparación con el control, y aunque a las 96h se observa una tendencia a cruzar la línea de cierre de la herida, ésta no logra completarse incluso a las 120h.

En el ensayo de Transwell de la figura 5, se observan las células que lograron atravesar la membrana del inserto y su seguimiento a partir de las 24 y hasta las 120h, posteriores al retiro del inserto.

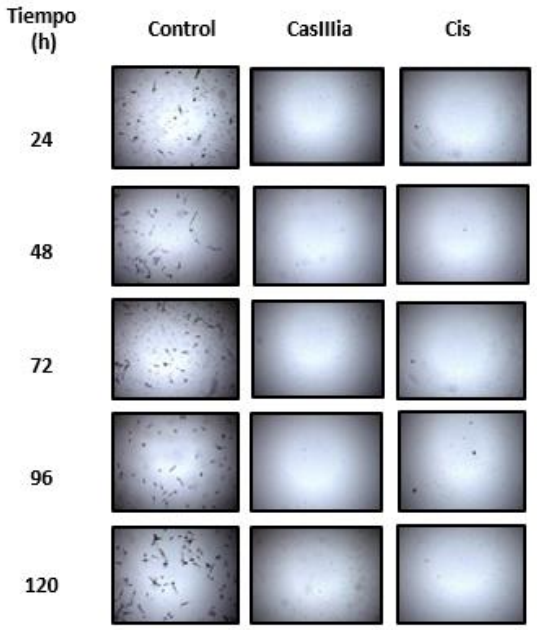


Figura 5. Dinámica de invasividad en células SK-N-SH. En las células control se puede observar un aumento en el número celular hacia las 72h, el cual parece mantenerse hasta las 120h. Mientras que las células tratadas con CasIIIia o Cisplatino no cruzaron la membrana del transwell. Todas las observaciones se hicieron en microscopio invertido (4x).

Por último, mediante citometría de flujo evaluamos el ciclo celular, para medir la cantidad de células detectadas y la distribución de las mismas en el ciclo celular, mediante una cinética de tiempo de 48 (Fig. 6), 72 (Fig. 7), 96 (Fig. 8), 120 (Fig. 9) y 144h (Fig. 10) posteriores al tratamiento.

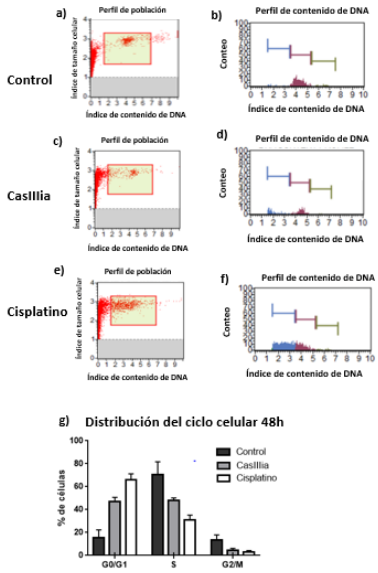


Figura 6. Evaluación del ciclo celular 48h postratamiento. En las figuras **a, c, e** se puede observar la población celular evaluada que corresponde a la ubicada dentro del rectángulo rojo. En las figuras **b, d, f** se observa la distribución de acuerdo a los parámetros registrados por el equipo, en los cuales el color azul corresponde a las fases G0/G1, el color morado a la Síntesis (S) y el color verde a las fases G2/M del ciclo celular. Por último, en la figura **g** se observa la distribución celular de acuerdo a la fase del ciclo celular y al tratamiento (los resultados se representan como Media ± SD)

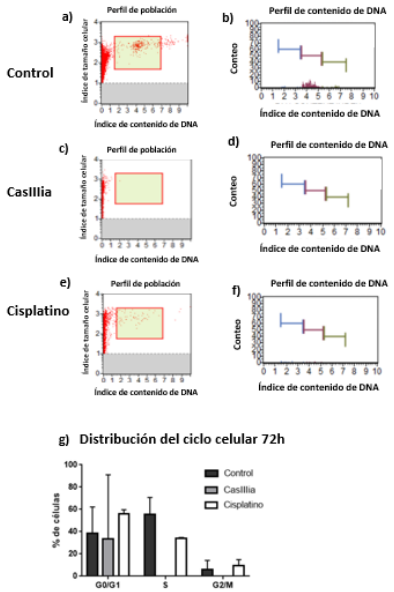


Figura 7. Evaluación del ciclo celular 72h postratamiento. En las figuras **a, c, e** se puede observar la población celular evaluada que corresponde a la ubicada dentro del rectángulo rojo. En las figuras **b, d, f** se observa la distribución de acuerdo a los parámetros registrados por el equipo, en los cuales el color azul corresponde a las fases G0/G1, el color morado a la Síntesis (S) y el color verde a las fases G2/M del ciclo celular. Por último, en la figura **g** se observa la distribución celular de acuerdo a la fase del ciclo celular y al tratamiento (los resultados se representan como Media ± SD)

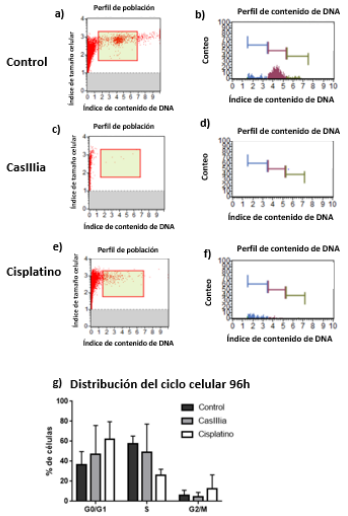


Figura 8. Evaluación del ciclo celular 96h postratamiento. En las figuras **a, c, e** se puede observar la población celular evaluada que corresponde a la ubicada dentro del rectángulo rojo. En las figuras **b, d, f** se observa la distribución de acuerdo a los parámetros registrados por el equipo, en los cuales el color azul corresponde a las fases G0/G1, el color morado a la Síntesis (S) y el color verde a las fases G2/M del ciclo celular. Por último, en la figura **g** se observa la distribución celular de acuerdo a la fase del ciclo celular y al tratamiento (los resultados se representan como Media ± SD)

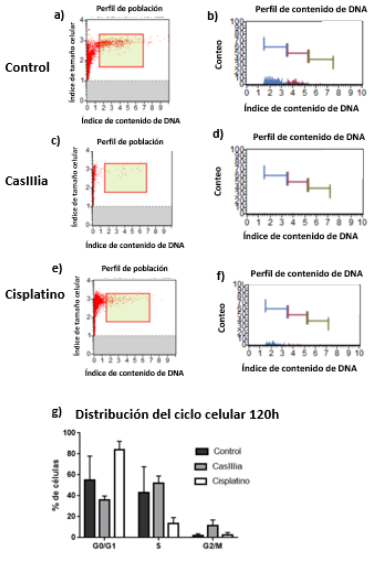


Figura 9. Evaluación del ciclo celular 120h postratamiento. En las figuras **a, c, e** se puede observar la población celular evaluada que corresponde a la ubicada dentro del rectángulo rojo. En las figuras **b,**

d, f se observa la distribución de acuerdo a los parámetros registrados por el equipo, en los cuales el color azul corresponde a las fases G0/G1, el color morado a la Síntesis (S) y el color verde a las fases G2/M del ciclo celular. Por último, en la figura **g** se observa la distribución celular de acuerdo a la fase del ciclo celular y al tratamiento (los resultados se representan como Media ± SD)

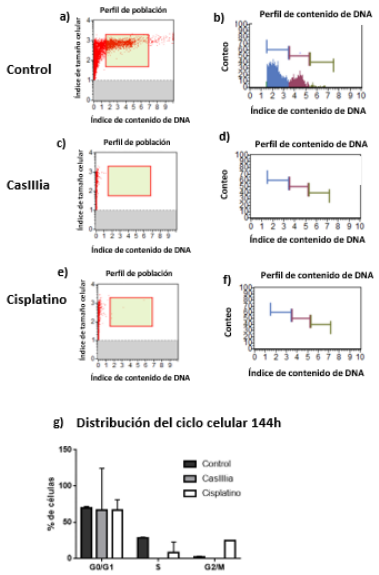


Figura 10. Evaluación del ciclo celular 144h postratamiento. En las figuras **a, c, e** se puede observar la población celular evaluada que corresponde a la ubicada dentro del rectángulo rojo. En las figuras **b, d, f** se observa la distribución de acuerdo a los parámetros registrados por el equipo, en los cuales el color azul corresponde a las fases G0/G1, el color morado a la Síntesis (S) y el color verde a las fases G2/M del ciclo celular. Por último, en la figura **g** se observa la distribución celular de acuerdo a la fase del ciclo celular y al tratamiento (los resultados se representan como Media ± SD)

Discusión y conclusiones

El tratamiento para el Neuroblastoma de alto riesgo ha tenido grandes avances; sin embargo, estos no son suficientes ya que los pacientes que se encuentran dentro de esta clasificación continúan teniendo un pronóstico pobre con una supervivencia a largo plazo menor al 50% (Pinto et al., 2015).

Por este motivo los resultados obtenidos en nuestro grupo de investigación cobran gran relevancia. En el ensayo de la herida (Fig. 4) se identificó que las células tratadas con CasIIIia pierden por completo la capacidad de migración después de 48h en las cuales ya no se encuentra ninguna célula, lo cual se asocia a que las células podrían reactivar nuevos procesos de muerte sin necesidad de una segunda dosis, con lo cual se retoma lo reportado previamente por nuestro grupo en las células CHP-212 y SK-N-SH (Mejía C, et al, 2008) (Gutiérrez AG, et al, 2013) y pareciera que es un proceso que se repite. En contraparte, las células tratadas con cisplatino si bien no logran cerrar la herida, pareciera que a partir de las 96h logran detoxificar el compuesto y adquieren la motilidad necesaria para poder migrar, lo cual concuerda con los estudios realizados sobre la resistencia al Cisplatino, que reportan que en los casos donde el tumor presenta regresión, este quimioterapéutico pierde efectividad ya que su resistencia se asocia con el aumento de mecanismos de reparación del DNA, acumulación celular alterada y aumento de la inactivación del fármaco (Amable, 2016).

Por otra parte, en el ensayo del tranwell (Fig. 5) se observó que ninguno de los tratamientos permite la acción invasiva, lo cual se asocia a que ambos tratamientos tienen efectos citostáticos. Sin embargo, sería importante conocer la cinética de las células tratadas con cisplatino a largo plazo, ya que posteriormente a las horas reportadas en este trabajo, podría haber recuperación celular, tal y como se observó en el ensayo de la herida. Para el caso de las células tratadas con Casiopeínas, mediante microarreglos de RNA en células HeLa tratadas con CasIIIy, identificamos la expresión de los genes asociados a la inhibición del proceso de migración e invasividad como N-cadherina (Mejía C., et al, 2013). En otro trabajo se identificó la disminución en la expresión del gen TGFβR1, cuyo papel es fundamental en la evasión del sistema inmune, la angiogénesis, la motilidad celular, la invasividad y consecuentemente la metástasis (Yunsheng Xu, et al, 2019).

Por último, en la evaluación del ciclo celular se puede identificar que, durante toda la cinética de tiempo, la densidad celular se comporta de la siguiente manera: células control > células tratadas con cisplatino> células tratadas con CasIIIia. Aunado a esta información, se puede observar que las células tratadas mantienen activo el ciclo celular llegando

hasta la fase de división con un bajo índice en las primeras horas lo que aumenta hacia las últimas mediciones. Mientras que las células tratadas con CasIIIia mantienen la mayoría de la población celular en las fases G0/G1 y S, lo que indica que son muy pocas las células que logran dividirse. Aunado a esto, a las 72 y 144h se encontró que la totalidad de las células se mantienen en la Fase G0/G1, lo cual puede estar asociado con la actividad de los genes p53 y p21, los cuales previamente reportamos mediante el análisis de microarreglos (Mejía C., et al, 2013).

En conclusión, la administración de CasIIIia en dosis única, tiene como resultado a tiempos prolongados (144h) la inhibición de la capacidad de migración e invasividad, así como la reducción de la cantidad de células que logran completar el ciclo celular. Sin embargo, es necesaria la evaluación de la expresión de proteínas relacionadas con la adhesión celular, así como la evaluación de la viabilidad celular para obtener un panorama completo sobre todo el proceso.

Referencias bibliográficas

Alejandra Idan Valencia-Cruz, Laura I. Uribe-Figueroa, Rodrigo Galindo-Murillo, Karol Baca-López, Anllely G. Gutiérrez, Adriana Vázquez-Aguirre, Lena Ruiz-Azuara, Enrique Hernández-Lemus, C. M. (2013). Whole Genome Gene Expression Analysis Reveals Casiopeína-Induced Apoptosis Pathways. *PLoS ONE*. https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054664

Amable, L. (2016). Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmacological Research*, *106*, 27–36. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.001

Bosse, K. R., & Maris, J. M. (2016). Advances in the translational genomics of neuroblastoma: From improving risk stratification and revealing novel biology to identifying actionable genomic alterations. *Cancer*, *122*(1), 20–33. https://doi.org/10.1002/cncr.29706

Botzer, L. E., Maman, S., Sagi-Assif, O., Meshel, T., Nevo, I., Yron, I., & Witz, I. P. (2016). Hexokinase 2 is a determinant of neuroblastoma metastasis. *British Journal of Cancer*, *114*(7), 759–766. https://doi.org/10.1038/bjc.2016.26

Casinelli, G., LaRosa, J., Sharma, M., Cherok, E., Banerjee, S., Branca, M., … Graves, J. A. (2016). N-Myc overexpression increases cisplatin resistance in neuroblastoma via deregulation of mitochondrial dynamics. *Cell Death Discovery*, *2*(1), 1–11. https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2016.82

De Vizcaya-Ruiz, A., Rivero-Müller, A., Ruiz-Ramirez, L., Howarth, J. A., & Dobrota, M. (2003). Hematotoxicity response in rats by the novel copper-based anticancer agent: Casiopeina II. *Toxicology*, *194*(1–2), 103–113. https://doi.org/10.1016/j.tox.2003.08.009

Fabian, J., Opitz, D., Althoff, K., Lodrini, M., Hero, B., Volland, R., … Deubzer, H. E. (2016). MYCN and HDAC5 transcriptionally repress <i>CD9</i> to trigger invasion and metastasis in neuroblastoma. *Oncotarget*, *7*(41). https://doi.org/10.18632/oncotarget.11662

Fonseka, P., Liem, M., Ozcitti, C., Adda, C. G., Ang, C. S., & Mathivanan, S. (2019). Exosomes from N-Myc amplified neuroblastoma cells induce migration and confer chemoresistance to non-N-Myc amplified cells: implications of intra-tumour heterogeneity. *Journal of Extracellular Vesicles*, *8*(1). https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1597614

Fulda, S. (2018). Cell death-based treatment of glioblastoma review-Article. *Cell Death and Disease*, *9*(2), 1–15. https://doi.org/10.1038/s41419-017-0021-8

Marín-Hernández, A., Gracia-Mora, I., Ruiz-Ramírez, L., & Moreno-Sánchez, R. (2003). Toxic effects of copper-based antineoplastic drugs (Casiopeinas®) on mitochondrial functions. *Biochemical Pharmacology*, *65*(12),

1979–1989. https://doi.org/10.1016/S0006-2952(03)00212-0

Pinto, N. R., Applebaum, M. A., Volchenboum, S. L., Matthay, K. K., London, W. B., Ambros, P. F., … Cohn, S. L. (2015). Advances in risk classification and treatment strategies for neuroblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, *33*(27), 3008–3017. https://doi.org/10.1200/JCO.2014.59.4648

Valencia-Cruz, A. I., Uribe-Figueroa, L. I., Galindo-Murillo, R., Baca-López, K., Gutiérrez, A. G., Vázquez-Aguirre, A., … Mejía, C. (2013). Whole Genome Gene Expression Analysis Reveals Casiopeína-Induced Apoptosis Pathways. *PLoS ONE*, *8*(1). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054664

Wang, X.-H., Wu, H.-Y., Gao, J., Wang, X.-H., Gao, T.-H., & Zhang, S.-F. (2019). IGF1R facilitates epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell properties in neuroblastoma via the STAT3/AKT axis . *Cancer Management and Research*, *Volume 11*, 5459–5472. https://doi.org/10.2147/cmar.s196862

Yunsheng Xu, 1, 2 Qianwen Zhang, 3 Fan Lin, 3 Li Zhu, 4 Fangfang Huang, 4 Liang Zhao, 5 and Rongying Ou4. (2019). Casiopeina II-gly acts on lncRNA MALAT1 by miR-17-5p to inhibit FZD2 expression via the Wnt signaling pathway during the treatment of cervical carcinoma. *Oncol Rep.*, 1365–1379. https://doi.org/10.3892/or.2019.7268

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE *Acinetobacter Baumannii*

De Noriega-Guzmán D[1], Pérez-Trejo JA[1], Correa-Anaya L[1], Sotomayor-Villezcas V[1], Jiménez-Luna NA[1], Zaldivar-Lelo de Larrea G, Romero, R.[2]
Ortega-Ramírez MG[1] .
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México[1]
Hospital General de Querétaro[2]

Daniela De Noriega Guzmán
Estudiante de Licenciatura en Medicina
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Querétaro
Cel.: 442-467-0346
Correo electrónico: daniela.noriegaguz@gmail.com

Jessica Alejandra Pérez Trejo
Estudiante de Licenciatura en Medicina
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Querétaro
Cel.: 442-173-2597
Correo electrónico: jessyalpe@gmail.com

Lizbeth Correa Anaya
Estudiante de Licenciatura en Medicina
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Querétaro
Cel.: 421-102-8820
Correo electrónico: lisetecorreazoe@hotmail.com

Resumen

Antecedentes: *Acinetobacter baumannii* (*A. baumanni)* es una bacteria que ha surgido últimamente como un importante patógeno nosocomial, afectando principalmente a los pacientes en unidades de cuidados intensivos (UCI). La creciente importancia clínica a nivel internacional de esta bacteria recae en la capacidad que tiene para adquirir resistencia a antibióticos extremadamente rápido; llegando a ser multidrogorresistente (MDR) y causando problemas terapéuticos serios. En México se han realizado pocos estudios relacionados a esta bacteria.

Objetivo: Conocer el perfil epidemiológico de infecciones causadas por *A. baumannii* en el Hospital General de Querétaro.

Metodología. Estudio observacional retrospectivo, realizado en el Hospital General de Querétaro durante abril 2018- abril 2019. Se recolectaron y analizaron expedientes clínicos de pacientes que estuvieron internados/hospitalizados en el Hospital con registro de infección por A. *baumannii,* en el último año.

Resultados: Hasta Enero 2019, se encontró lo siguiente: 18 reportes fueron analizados. En 4 de ellos se identificó, además de *A. baumannii, Klebsiella oxytoca, Candida albicans, Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*. 14 reportes mostraron resistencia de *A. baumannii* para más de 5 antibióticos. Se encontró que la mayoría de las muestras fueron secreciones bronquiales.

Conclusión. Existe la presencia de *A. baumannii* relacionada con infecciones nosocomiales en el Hospital General de Querétaro, y su perfil de resistencia a antibióticos es muy significativo. Este tema es nuevo en el estado, así que requiere sumamente una vigilancia epidemiológica constante.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, resistencia a antibiótico, multidrogorresistente.

Summary

Acinetobacter baumannii is a bacteria that has emerged lately as an important nosocomial pathogen, mainly affecting patients in intensive care units (ICU). The growing clinical importance of this bacteria internationally lies on its ability to acquire resistance to antibiotics extremely quickly; becoming multidrug-resistant (MDR) and causing serious therapeutic problems. In Mexico there have been few studies that aim at *Acinetobacter baumannii*.

The objective is to know the epidemiological profile of infections caused by *Acinetobacter baumannii* at the Hospital General de Querétaro. It seeks to identify the frequency of infections caused by *A. baumannii* in relation to age, sex, type of sample, hospitalization unit, among other variables.

As a methodology, clinical records of patients who were hospitalized at the Hospital General de Querétaro with a record of *A. baumannii* infection, in the last year (April 2018-April 2019), were collected and analyzed.
In the results obtained (January 2019), the following were found, among other data: 18 reports were analyzed. In 4 of them, in addition to *A. baumannii, Klebsiella oxytoca, Candida albicans, Enterobacter aerogenes* and *Escherichia coli* were identified. 14 reports showed resistance of *A. baumannii* to more than 5 antibiotics. It was found that most of the samples were bronchial secretions.
In conclusion, *A. baumannii* related to nosocomial infections is present in this hospital, and its antibiotic resistance profile is significant. This topic is new in the state, whence more studies are required in order to establish the general epidemiological profile of this bacterium in Querétaro.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, multi-drug resistant, ventilator, catheter, antibiotic, intensive care.

Introducción

Antecedentes

Acinetobacter es una Proteobacteria gamma clasificada en el orden *Pseudomonadales* y la familia *Moraxellaceae,* inmóvil, aerobio estricto; encontrado comúnmente en el suelo, agua, drenaje y unidades médicas, que crece a 20° - 30 ° C en los medios de laboratorio habituales. Pueden causar infecciones especialmente en pacientes con lesiones en la piel o tejido blando. Se han identificado más de 20 especies, principalmente *Acinetobacter baumannii (A. baumanni)*, ha surgido como importante patógeno nosocomial, adicionalmente la mayoría de las infecciones clínicas son causadas por el complejo *A. calcoaceticus-A.baumannii*, relacionado a que puede sobrevivir por largos periodos de tiempo en superficies inanimadas debido a su versatilidad para utilizar diferentes fuentes de carbono y de crecer en diferentes condiciones de humedad, pH y temperatura (Jung, J. 2015; Almasaudi, S. 2018).

A. baumanni al ser uno de los principales patógenos nosocomiales, afecta principalmente a los pacientes en unidades de cuidado intensivos (UCI) y se ha visto implicada en infecciones del torrente sanguíneo, neumonía asociada al ventilador, infección en heridas, y meningitis. Los aislamientos de *A. baumannii* son cada vez más reconocidos como patógenos resistentes a múltiples fármacos (MDR) y las UCI proporcionan un fondo ideal para los brotes nosocomiales que se reportan mundialmente. En las UCI, la prevalencia de infecciones por *A. baumannii* abarcan del 2 al 10% del total en todas las infecciones nosocomiales por bacterias gram negativas, tanto en Estados Unidos como en Europa. Se han identificado los sitios de origen en 57 a 67%, en tracto respiratorio, heridas quirúrgicas, catéteres y tracto urinario. Se han aislado muestras de *A. baumannii* en pacientes de todas las edades (incluyendo neonatos) y de ambos sexos, aunque existen algunos estudios que sugieren que son más frecuentes en hombres que en mujeres. En las UCI en Europa se ha encontrado un 30% de prevalencia de *A. baumannii* que han sido resistentes hasta para 3 diferentes tipos de antibióticos, entre los cuales están incluidos las fluoroquinolonas y los carbapenémicos (Blanco *et al*, 2018; Sileem *et al*, 2017).

Finalmente, en México se calcula que hasta el 21% de los pacientes hospitalizados presentan infecciones asociadas a los cuidados de la salud, siendo la neumonía la forma más frecuente de aparición (33.2%), seguido de las infecciones de vías urinarias (24.6%), infección del sitio de herida quirúrgica (15.5%) y bacteriemia asociada a catéter (5.8%). En un estudio que buscaba determinar la prevalencia de la resistencia a múltiples fármacos de *Acinetobacter baumannii* y otros patógenos en un hospital de enseñanza terciaria en México; se incluyeron 550 aislados clínicos de *A. baumannii* (la bacteria más aislada, seguida por algunas especies de *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa*, y finalmente 250 aislados de *Staphylococcus aureus*, recogidos durante un período de 3 años, en los cuales se encontró que 74% fueron multirresistentes.

En otro estudio realizado desde enero de 1999 a diciembre de 2011 que incluyó pacientes hospitalizados en el Hospital Civil de Guadalajara, Fray Antonio Alcalde, Jalisco, México, se aislaron muestras de *A. baumannii*. En 1999, se identificaron 18 aislamientos de *A. baumannii*, luego entre 2000 y 2001, este número aumentó a >100. En 2010, se recolectaron >500 aislamientos de *A. baumannii*. Además, se observó una disminución persistente en la susceptibilidad de los aislamientos de *A. baumannii* a meropenem (92% en 1999 a 12% en 2011), imipenem y amikacina.

La importancia clínica de esta bacteria recae en la gran capacidad que tiene para adquirir y acumular resistencia a antibióticos, lo que la lleva a ser multidrogorresistente. (Amézquita, J. 2017; Pulido *et al*, 2018).

Objetivo

Conocer el perfil epidemiológico de infecciones causadas por *A. baumannii* en el Hospital General de Querétaro. Además de identificar la frecuencia de infecciones causadas por *A. baumannii* y la unidad hospitalaria en donde se presentan.

Metodología

Se realizó un estudio observacional retrospectivo en el Hospital General de Querétaro durante el periodo Abril 2018 – Abril 2019. Se recolectaron los expedientes clínicos de pacientes que estuvieron internados/hospitalizados en la unidad hospitalaria, con registro de infección por *A. baumannii*, en el último año.

Se eliminaron aquellos expedientes en los que no se confirmó infección por *A. baumannii* mediante estudios de microbiología.

Resultados

Durante la investigación se incluyeron 18 expedientes clínicos con la presencia de infección por *A. baumanni*, en 4 de los expedientes se identificó la presencia de otro patógeno adicional de *A. baumanni*, entre los cuáles fueron: *Klebsiella oxytoca, Candida albicans, Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*.

En 3 expedientes más se encontraron 2 patógenos adicionales a *A. baumannii*, entre ellos fueron: *Pseudomonas aeruginosa, Corynebacterium amycolatum, Escherichia coli, Candida albicans* y microorganismo *spp* (Figura N°1)

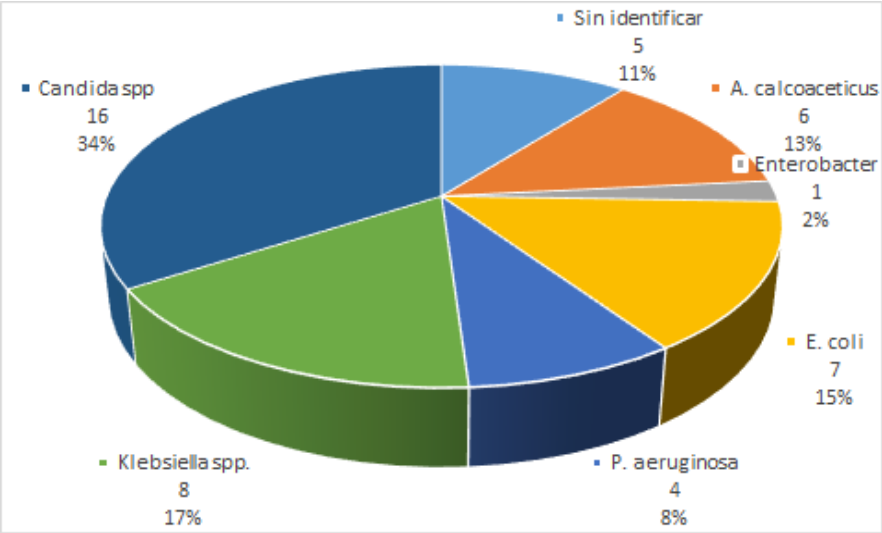


Figura N°1. Patógenos descubiertos junto con *A. baumannii* en los expedientes clínicos.

En 14 expedientes mostraron resistencia de *A. baumannii* a más de 5 antibióticos. En 5 reportes mostraron susceptibilidad a 3 antibióticos. 16 reportes mostraron resistencia al meropenem, siendo el menos efectivo de

los tratamientos a pesar de ser el de elección, seguido por el imipenem. El tratamiento más efectivo es ampicilina-sulbactam relacionado pues sólo 5 reportes mostraron resistencia.
18 reportes fueron analizados. Se encontró que la mayoría de las muestras fueron secreciones bronquiales, seguidas por secreción indeterminada. La muestra menos frecuente fue la muestra de sangre.

Discusión

Los resultados demuestran que *A. baumannii* es una bacteria que se encuentra con frecuencia en los hospitales, lo cual concuerdan con lo que reporto Rodríguez, *et al,* en el 2018.
Durante la recopilación de los resultados se observó que *A. baumannii* coexiste con el grupo de bacterias ESKAPE (*Enterococcus faecium, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa y Enterobacter spp*) y *Cándida* como infecciones nosocomiales.
Se encontró que estos microorganismos tienen características en común con *Acinetobacter baumannii* como mecanismos de resistencia contra antibióticos betalactámicos y carbapenems, mutaciones e inactivación enzimática, vías de transmisión y morfología que les ayudan a adaptarse a las condiciones hospitalarias.

Conclusión

La presencia de *A. baumannii* en el Hospital General de Querétaro es evidente, no obstante, no encontramos registros previos de investigaciones relacionadas por *A. baumannii* en el estado de Querétaro, por lo cual se requieren más estudios al respecto para poder establecer el perfil epidemiológico general de dicha bacteria en unidades hospitalarias.
Los resultados que se muestran en este trabajo son preliminares, debido a que falta analizar los factores de riesgo asociados a la infección por *A. baumanni.* La necesidad de investigación relacionada a esta bacteria es crítica, pues su capacidad de generar resistencia es muy significativa.

Referencias

- Almasaudi, S. B. (2018). Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi journal of biological sciences*, *25*(3), 586-596.
- Amézquita, J. N. R., & Camargo, E. A. (2017). Patógenos prioritarios para la investigación y desarrollo de nuevos antimicrobianos. *BOLETÍN CONAMED-OPS*, *2*(11)
- Blanco, N., Harris, A. D., Rock, C., Johnson, J. K., Pineles, L., Bonomo, R. A., ... & Thom, K. A. (2018). Risk factors and outcomes associated with multidrug-resistant a*cinetobacter baumannii* upon intensive care unit admission. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *62*(1), e01631-17.
- Duarte, A., Ferreira, S., Almeida, S., & Domingues, F. C. (2016). Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases, 45, 29-33.
- Fujikura, Y., Yuki, A., Hamamoto, T., Kawana, A., Ohkusu, K., & Matsumoto, T. (2016). Bloodstream infections caused by *Acinetobacter baumannii* group in Japan–Epidemiological and clinical investigation. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *22*(6), 366-371.
- Jaidane, N., Naas, T., Mansour, W., Radhia, B. B., Jerbi, S., Boujaafar, N., ... & Bonnin, R. A. (2018). Genomic analysis of in vivo acquired resistance to colistin and rifampicin in *Acinetobacter baumannii*. *International journal of antimicrobial agents*, *51*(2), 266-269.
- Jung, J., & Park, W. (2015). Acinetobacter species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, *99*(6), 2533-2548.
- Lee, H. Y., Hsu, S. Y., Hsu, J. F., Chen, C. L., Wang, Y. H., & Chiu, C. H. (2018). Risk factors and molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* bacteremia in neonates. *Journal of microbiology, immunology and infection*, *51*(3), 367-376.
- Liu, C. P., Chiang, T. T., Liu, Y. M., Kuo, S. C., Yang, Y. S., Lee, Y. T., ... & Chang, Y. (2018). A multicenter study on clinical characteristics of Acinetobacter bacteremia in patients with liver cirrhosis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*.
- Lynch III, J. P., Zhanel, G. G., & Clark, N. M. (2017, June). Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU: treatment options. In *Seminars in respiratory and critical care medicine*(Vol. 38, No. 03, pp. 311-325). Thieme Medical Publishers.
- Martín-Aspas, A., Guerrero-Sánchez, F. M., García-Colchero, F., Rodríguez-Roca, S., & Girón-González, J. A. (2018). Differential characteristics of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection: risk factors, clinical picture, and mortality. *Infection and Drug Resistance*, *11*, 861.

- Nasser, K., Mustafa, A. S., Khan, M. W., Purohit, P., Al-Obaid, I., Dhar, R., & Al-Fouzan, W. (2018). Draft Genome Sequences of Six Multidrug-Resistant Clinical Strains of *Acinetobacter baumannii*, Isolated at Two Major Hospitals in Kuwait. *Genome announcements*, *6*(16), e00264-18.
- Pulido, M. R., García-Quintanilla, M., Pachón, J., & McConnell, M. J. (2018). Immunization with lipopolysaccharide-free outer membrane complexes protects against *Acinetobacter baumannii* infection. *Vaccine*.
- Ramanathan, S., Suda, K. J., Fitzpatrick, M. A., Poggensee, L., LaVela, S. L., Burns, S. P., & Evans, C. T. (2017). Multidrug-resistant Acinetobacter: Risk factors and outcomes in veterans with spinal cord injuries and disorders. *American journal of infection control*, *45*(11), 1183-1189.
- Rodríguez, C. H., Nastro, M., & Famiglietti, A. (2018). Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Revista Argentina de Microbiología*.
- Sileem, A. E., Said, A. M., & Meleha, M. S. (2017). *Acinetobacter baumannii* in ICU patients: A prospective study highlighting their incidence, antibiotic sensitivity pattern and impact on ICU stay and mortality. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, *66*(4), 693-698.
- Yuan, W. L., Shen, Y. J., & Deng, D. Y. (2018). Sex bias of *Acinetobacter baumannii* nosocomial infection. *American journal of infection control*, *46*(8), 957-958.

Identificación del gen MYOC en el glaucoma primario de ángulo abierto.

García-Morales J., Jiménez-Luna N.A., Ortega-Ramírez M.G., Rodríguez-Camacho B., Zaldívar-Lelo G., Sotomayor-Villezcas V.

Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Licenciatura en Optometría, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro.

Cel. (442) 668 4408

E-mail: jessigarcia0303@gmail.com

Resumen

Objetivo: identificar familias con riesgo de desarrollar glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA), así como, estandarizar y realizar pruebas genéticas que determinen la presencia y mutación del gen MYOC. **Características del estudio:** utilizar pruebas moleculares que ayuden a conocer la predisposición que se tiene a desarrollar GPAA mediante el desarrollo de perfiles genéticos. **Metodología:** se analizarán 5 familias: 1 adulto con GPAA y 2 parientes sanos. Cada participante firmo una hoja de consentimiento informado, llenaron una hoja de recolección de datos y se les realizó exploración oftalmológica. Las muestras se tomaron mediante hisopado bucal, se realizó extracción de DNA, se probaron primers específicos para su amplificación, se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR), sus productos se analizaron por electroforesis. Falta purificar los productos obtenidos de la PCR y enviarlos a secuenciar para su respectivo análisis. **Resultados:** al momento se tienen 2 familias completas. De la extracción de DNA se obtuvo de alta calidad y con concentraciones que van de 37.7 ng/µL hasta 824.2 ng/µL. Se buscaron los primers más reportados para la amplificación de los exones 1, 2 y 3 del gen MYOC que son los que más mutaciones han presentado. **Conclusiones:** es importante realizar este tipo de estudios, ya que en el país no se cuenta con perfiles genéticos que ayuden a predecir o diagnosticar si un paciente puede desarrollar GPAA. Su diagnóstico es complejo y detectarlo a tiempo puede ayudar a mejorar la calidad de vida de los pacientes y prolongar su calidad visual.

Palabras clave: glaucoma, PCR mutación, glaucoma primario de ángulo abierto, exones, perfiles genéticos

Abstract

Objetive: to identify families at risk of developing primary open-angle glaucoma (POAG), as well as standardize and perform genetic tests to determine the presence and mutation of the MYOC gene. **Characteristics of the study:** to use molecular tests that help to know the predisposition to develop POAG through the development of genetic profiles. **Methodology:** 5 families will be analyzed: 1 adult with POAG and 2 healthy relatives. Each participant signed an informed consent form, filled out a data collection sheet, and underwent ophthalmic examination. Samples were taken by buccal swabbing, DNA extraction was performed, specific primers were tested for amplification, a polymerase chain reaction (PCR) was performed, their products were analyzed by electrophoresis. The products obtained from the PCR need to be purified and sent to be sequenced for their respective analysis. **Results:** at the moment we have 2 complete families. High quality DNA extraction was obtained with concentrations ranging from 37.7 ng/µL to 824.2 ng/µL. We searched for the most reported primers for the amplification of exons 1, 2 and 3 of the MYOC gene, which are the ones with the most mutatios. **Conclusions:** it is important to carry out this type of study, as there are no genetic profiles in the country to help predict or diagnose whether a patient can develop POAG. Its diagnosis is complex and detecting it at an early stage can help improve patients' quality of life and prolong their visual quality.

Key words: glaucoma, PCR, mutation, primary open-angle glaucoma, exons, genetic profiles.

Introducción

El glaucoma es una enfermedad neurodegenerativa lentamente progresiva y asintomática que se caracteriza por afectar de manera estructural al nervio óptico y de manera funcional al campo visual. Esto se debe a que las células ganglionares y sus axones mueren por un proceso de apoptosis (Pérez, 2014).

El glaucoma es la segunda causa de ceguera irreversible en todo el mundo, representando el 8% de ceguera en 2010 (Pascolini y Mariotti 2012; Derakhshan et al., 2019). En 2013 se registró la cantidad de 64.3 millones de personas que son poseedoras de glaucoma, esta cifra incrementará a 76.0 millones en 2020 y posteriormente a 111.8 millones en 2040 (Tham et al. 2014). En México se calculan 1.5 millones de pacientes con glaucoma, de los cuales hasta un 80 por ciento no sabe que es poseedor. García Luna reporto en 2016 que el GPAA puede costar hasta 659,000,000 USD por año a las instituciones de salud pública en México.

En el 2015 en el estado de Querétaro el programa de la Agencia Internacional para la Prevención de la Ceguera (IAPB)/VISION 2020 Latinoamérica organizo una evaluación rápida de la ceguera evitable (RAAB) en colaboración con IMO. Dicho estudio se realizó entre julio de 2015 y junio de 2016, en total fueron 5,935 sujetos (2,769 hombres y 3,166 mujeres). Se estima que en Querétaro 3,853 personas (1,754 hombres y 2,097 mujeres) mayores de 50 años tienen ceguera bilateral. En el estado los casos de ceguera y discapacidad visual severa, moderada y temprana a causa del glaucoma en personas mayores de 50 años con su mejor corrección son 7.0%, 8.5%, 4.7% y 1.5% (López-Star *et al*., 2019)

Por otra parte, se sabe que el GPAA se da por una mutación de patrón hereditario autosómico dominante. Es decir, sólo con que un progenitor padre o madre esté afecto, sus hijos tendrán un 50% de probabilidades de presentar la enfermedad. Estudios moleculares y bioquímicos han demostrado que la miocilina mutante se acumula dentro de las células de la malla trabecular en lugar de ser secretada, esto debido a un plegamiento incorrecto en la proteína. Las células de la malla sufren apoptosis por el estrés crónico que se genera en el retículo endoplásmico (ER), dicho estrés afecta su función normal, lo que genera una mayor resistencia al flujo de salida del humor acuoso y conduce a la PIO elevada, dando así, origen a la enfermedad (Jain *et al*., 2017).

De acuerdo a estudios, se estima que un 3% a 4% de los pacientes que presentan GPAA, tienen mutación en el gen MYOC (Derakhshan *et al*., 2019). Este gen tiene 3 exones, y en el tercer exón se albergan la mayoría de las mutaciones (Mendoza *et al*., 2012).

El GPAA ocasiona la mayor pérdida visual por su diagnóstico tardío. En la mayoría de los casos no presenta sintomatología alguna, pero en caso de ser detectado a tiempo y seguir un tratamiento ya sea medicamentoso o quirúrgico, existe un alto porcentaje de prevenir la ceguera (Acosta *et al*., 2015). Los síntomas que presenta un paciente con dicha patología son: pérdida gradual de la visión (visión en túnel), dolor ocular y anillos de color alrededor de las luces. Por otra parte, los signos que aporta el fondo de ojo son: palidez, excavación mayor de 0.4 a 0.6 que son sospecha de glaucoma; de 0.7 o más determinan la presencia de la patología en estado tardío, adelgazamiento del anillo neurorretiniano, hemorragias del disco óptico (pequeñas manchas frecuentemente inferotemporales de la papila) (Figura 1). Además de poder visualizar casi todas las estructuras angulares (Figura 2) (Azcona *et al*., 2015).



Figura 1. Fondo de ojo. A) visualizacion del nervio óptico glaucomatoso muestra una mayor excavación central (área central más pálida) B) nervio óptico normal.

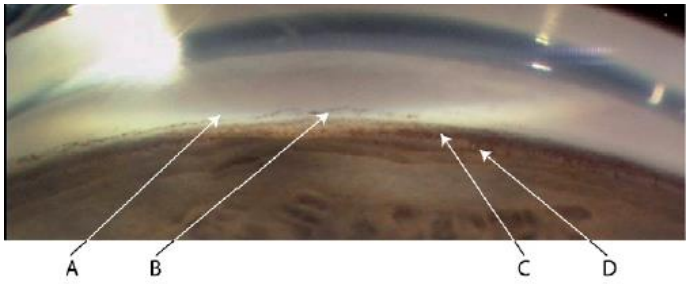


Figura 2. Gonioscopia: se aprecian las estructuras normalmente visualizadas en pacientes con GPAA A) línea de Schalwe B) malla trabecular C) espolón escleral D) cuerpo ciliar.

Metodología

Exploración clínica: Todos los participantes fueron reclutados mediante un consultorio privado. Se consideraron 5 familias; un paciente con diagnóstico clínico previo de glaucoma y dos familiares directos sanos. Cada uno se sometió a una valoración oftalmológica con el fin de determinar si podían o no participar en la investigación. Las pruebas oftalmológicas que se hicieron fueron: toma de presión intraocular con tonómetro Perkins, oftalmoscopia indirecta para verificar el porcentaje de excavación del nervio óptico y exploración de las estructuras del ángulo iridocorneal (línea de Schalwe, malla trabecular, espolón escleral y cuerpo ciliar) mediante el lente de 3 espejos.

Los procedimientos realizados no implicaron ningún riesgo para la salud de los participantes. Siguiendo las directrices de la Declaración de Helsinki sobre la investigación con fines científicos, se prosiguió a seleccionar las familias con historial de glaucoma de acuerdo con los criterios de inclusión, se informó a los pacientes en qué consistía dicho estudio, si aceptaban, se firmaba una carta de consentimiento informado para participar en el protocolo de investigación. Además de llenar una hoja de recolección de datos personales en la cual se solicitó; edad, lugar de origen, parentesco que tiene con el paciente con glaucoma, enfermedades sistémicas personales, tiempo de padecerla, el tratamiento que sigue (tiempo de uso/ dosis/horario) para su respectivo control, las enfermedades oculares personales que le han sido diagnosticadas, el tiempo de padecerla, el tratamiento que sigue (tiempo de uso/ dosis/horario) para su respectivo control, los signos y síntomas que le provocan, uso previo de lentes, la edad de inicio, la última revisión con un oftalmólogo, la presión intraocular (PIO) que tiene en el momento, si le han practicado alguna cirugía y de qué tipo, las enfermedades oculares que presentan sus familiares, y el tiempo de diagnóstico.

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios de inclusión

Paciente diagnosticado

- Adultos con diagnóstico clínico de glaucoma
- Tener valores anormales de campimetría
- Excavación amplia del nervio óptico
- Presión intraocular elevada o controlada con tratamiento
- Contar con OCT o tomografía de coherencia óptica para estimar el daño del nervio óptico y afección en capa de fibras nerviosas (opcional)
- Carta de consentimiento informado firmado

Paciente sano

- Ser familiar directo del paciente con diagnóstico de glaucoma
- No padecer glaucoma de ángulo abierto
- Carta de consentimiento informado firmado

Criterios de exclusión

No presentar glaucoma congénito y juvenil

Criterios de eliminación

Aquellos pacientes que tengan baja concentración de ADN por lo cual no se pueda realizar la PCR.

Procedimientos del estudio

Se recolectaron muestras de hisopado bucal, se deposito el hisopo en un microtubo que contiene una solucion de conservación (300 µL de TNE y 500 µL de sucrosa al 3%), se mantuvieron a temperatura ambiente por hasta un máximo de 1 mes y luego se transportaron al Laboratorio de Genética y Biología Molecular, de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Extracción de DNA

Se utilizo el método descrito por de Aidar y Line (2007). Que consiste en el aislamiento y purificación de moléculas de ADN en 4 pasos:

1) Conservación de la muestra en 500 µl de bufer TNE y 300 µl de sucrosa al 3%.
2) Lisis de la membrana celular, nuclear y mitocondrial para la liberación del DNA, utilizando 1000 µl de bufer de lisis.
3) Precipitación y eliminación de las proteínas presentes en la muestra, se utilizó proteinasa k a una concentración de 20mg/µl, se agregó 1.5 µl de la proteasa a cada muestra y se incubo a 55 ºC toda la noche (OV).
4) Se purifico y precipito el DNA utilizando, isopropanol y etanol al 70% y una incubación por al menos 1 hora a -80º, posteriormente se realizaron una serie de centrifugaciones para eliminar cualquier residuo de impureza. Después de agregar el último paso de etanol al 70 % y centrifugar, se decanta el etanol y se deja secar a temperatura ambiente al menos 15 minutos. Finalmente se rehidrata el DNA con 50 µl de agua libre de endonucleasas y se conserva a -20 ºC hasta su posterior uso en la PCR.

Se probaron los primers para el exón 1, exón 2 y exón 3 del gen MYOC en el DNA de uno de los colaboradores, se logró la amplificación de los 3 exones del gen MYOC, previamente reportados por Jun Chen, Su-ping Cai y Xiao-Min Zhou usando la PCR. Aun no se ha purificado el producto obtenido de la PCR, pero esto permitirá identificar las mutaciones presentes en el gen, después el producto se enviará a secuenciar y al final se analizarán los datos obtenidos. Esto con el fin de identificar mutaciones previamente identificadas en poblaciones de otros países, las cuales han sido asociadas al desarrollo o presencia de GPAA.

Resultados

Al momento de las 5 familias contempladas en el estudio: 2 familias (un paciente con glaucoma y 2 parientes) han cumplido con la toma de muestras de hisopado bucal, consentimientos informados firmados y hojas de recolección de datos llenas, así como, cumplir con la concentración y calidad necesaria del DNA. De las demás familias falta un paciente con diagnóstico clínico de glaucoma y en las 2 restantes, un integrante de cada una sin datos patológicos. Estos 4 participantes faltan por acudir a la toma de muestra, firma de autorización para poder trabajar en laboratorio con su muestra y el llenado de la hoja de recolección de datos personales y de antecedentes heredofamiliares.

Tabla 1. Medición de las muestras de DNA en NanoDrop (valor alto, medio y bajo)

Concentración de DNA	Calidad de DNA Relación A260/a280
824.2 ng/µL	2.09
171.7 ng/µL	2.00
37.7 ng/µL	1.97

Tabla 2. Primers usados en PCR para la amplificación del exón 1, exón 2 y exón 3 del gen MYOC

Nombre	Secuencia
EXON1F	CCAAACAGACTTCTGGAAGG
EXON1R	TAGCAGGTCACTACGAGCC
EXON2F	TGTCATCCTCAACATAGTCA
EXON2R	TTCTGTTCCTCTTCTCCTC
EXON3F	CCAGGGCTGTCACATCTACT
EXON3R	CATCTCCTTCTGCCATTGC

Conclusión

Es importante realizar este tipo de estudios, ya que en el país existen escasos datos epidemiológicos sobre el GPAA pero aún no se cuenta con perfiles genéticos que ayuden a predecir o diagnosticar si un paciente puede desarrollar GPAA y aunque este tipo de estudios se han realizado en otros paises como India, China, etc. y se han identificado mutaciones con relación al desarrollo de GPAA, en nuestro país la genética es muy variada, es por ello que es importante saber si se presentan las mismas mutaciones y si se pueden utilizar como un método predictivo, sobre todo porque el GPAA por lo general se diagnostica de manera tardía, su diagnóstico es complejo y detectarlo a tiempo puede

ayudar a mejorar la calidad de vida de los pacientes y prolongar su calidad visual. Además, de que esto podría ayudar a disminuir la carga económica que se genera por año a las instituciones de salud pública en México a causa de las secuelas en la visión.

Referencia

1. Acosta, M. T., Carrasco, F. G., Román, J. J., & Llerandi, C. G. I. (2015). Estudio comparativo de la determinación de la fluctuación de la presión intraocular, entre curva tensional horaria, prueba de sobrecarga hídrica y el método de estimación de la presión intraocular (Borrone), en pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto en un hospital de concentración. *Revista Mexicana de Oftalmología*, *89*(2), 95-100.Argento, C. (2007). *Oftalmología General: Introducción para el especialista*. Corpus.
2. Aidar, M., & Line, S. R. P. (2007). A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Brazilian dental journal*, *18*(2), 148-152.
3. Azcona-Cruz, M. I., del Carmen Ríos-Lobo, M., & Amador-Jiménez, S. (2015). Glaucoma: Aspectos Relevantes para la Detección Oportuna. *Revista Salud y Administración*, *2*(4), 23-35.
4. Cai, S. P., Muhemaiti, P., Yin, Y., Cheng, H., Di Ya, A., Keyimu, M., ... & Zhou, X. (2012). A novel MYOC heterzygous mutation identified in a Chinese Uygur pedigree with primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, *18*, 1944.
5. Chen, J., Cai, S. P., Yu, W., Yan, N., Tang, L., Chen, X., & Liu, X. (2011). Sequence analysis of MYOC and CYP1B1 in a Chinese pedigree of primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*, *17*, 1431.
6. Derakhshan, A., Tavakkol-Afshari, J., Abadi, J. S. A., Ansari-Astaneh, M. R., Derakhshan, A. R., Nikpoor, A. R., & Rad, S. S. (2019). Association of the Myocilin Gene Polymorphism With Primary Open Angle Glaucoma. *Medical Hypothesis, Discovery and Innovation in Ophthalmology*, *8*(1), 28.
7. Gálvez-Rosas, A. (2014). Aspectos genéticos del glaucoma primario de ángulo abierto en el adulto. *Investigación en Discapacidad*, *3*(2), 69-76.
8. Jain, A., Zode, G., Kasetti, R. B., Ran, F. A., Yan, W., Sharma, T. P., ... & Clark, A. F. (2017). CRISPR-Cas9–based treatment of myocilin-associated glaucoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(42), 11199-11204.
9. López-Star, E. M., Allison-Eckert, K., Limburg, H., & Brea-Rodríguez, I. (2019). Evaluación rápida de la ceguera evitable, incluida la retinopatía diabética, en Querétaro, México. *Revista Mexicana de Oftalmología*, *92*(2), 84-93.
10. Martínez, J. E. E. G. L., Ibarra, A. A. M., Arpio, C. A. R., Elizondo, L. E. F., Lugo, J. D. G., García, A. L. D., ... & Villarreal, R. V. (2016). El impacto socioeconómico del glaucoma primario de ángulo abierto en México. *Revista Mexicana de Oftalmología*, *90*(5), 215-222.
11. Mendoza-Reinoso, V., Patil, T. S., Guevara-Fujita, M. L., Fernández, S., Vargas, E., Castillo-Herrera, W., ... & Fujita, R. (2012). Novel and known MYOC exon 3 mutations in an admixed Peruvian primary open-angle glaucoma population. *Molecular vision*, *18*, 2067.
12. Pascolini D & Mariotti SP (2012): Global estimates of visual impairment: 2010. *Br J Ophthalmol* 96:614– 8.
13. Pérez Díaz, L. (2014). El glaucoma: un problema de salud mundial por su frecuencia y evolución hacia la ceguera. *Medisan*, *18*(2), 249-262.
14. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T & Cheng CY (2014): Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. Ophthalmology 121: 2081– 90.

15. Zhou, X. M., Yin, Y., Fan, N., Cheng, H. B., Li, X. H., Wang, Y., ... & Liu, X. Y. (2013). Single nucleotide polymorphism of MYOC affected the severity of primary open angle glaucoma. *International journal of ophthalmology*, *6*(3), 264.

C. ALBICANS EN CONDUCTOS RADICULARES DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II

Alejandra Hernández Gracián [1]; Rocio de la Torre Luna[1,2]; Rosa Martha Pérez Serrano[1,2]; Irak Osiris Villareal Vera[2]; Santiago Andaracua Garcia[2]; Rubén Abraham Domínguez Pérez[1,2].

Correo: graleher@gmail.com; dominguez.ra@uaq.mx

[1]Laboratorio Multidisciplinario de Investigación Odontológica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro. México

[2]Clínica de Endodoncia del programa de Especialidad en Endodoncia. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro.

Resumen

La presente investigación se realizó con el objetivo de identificar la frecuencia de *C. albicans* en conductos radiculares de pacientes que padecen diabetes mellitus tipo II, tomando como grupo control conductos radiculares de pacientes aparentemente sanos sin diabetes mellitus. Hasta la fecha, no existen otros trabajos que asocien la presencia de *C. albicans* en conductos radiculares con pacientes que padezcan o no diabetes mellitus.

La metodología consistió en invitar a participar a sujetos aparentemente sanos (sin diabetes mellitus) y sujetos con diagnóstico de diabetes mellitus tipo II que requirieran atención endodóntica. Se obtuvieron muestras durante su tratamiento endodóntico, se aisló el ADN. Se identificó la presencia de *C. albicans* a través de PCR y electroforesis, para finalmente analizar los datos.

Se identificó con mayor frecuencia a *C. albicans* en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo II comparado con el grupo de pacientes sin diabetes mellitus, lo cual podría repercutir en el éxito del tratamiento endodóntico en este grupo de pacientes comprometidos. Se debe recordar que cada paciente posee factores biológicos individuales, por lo que en endodoncia, los tratamientos deberán ser personalizados.

Palabras clave

C. albicans, conducto radicular, endodoncia, diabetes mellitus.

Summary

The present investigation was carried out with the objective of identifying the frequency of *C.*

albicans in root canals of patients with type II diabetes mellitus. Root canal samples of apparently healthy patients without diabetes mellitus was taken as a control group. To date, there are no other investigations that associate the presence of *C. albicans* in root canals with patients suffering from diabetes mellitus or not.

The methodology consisted in inviting the participation of apparently healthy subjects (without diabetes mellitus) and subjects with a diagnosis of type II diabetes mellitus that required endodontic atention. Samples were obtained during endodontic treatment, DNA was isolated. The presence of *C. albicans* was identified through PCR and electrophoresis, to finally analyze the data.

C. albicans was most frequently identified in the group of patients with diabetes mellitus compared to the group of patients without diabetes mellitus, which may have an impact on the success of endodontic treatment in this group of compromised patients. It should be remembered that each patient has individual biological factors, so in endodontics, treatments should be personalized.

Key words

C. albicans, root canal, endodontics, diabetes mellitus.

Introducción

C. albicans, es un comensal fúngico que comúnmente puede encontrarse en boca, sistema digestivo, piel y genitales de individuos sanos (Seneviratne, Jin y Samaranayake, 2008; Hall y Gow, 2013), además de que se ha reportado con mayor frecuencia en conductos tratados endodónticamente con lesiones perirradiculares, por lo que se considera uno de los factores etiológicos del fracaso endodóntico (Nair, 2006).

Existen una serie de factores que favorecen la colonización por éste hongo, como es la reducción en la cantidad de saliva y de sus componentes, como las lisozimas e inmunoglobulinas A específicamente, lo que favorece la adhesión del hongo en boca de pacientes diabéticos (Ben-Aryeh, Serouya, Kanter Szargel y Laufer, 1993). El tipo de diabetes mellitus, tiempo de evolución de la enfermedad, la concentración de glucosa, y el hecho de que algún paciente porte alguna prótesis dental, son factores que contribuyen a su desarrollo (Dorocka-Bobkowska, Budtz-Jörgensen y Włoch, 1996; Hill, Tan, Pereira y Embil, 1989).

Es conocido ampliamente que concentraciones altas de glucosa en saliva de pacientes diabéticos favorecen el desarrollo del hongo (Soysa, Samaranayake y Ellepola, 2006).

Hostetter (1990) da a conocer que existe mayor expresión de proteínas en *C. albicans* cuando se incrementa la concentración de glucosa en sangre.

Éste autor observó, que *C. albicans* expresa una proteína inducida por glucosa (iC3b), la cual es estructural y funcionalmente homologa a un receptor que tienen los fagocitos de mamíferos (C3), por lo que iC3b promueve la adhesión del hongo y sobrevive ante los fagocitos, debido a que se inhibe la fijación de C3 a la superficie del hongo, afectándose de éste modo la opsonización. Por otro lado se ha reportado que *C. albicans* posee como característica, promover su virulencia en un ambiente hipoglucémico (Hostetter, 1990).

La diabetes mellitus es un desorden metabólico, caracterizado por alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, que puede deberse a una absoluta deficiencia de insulina (diabetes mellitus tipo I/insulinodependiente) o a la resistencia de los tejidos diana por efecto del metabolismo celular (tipo II/no insulinodependiente) (Vernillo, 2001).

En el 2011, se reportaron 366 millones de personas con diabetes mellitus en todo el mundo y se espera que incremente el número a 552 millones en el 2030 (Cintra et al., 2014)

Los pacientes diabéticos constituyen uno de los problemas de salud con mayor incidencia y prevalencia por su enorme repercusión sistémica y bucal, por lo que es necesario conocer la frecuencia con la que se presenta *C. albicans* en conductos radiculares de pacientes con diabetes. Su identificación y alta prevalencia impactaría directamente sobre el pronóstico del tratamiento endodóntico. Los resultados podrían impulsar el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, de manera que el especialista tendrá las herramientas necesarias que le permitan prevenir y tratar oportunamente a estos pacientes.

Por todo lo anterior el objetivo de este estudio fue Determinar la frecuencia con que se presencia de *C. albicans* en conductos radiculares de pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo II.

Metodología

Población

La investigación se llevó a cabo a partir de muestras tomadas de conductos radiculares de piezas dentales en pacientes aparentemente sanos (sin diabetes) y pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo II.

Tamaño de la muestra

Conductos radiculares n=47. Grupo 1 (n=26): pacientes sistémicamente sanos. Grupo 2 (n=21): pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo II.

Preparación de la muestra

1. Las muestras se recolectaron con asepsia estricta previo a la realizacion del tratamiento de conductos.
2. Los tubos eppendorf bien cerrados y marcados se sometieron a congelación.

Una vez realizado esto, se siguió con todo el protocolo del tratamiento endodóntico.

Procedimientos de laboratorio

1. Aislamiento de ADN.

Tabla 1. Distribución y porcentaje de *C. albicans* en los grupos.

Grupo	Grupo sujetos sanos (n=26)	Grupo sujetos diabéticos (n=21)	Valor de p
Frecuencia (%)			
Presencia de *C. albicans*	4 (15.38)	7(33.33)	0.1807

Se realizó el aislamiento de ADN de las 47 muestras con la siguiente técnica: Cada muestra se concentró en un pellet centrifugado a 13,000 rpm durante 10 minutos, este pellet se lavó 3 veces con PBS. Se lisó la pared bacteriana utilizando mutanolisina a 50°C durante una hora. Se precipitaron las proteínas agregando acetato de amonio y centrifugando a 13,000 rpm durante 10 minutos. Se purificó el ADN empleando fenol-cloroformo-alcohol isoamílico. Se lavó el ADN con etanol al 70%, se secó y rehidrató en agua destilada estéril. Se cuantificó la concentración de ADN utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop 2000). Aquellas muestras en donde al menos se concentraron 50 ng/µL se almacenaron a -80 °C hasta su utilización.

2. PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa)

Se realizó PCR a las muestras utilizando primers específicos (Fwrd: GCCGGTGACGACGCTCCAAGAGCTG; Rvs: CCGTGTTCAATTGGGTATCTCAAGGTC, temperatura de alineamiento: 95°C, 158 pb) en reacciones de 25 µL, la reacción se realizó colocando 13.3 µL de agua bidestilada estéril, 2.5 µL de solución Buffer, 1.2 µL de Mg, 0.5 µL de dNTP's, 0.75 µL de cada uno de los oligonucleótidos, 1 µL de Taq y 5 µL del ADN previamente aislado.

3. Electroforesis

El producto de este PCR se cargó en geles de agarosa al 2% y se sometió a electroforesis. Se tiñó el gel con bromuro de etidio y se observó en una fotodocumentador UV. Se identificó y documentó la presencia o ausencia de barras en el gel.

Resultados y discusión

En la Tabla 1, se muestra la frecuencia y porcentaje de *C. albicans* en relación al grupo de sujetos aparentemente sanos (sin diabetes mellitus) y diabéticos, existiendo mayor frecuencia, más del doble, en el grupo de pacientes diabéticos, sin embargo no se encontró diferencia significativa al realizar el análisis estadístico. La significancia estadística se fijó en $p < 0.05$ según la Prueba de Fisher.

En la Figura 1 se muestra una imagen representativa de un gel de electroforesis obtenida con un fotodocumentador ultravioleta.

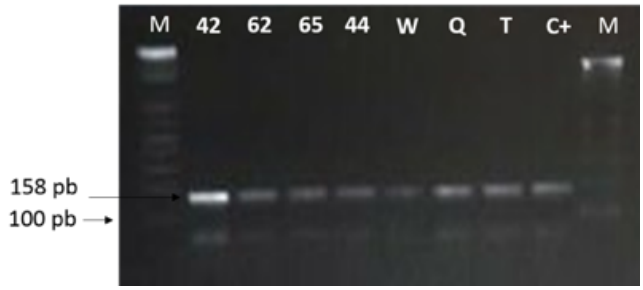


Figura 1. Confirmación de *C. albicans* en diversas muestras por electroforesis.

Se observó que existe con mayor frecuencia la presencia de *C. albicans* en conductos radiculares en el grupo de pacientes diabéticos. Esta mayor frecuencia se podría atribuir a la gran afinidad que existe entre *C. albicans* y la glucosa, ya que al aumentarse la concentración de glucosa en sangre, se incrementa la expresión de proteínas en la matriz citoplasmática y la membrana del hongo, generándose mayor adhesión, filamentación y virulencia del hongo (Brown, Sexton y Johnston, 2006).

Conclusiones

Además de todas la implicaciones en la salud general que padecen las personas que viven con diabetes mellitus, este trabajo exploratorio da evidencia de que el padecer diabetes también hace susceptible a la persona para que durante una infección odontológica, específicamente endodóntica esta se pueda encontrar complicada por la presencia de *C. albicans*, lo que puede complicar su tratamiento y poner en riesgo el tratamiento endodóntico. Todos los odontólogos deben tener esto en cuenta al momento de tratar a un paciente con diabetes mellitus.

Referencias bibliográficas

Ben-Aryeh H., Serouya R., Kanter Y., Szargel R., Laufer D. (1993). Oral health and salivary composition in diabetic patients. *J Diabetes Complications, (1)*:57–62.

Brown V., Sexton J.A., Johnston M. (2006). A Glucose Sensor in Candida albicans. *Eukaryot Cell, 5(10)*:1726-37.

Cintra L.T.A., Da Silva Facundo A.C., Prieto A.K.C., Sumida D.H., Narciso L.G., Mogami Bomfim S.R., et al. (2014). Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endod, 40(8)*:1139–44.

Dorocka-Bobkowska B., Budtz-Jörgensen E., Włoch S. (1996). Non-insulin-dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. *J Oral Pathol Med, 25(8)*:411–5.

Hall R.A., Gow N.A.R. (2013). Mannosylation in candida albicans: Role in cell wall function and immune recognition. *Mol Microbiol. 90(6)*:1147–61.

Hill L.V., Tan M.H., Pereira L.H., Embil J.A. (1989). Association of oral candidiasis with diabetic control. *J Clin Pathol, 42(5)*:502–5.

Hostetter M.K. (1990). Handicaps to Host Defense: Effects of Hyperglycemia on C3 and Candida albicans. *Diabetes, 39(3)*:271–5.

Hostetter M.K. (1990) Perspectives in Diabetes Handicaps to Host Defense. *Diabetes, 39(3)*:271–5.

Nair P.N. (2006). On the Causes of Persistent Apical Periodontitis: a review. *Int Endod J, 39(4):* 249–81.

Seneviratne C.J., Jin L., Samaranayake L.P. (2008). Biofilm lifestyle of Candida: a mini review. *Oral Dis, 4(7)*:582–90.

Soysa N.S., Samaranayake L.P., Ellepola A.N.B. (2006). Diabetes mellitus as a contributory factor in oral candidosis. *Diabet Med, 23(5)*:455–9.

Vernillo A.T. (2001). Diabetes mellitus: Relevance to dental treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 91(3)*:263–70.

PREVALENCIA DE TROMBÓLISIS EN EL EVENTO VASCULAR CEREBRAL ISQUÉMICO.

Autor: Rocío Luis Díaz rocio_mi@hotmail.com
Asesores: Martha Leticia Martínez Martínez UAQ letymar1510@gmail.com, Claudia Garduño Rodriguez IMSS garclauro@gmail.com

Resumen

Introducción: El evento vascular cerebral (EVC) tiene alta prevalencia. Es la primera causa de incapacidad en adulto y la tercera de muerte en personas mayores de 65 años. La trombólisis es el tratamiento de elección y solo entre el 1 y el 3% de los pacientes reciben este manejo. Objetivo. Determinar la prevalencia del manejo con trombólisis en el evento vascular cerebral isquémico. Material y métodos. Se realizó un estudio transversal descriptivo mediante la revisión de expedientes de pacientes con diagnóstico de EVC isquémico ingresados en el servicio de Urgencias del Hospital General Regional No 1, del IMSS, Querétaro, en el periodo comprendido de enero 2016 a diciembre 2018. Resultados: Se realizó la revisión de 156 expedientes, con predominio del sexo femenino 53.2%. El promedio de edad de 66.96 ± 12 años (37-87). El 16.7% recibió tratamiento trombolítico. El 46.2% pacientes identificaron los síntomas, 29.5% buscaron atención médica oportuna. Se trasladaron en ambulancia al hospital en un 14.7%. Dentro del triaje solo el 31% fueron clasificados con color rojo. Del total de los pacientes el 94.9% obtuvieron una impresión diagnostica acertada en la nota inicial. La valoración con la escala NIHSS fue aplicada en el 59% durante la exploración inicial. El tiempo promedio síntoma-puerta fue de 1224 ± 2370 min y el tiempo puerta-TAC fue 291 ± 515 min. El tiempo promedio puerta-aguja fue de 77 ± 36 min. El medicamento rtPA se utilizó en el 96.2% de los pacientes trombolizados. Conclusiones: La prevalencia de la trombólisis en el HGR1 Querétaro, es más alta que la media nacional, sin embargo, un alto porcentaje de pacientes aún quedan fuera del tratamiento de elección.

Summary

Introduction: The cerebral vascular event (EVC) has a high prevalence. It is the first cause of disability in adults, the third cause of death in people over 65 years. Thrombolysis is the treatment of choice. As described in the literature only between 1 and 3% of patients are treated with thrombolysis. Objective: To determine the prevalence of thrombolysis management in the ischemic cerebral vascular event. Material and methods. A descriptive cross-sectional study was carried out by reviewing records of patients with a diagnosis of ischemic CVD admitted to the Emergency Department of the Regional General Hospital No. 1, of the IMSS, Querétaro, in the period from January 2016 to December 2018. Material and methods. A descriptive transversal study was carried out by reviewing records of patients with a diagnosis of ischemic stroke admitted to the Emergency Department of the Regional General Hospital No. 1, of the IMSS, Querétaro, in the period from January 2016 to December 2018. Results: A review of 156 files were carried out, with a female predominance with 53.2%. An average age of 66.96 ± 12 years (37-87) was found. 16.7% received thrombolytic treatment. The frequency with which patients identify symptoms is 46.2%; 29.5% souhgt medical attention without delay. 14.7% were transferred to the hospital by ambulance. Within the triage only 31% were classified with red. Of the total of the patients 94.9% obtained a correct diagnostic impression in the initial note. The assessment with the NIHSS scale was applied at 59% during the initial examination. The average symptom-door time was 1224 ± 2370 min and the door-CT time was 291 ± 515min. The average door-needle time was 77 ± 36 min. The drug rtPA was used in 96.2% of thrombolized patients. Conclusions: The prevalence of thrombolysis in HGR1 Querétaro is higher than the national average, however, a high percentage of patients are still out of the treatment of choice.

Palabras clave: Accidente cerebrovascular, trombólisis, isquemia cerebral.
Keywords: stroke, thrombolysis, brain ischemia

Introducción

El evento cerebral vascular representa un problema global tanto de salud como económico; tiene una prevalencia de 115 a 150 por cada 100,000 habitantes. El 85% de los eventos cerebrales vasculares (EVC) son isquémicos. (Stroke Association , 2016) Es la primera causa de incapacidad en adulto, la segunda causa de demencia, la sexta causa de muerte en México y la tercera en personas mayores de 65 años (Góngora, 2015).

En países en desarrollo, se estima que el costo de atención por la enfermedad vascular cerebral es de 6000 a 8000 euros, además de los costos sociales como los cuidados informales y las alteraciones en la dinámica familiar en torno a los pacientes (Rivera, et al., 2012)

La trombólisis es el tratamiento de elección durante el evento agudo, éste sólo puede ser aplicado durante las primeras 4.5 horas de inicio de sintomatología (Markku, et al., 2008). Sin embargo, en México sólo el 1-3% de los pacientes cursando EVC isquémico reciben tratamiento trombolítico (Molina & Saver , 2006). Ante la utilización de trombólisis se ha demostrado la disminución de 34 a un 54% el grado de discapacidad de los pacientes, en el seguimiento a 90 días, con una relación costo-beneficio notablemente ventajosa. (Pablo, et al., 2008)

En la actualidad la gran mayoría de pacientes no reciben trombólisis debido a que no se encuentran en tiempo adecuado para su aplicación. Existen múltiples factores prehospitalarios y hospitalarios que influyen a que los pacientes no sean candidatos a este manejo. La respuesta de la cadena de atención en los pacientes cursando EVC isquémico inicia en el medio prehospitalario y es de suma importancia para lograr la aplicación de trombólisis como tratamiento. Dentro de los factores que más influyen en los tiempos de atención se encuentran, la asociación de los síntomas con un evento vascular cerebral, el retardo en la solicitud de atención médica. Asimismo, el traslado en ambulancia asegura una llegada más rápida al hospital con respecto al uso de vehículo particular, además de que éste condiciona un llamado de atención hacia el médico de primer contacto. Las características intrahospitalarios están en relación a la clasificación triaje, la evaluación neurológica inmediata incluyendo escala NIHSS, la realización e interpretación de la tomografía de cráneo simple. Los anteriores están descritos como factores que influyen en el otorgamiento de trombólisis en los pacientes cursando un EVC isquémico.

Por la falta de conocimiento en nuestra delegación de la aplicación del tratamiento con trombolítico para el evento vascular cerebral isquémico se procedió a determinar la prevalencia de éste, así como determinar el porcentaje de personas o familiares que identifican los datos clínicos del EVC, describir el tipo de traslado utilizado por pacientes cursando EVC isquémico; medir el tiempo de arribo hospitalario posterior al inicio de los síntomas de pacientes cursando EVC isquémico; determinar el triage utilizado en pacientes cursando EVC isquémico.

Metodología.

Se realizó un estudio transversal descriptivo con la revisión de 156 expedientes pendientes de pacientes con diagnóstico de evento cerebral vascular ingresados en el servicio de Urgencias el HGRNo1, IMSS, Querétaro, del 2016 al 2018 adultos. Se estudiaron variables sociodemográficas (edad y sexo), identificación de síntomas por parte del paciente y/o familiar, solicitud de atención médica oportuna, medio por el cual se realizó el traslado al hospital, tiempo de arribo a la unidad posterior a inicio de síntomas, clasificación de triaje otorgada, la consignación de sospecha diagnóstica en nota inicial, la valoración neurológica a través de la escala NIHSS, el tiempo de realización de la tomografía, el manejo con trombólisis, el tiempo de puerta TAC y puerta aguja y finalmente el tiempo de inicio de síntomas al tiempo aguja. Al contar con la

información se aplicó estadística descriptiva mediante medidas de tendencia central.

Resultados

Se realizó la revisión de 156 expedientes todos con diagnóstico de EVC isquémico, confirmado tomográficamente. El promedio de edad fue de 66.96 ± 12 (37-87) años. La distribución por género fue de 53.2% (83) mujeres.

La frecuencia con la que los pacientes identificaron los síntomas es de un 46.2% (72) (cuadro 1); solicitaron atención médica oportuna 29.5% (46) (cuadro 2) y se realizó traslado al hospital mediante ambulancia en 14.7% (23) (cuadro 3).

Cuadro 1. Frecuencia de identificación de síntomas

Identificación de síntomas	Frecuencia	Porcentaje
Si	72	46.2
No	84	**53.8**
Total	156	100

Fuente: Expedientes de pacientes con diagnóstico de Accidente vascular cerebral, del 2016 al 2018.

Cuadro 2. Frecuencia de solicitud de atención médica oportuna.

Solicitó atención medica de forma oportuna	Frecuencia	Porcentaje
Si	46	29.5
No	110	**70.5**
Total	156	100

Fuente: Expedientes de pacientes con diagnóstico de Accidente vascular cerebral, del 2016 al 2018.

Cuadro 3. Frecuencia del traslado en ambulancia

Se trasladó en ambulancia.	Frecuencia	Porcentaje
Si	23	14.7
No	133	**85.3**
Total	156	100

Fuente: Expedientes de pacientes con diagnóstico de Accidente vascular cerebral, del 2016 al 2018.

Dentro de la clasificación triaje usada en el hospital, sólo el 32.1% (50) de los pacientes fueron clasificados con color rojo.

Del total de los pacientes el 94.9% (148) obtuvieron una impresión diagnostica acertada en la nota inicial. La valoración con la escala neurológica NIHSS fue aplicada en la exploración inicial al 59% (92).

El tiempo síntoma-puerta fue de 1229 ± 2377 min (18-17280). El tiempo promedio puerta-TAC fue de 292 ± 517 min (5-4817min).

La frecuencia de la trombólisis fue del 16.7% (26 pacientes) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Frecuencia de la aplicación de trombolisis

Se aplicó trombólisis	Frecuencia	Porcentaje
Si	26	**16.7**
No	130	83.3
Total	156	100

Fuente: Expedientes de pacientes con diagnóstico de Accidente vascular cerebral, del 2016 al 2018.

De los pacientes trombolizados 57.7% (15) fueron mujeres y el 42.3% (11) hombres. El promedio de edad fue de 66.96 ±12.36 años (37-87).

De los pacientes que recibieron tratamiento con trombolítico el 96.2% (25) identificó los síntomas y solicitaron atención médica oportuna; el 45.2% (12) fue trasladado en ambulancia.

De los pacientes que recibieron trombólisis, el 76.9% fueron clasificados como rojos en el triaje y 23.1% (6) naranja, ninguna otra clasificación se utilizó en este grupo de pacientes. Se realizó una adecuada sospecha diagnóstica en el 100% de los pacientes, consignándolo en la nota inicial. Asimismo, el total de los pacientes fueron valorados con escala NIHSS en la evaluación primaria.

El medicamento rtPA se utilizó en 25 de los 26 pacientes trombolizados representando un 96.2%.

Finalmente, en esta misma población de pacientes que recibieron trombólisis el tiempo promedio de inicio de síntomas y el arribo al servicio de urgencias fue de 66 ± 40 min (18-174). El tiempo puerta-TAC fue 34± 22min (11-101) El tiempo

puerta-aguja fue de 77 ± 36 min (20-137), el tiempo síntoma-aguja fue de 162 ± 54 min (57-250).

Discusión

En este estudio la prevalencia de la trobólisis fue de 16.4%, mayor a la reportada de forma nacional e internacional por ejemplo: comparada con la prevalencia del 2.1 reportado por Young y colaboradores en Corea; la tasa de trombólisis de 3.8% reportada en el estudio "Trombólisis intravenosa en accidente cerebro vascular isquémico agudo en un hospital público en Chile; Análisis prospectivo de 54 casos". Está ampliamente discordante con la reportada en un estudio similar realizado en el norte de México donde se determinó una prevalencia del 5%. (Resendo, Cruz, & Trejo, 2010). Sin embargo cabe resaltar en el Hospital estudiado ya se han implementado algunas medidas para mejorar el protocolo de atención del EVC, esto podría sugerir que al igual que en Escocia donde hubo un incremento en el uso de tratamiento trombolítico del 1.8% en el 2008 al 12.2% en el 2014 posterior a la mejoría de la respuesta intra y extrahospitalaria (Stroke Association , 2016).

Los datos socio-demográficos encontrados son muy similares a los reportados en estudios previos, con un valor porcentual muy cerca del 50% para hombres y mujeres, con una variabilidad de edad de 6 años en el rango de edad de los pacientes estudiados. (Guevara, et al., 2016).

Los estudios realizados nos permitieron evaluar las características de los pacientes trombolizados y determinar que en nuestra población estudiada tal como se reporta en otros estudios también existen factores que se asocian al retraso de un tratamiento médico efectivo (Everson, Foraker, Morris, & Rosamond, 2009) resultado similar al reportado por Lindsberg y colaboradores, concordando que los pacientes trombolizados son aquellos que cuentan con menor retraso en la atención y diagnóstico.

En lo que respecta a síntomas y síntomas relacionados a EVC, en el HGRNo 1 Querétaro, un 46.2% del total de los pacientes hizo un adecuado reconocimiento de éstos. Este es un resultado similar al obtenido en la Ciudad de México donde el 37% de la población reconoce los datos de alarma, pero solo 2.1% puede nombrar 3 o más manifestaciones (Mario, 2019). En comparación otro estudio reporta que sólo el 16.9% identificaron los sintomas iniciales (Jiang, Ru, Sun H, Nieto , & Navarrete, 2016). Además, en nuestro estudio se determinó que de la población estudiada el 46.2% que reconoce síntomas solo el 29.5% solicita atención médica de forma oportuna; poniendo en evidencia que la población estudiada no asocia los síntomas del evento vascular cerebral, con una urgencia médica.

En estudios previos se ha demostrado que en un 50% el retardo de atención, sucede en el prehospital y este representa un retraso de 3 a 4 horas. (Everson, Foraker, Morris, & Rosamond, 2009). En nuestro estudio los pacientes llegan en promedio con un tiempo de inicio de síntomas de casi 20 horas; lo cual deja excluido a un gran porcentaje de pacientes para ser considerados para la terapia trombolítica.

El tiempo síntoma-aguja fue de 162 minutos también mayor en comparación con otros estudios de países centro y sudamericanos. El tiempo síntoma-puerta fue de 66 minutos comparado con el 62.7 en Bolivia (Mario, 2019). El tiempo puerta-aguja fue de 77 minutos lo que representa 17 minutos mayor a la recomendación realizada por las guías de la American Heart Association la cual refiere debe ser menor a 60 minutos

Conclusiones

La frecuencia de la trombólísis es mayor a la reportada de forma nacional e internacional. Menos del 50% de los pacientes y/o familiares identificaron los síntomas asociados al evento vascular cerebral. Solo el 14.7% realizó traslado en ambulancia. El tiempo síntoma-puerta promedio es mayor al tiempo de ventana para la aplicación del trombolítico. El máximo nivel de gravedad según el triaje únicamente se otorgó al 32.1% del total de los pacientes. El tiempo promedio puerta-TAC superó a los 20 minutos recomendados por las guías AHA.

Referencias

Arauz, A., & Ruiz-Franco, A. (2012). *Enfermedad vascular cerebral.* Revista de la Facultad de Medicina UNAM.

Stroke Association . (2016). State of the nation: Stroke statistics. *Stroke*.

Meschia, J., Bushnell, C., & Boden-Albala, B. (2014). Guidelines for the primary prevention of stroke: a statemente for healthfcare professionals from the American Heart Association. *Stroke*, 046.

Gongora, F. (2015). Perspective on stgroke in México *Medicina Universitaria* , 184-187.

Saver, J., Smith, E., & Fonarow, G. (2010). The "golden hour" and acute brain ischemia: presenting features an lytic therapy in > 30,00 patients arriving within 60 minutes of stroke onset. . *Stroke*, 1431-1439.

Jauch, E., Saver, J., & Adams, J. (2013). Guidelines for the early managment of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association. . *Stroke*, 870-947.

Everson, K., Foraker, R., Morris, D., & Rosamond, W. (2009). a comprehensive review of prehospital and in-hospital delay times in acute stroke care. . *Inernational Journal of Stroke*, 187-199.

Fassbender, K., Balucani, C., Walter, S., Levine, S., Haass, A., & Grotta, J. (2013). Streaminlinig of prehospital stroke managment: the golden hour. *The Lancet Neurology*, 585-596.

Mohammad, Y. (2008). Mode of arrival to the emergency department of stroke patients in the United States. *Journal of vascualr and interventional neyurology* , 83.

Patel, M., Rose, K., O'Brien, E., & Rosamond, W. (2011). Prehospital notification by emergency medical services reduces delays in stroke evaluation: findings from the North Carolina stroke care collaborative. *Stroke*, 2263-8.

Horer, S., & Harberl, R. (2012). Management of acute ischemic stroke. The faster the better. *Periodicum Biologorum* , 57-61.

Rocha, J., & Loria, J. (2007). Aptitudes clinicas de residentes de urgencias en el abordaje de la enfermedad vascular cerebral. *Educación Médica Superior*, 21.

Young, K., Sang-Soon, P., Hee-Joon, B., A-Hyun, C., Young, J., Moon-Ku, H., & Byung-Chul, L. (2011). Stroke awareness decreases prehospital delay after acute ischemic stroke in korea. *Neurology*, 14781.

M. c., & S. J. (2006). Extending reperfusion Therapy for acute ische. *Stroke*, 931.

L. P., H. O., K. M., V. L., K. M., & K. M. (2006). Door to Thrombolysis ER reorganization and reduced delays to acute stroke treatment . *Ann Interprices Inc*, 334-336.

Rivera, S., M.-M. L., P.-R. J., F. J., R.-G. B., & T.-A. L. (2012). Guia de práctica clínica: Enfermedad vascular cerebral isquémica. *Instrumentos Clínicos*.

Markku, K., E. B., B. M., A. D., E. B., & D. G. (2008). Thrombolysis with Alteplase 3 to 4.5 Hours after Acute Ischemic Stroke. *New England Journal of Medecine*, 1317-1329.

P. C., B. W., C. S., L. O., L. V., & M. V. (2008). Tratamiento con alteplasa en infarto cerebral en la Unidad de Stroke. *Re Fed Argentina*.

Fukujima, M. M., Leopoldino, J. S., G. S., & G. F. (2003). Time of Presentation of stroke patients in Sao Paulo Hospital. *Arq Neuropsiquiatr*, 186-187.

Kwan, J., Hand, P., & Sanderock, P. (2004). A systematic review of barriers to delivery on thrombolysis for acute stroke. *Age and ageing*, 116-121.

Microorganismos en lente de contacto blando en Querétaro

Autor: Netro Sánchez Pamela, Universidad Autónoma de Querétaro,
pamela_netro@hotmail.com

Asesora: M. en I. Viridiana Villezcas Sotomayor, Universidad Autónoma de Querétaro,
virysotomayor@gmail.com

Resumen

Las conductas indebidas al usar los lentes de contacto como el cambio incorrecto al haber finalizado su vida útil, abuso en el tiempo de uso, una mala higiene al colocarlos y/o retirarlos, la negligencia en la renovación de líquidos y estuches contaminados, son conductas inapropiadas que propician la aparición de microorganismos bacterianos originando cambios dramáticos en la calidad de visión del usuario (Gorrochotegui, et. al. 2009). Se tiene registro de prevalencia de diversos microorganismos presentes en lentes de contacto predominando *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* y *Acanthamoeba* por esto, se desarrolló una investigación donde se buscaran usuarios de lentes de contacto blandos, los cuales decidieron participar y bajo su consentimiento, se recolectó la muestra tanto del estuche que los contenía como del propio lente. Se realizó una encuesta y recolección de datos para ver sus hábitos y conocimiento del uso de la LC. El objetivo principal es identificar mediante cultivos microbiológicos específicos la presencia de microorganismos bacterianos en lentes de contacto blando y determinar los hábitos, mala información y malas prácticas de higiene en los usuarios de LC.

Abstract

The wrong use of Soft Contact Lenses; as the incorrect way of dispose of them at the end of the useful life, long periods of using time, wrong hygiene at putting or removing them, negligence at renewing liquid and contaminated cases. Are wrong conducts that allow outbreak of bacterium microorganism causing drastic changes on the user vision (Gorrochotegui, et. al. 2009). There are records of divers microorganism that thrive on CL predominate *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Serratia marcescens* and *Acanthamoeba.* That being told a research was made where different users of Soft Contact Lenses, that decided to participate on their freewill. Samples of their cases and SCL where collected, a poll determined their date about habits and knowledge of the use of SCL. The objective is to identify by the use of specific microbiologist culture the presences of bacterium microorganism on SCL and narrow the habits, incorrect information and bad practices on users of SCL.

Introducción

En la actualidad el uso de lentes de contacto ha cambiado puesto que antes se usaban con fines terapéuticos y ópticos, hoy en día además de lo anterior se usan con fines estéticos, es decir, para cambiar el color de ojos del usuario y su apariencia así como método para evitar el uso de anteojos. Existen diferentes lentes de contacto tales como: rígidos permeables al gas, Plimetilmetacrilato (PMMA), esclerales, blandos hidrofilicos y blandos de hidrogel de silicona, estos últimos requieren de un mayor cuidado y limpieza, además debido a su comodidad y fácil adquisición son los más vendidos. Para garantizar un buen funcionamiento de este tipo de lentes se requiere de procesos de desinfección adecuados para así evitar la proliferación de bacterias (Cantor, *et al*. 2009) ya que en caso contrario se favorece la proliferación, colonización, adhesión y patogenicidad de microorganismos. Estos microorganismos pueden afectar las distintas estructuras oculares pudiendo originar alteraciones graves si no son corregidas a tiempo (Priego, *et al.* 2017).

Dentro de las estructuras que se podrían ver afectadas con la córnea que es un tejido del ojo humano que cuenta con la finalidad de mejorar la calidad de la imagen formada en la retina junto con los demás medios refringentes. La córnea, para su nutrición, depende de la transmisión de glucosa

desde el humor acuoso y del oxígeno que circula a través de la película lagrimal. Además, la zona periférica corneal recibe oxígeno desde la circulación del limbo (Caballero, 2016).

La córnea tiene que ser transparente para proporcionar una visión de calidad, pero existen algunas enfermedades que pueden llegar a afectar sus características y, como consecuencia, llegan a provocar una visión defectuosa (Lavado y Saverry, 2000).

Algunas de las características de la córnea, es que es un tejido a vascular y transparente del globo ocular, tiene forma cóncavo-convexa (Caballero, 2016).

La conjuntiva es una capa mucosa que cubre tanto la porción interna de los párpados como la cara externa del globo ocular. Tiene como función ser protectora y lubricar ya que permite un adecuado deslizamiento palpebral debido a que genera abundante moco lo que evita fricciones (Graue, 2014).

Entre 2002 y 2004 se encontró que del 5%-31% de los usuarios de lentes de contacto blando presentaban infección de queratitis bacteriana.

Algunos estudios comparativos señalan que el riesgo de queratitis microbiana de 1.0 % - 4.2 % para lentes de contacto blandas de uso diario, 2.7 % - 36.8 % para lentes de contacto blandos de uso extendido y 13.0 % - 13.3 % para lentes de contacto blandos desechables. Los factores más importantes incluyen el uso nocturno, el tabaquismo, y el estado socioeconómico (Liesegang, 1997).

Queratitis en usuarios de lentes de contacto está relacionada con Pseudomonas aeruginosa, la cual ha sido implicada en un 70% de infecciones. Otro de los organismos causantes incluye especies Gram negativo como *Serratia marcescens, Proteus sp.*, y otras *Pseudomonas sp*. Dentro de las especies Gram negativo se encuentran *Staphylococcus sp.* y *Streptococcus* sp. predominantemente. Estos son los más frecuentemente implicados con *Ps. aeruginosa* representando un 25 % de los cultivos de las ulceras provocadas. También puede asociarse a la queratitis con *Acanthamoeba sp*. o fungí pero en menor medida (Stapleton, et al., 2007).

El riesgo de padecer una infección por uso de lentes de contacto se incrementó de 100,000 habitantes usuarios un 4%-8%. En general el 40%-80% de los usuarios de lentes de contacto son propensos a padecer una infección ocular (Alvira *et al*, 1991).

Por otro lado las bacterias más frecuentes que producen queratitis asociada al uso de lentes de contacto son *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* y con menor frecuencia, otros bacilos gram-negativos, bacterias gram-positivas, principalmente *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, levaduras del género Candida y amebas del género *Acanthamoeba* (Nicola, 2005). La queratitis microbiana se puede considerar una infección corneal potencialmente cegadora, y que ocurre raramente en los ojos normales. Los factores predisponentes han incluido enfermedad de la superficie ocular, trauma ocular, uso de lentes de contacto, enfermedades sistémicas y cirugía ocular (Stapleton, y Carnt, 2012).

Por lo anterior, se propuso como objetivo general del presente proyecto, identificar mediante cultivos específicos la presencia de microorganismos bacterianos en lentes de contacto blando. Asimismo, esta metodología permitirá crear conciencia en los pacientes usuarios de lente de contacto blando respecto al correcto aseo y cuidado de sus lentes y los estuches que las contienen. Todo esto con el fin de prevenir enfermedades oculares ocasionadas diferentes microorganismos.

Metodología

Estudio transversal y observacional de pacientes usuarios de lente de contacto blando, quienes al final del uso y bajo su consentimiento accedieron a la toma de muestras del estuche que los contenía como del propio lente. Para que sea considerado apto para esta investigación deberá ser usuario de lentes de contacto blando de reemplazo mensual, como criterio de exclusión serán los usuarios de lentes de contacto rígidos, de lentes de contacto con tipo de reemplazo diario y anual.

A los pacientes se les entregó una hoja de consentimiento informado y una encuesta para conocer sus hábitos de higiene y cuidado con

respecto a sus lentes de contacto, posteriormente se crea una base de Excel con lo antes mencionado.

Al llegar la muestra al laboratorio se comenzó por realizar la toma de la muestra con un hisopo estéril humedecido con solución salina la cual posteriormente es sembrada un medio de enriquecimiento y tras 48 hrs. de incubación se realiza una resiembra en medios selectivos, uno para crecimiento de bacterias gram negativas (mackonkey) y en agar sangre.

En las muestras que presentan crecimiento, se aíslan los diferentes tipos de colonias que crecieron y se conservaron para su posterior identificación. Se conservan en glicerol en una proporción de 200 micro litros de caldo nutritivo con 500 micro litros de glicerol.

Resultados

Hasta el momento se diseñó la encuesta a realizar y se han recolectado seis muestras de las cuales solo tres han tenido presencia de bacterias.

En cuanto a los datos más relevantes obtenidos de la encuesta se ha identificado que, más de la mitad de los pacientes entrevistados exceden el tiempo de cambio de los lentes y el estuche, así como su uso por día.

En cuanto a la higiene todos los entrevistados se lavan las manos con jabón, dos terceras partes de ellos se secan las manos con una toalla de algodón o con papel y una tercera parte se deja las manos mojadas. Cabe resaltar que todos los pacientes antes mencionados se colocan sus lentes en el baño.

Con el estudio realizado se observó así mismo que el 100% de los pacientes entrevistados prefieren utilizar lentes de contacto que los de armazón por su comodidad.

Discusión

Hasta el momento se han encontrado algunas colonias de microorganismos, las cuales no se han podido identificar. De las muestras recaudadas, no todas tuvieron crecimiento; lo que nos demuestra que un buen lavado de manos e higiene es la clave para evitar la contaminación de los lentes previniendo así las infecciones oculares.

Conclusiones

Este tipo de investigaciones son importantes ya que al obtener información por parte de los pacientes, nos ayudan a identificar el mal uso por parte de los pacientes del uso de LC así como la falta de atención por parte de quienes los adaptan.

De igual manera es de gran importancia poder informar a los pacientes aspectos a mejorar sobre su higiene para prevenir enfermedades oculares así como informar las consecuencias que tiene el abuso del tiempo de uso de sus lentes.

Bibliografía

1. Cantor, L. (2009). Queratitis bacteriana por pseudomonas aeruginosa asociada al uso de lentes de contacto.
2. Alvira, A., Garzón, P., Álvarez, H., Harb, K. (1991) Flora bacteriana contaminante en usuarios de lentes de contacto. 13-15.
3. Gorrochotegui, R., Manuel, A., Rojas, V., Maria, C., Serrano, H., Gorrochotegui, R., & Myriam, C. (2009). Lentes de Contacto: Historia, Tipos y Complicaciones de su Uso. *Informe Medico*, *11*(2).
4. Priego Esquinas, C. L. (2017). Afectaciones oculares causadas por microorganismos asociados al uso de lentes de contacto.
5. Stapleton, F., & Carnt, N. (2012). Contact lens-related microbial keratitis: how have epidemiology and genetics helped us with pathogenesis and prophylaxis. *Eye*, *26*(2), 185.
6. Liesegang, T. J. (1997). Contact lens-related microbial keratitis: Part I: Epidemiology. *Cornea*, *16*(2), 125-131.
7. Stapleton, F., Keay, L., Jalbert, I., & Cole, N. (2007). The epidemiology of contact lens related infiltrates. *Optometry and vision science*, *84*(4), 257-272.
8. Caballero, Susana. (Septiembre 2016) Córnea, anatomía, función y sus principales problemas. Verde live: Salud Natural.
9. Lavado Landeo Lincoln. IV OFTALMOLOGÍA. Sistema de Bibliotecas: Departamento Académico de Cirugía.

10. Graue Wiechers, Enrique. (Mayo 2014) Oftalmología en la práctica general. Capítulo 8: Exploración de la Conjuntiva. Access Medicina. México, D.F.

Análisis lipidómico después del consumo de edulcorantes

Olalde-Mendoza, Liliana[1], Anaya-Loyola, Miriam Aracely[2], Pérez-Ramírez, Iza Fernanda[3]

[1]liliana.nut@gmail.com; [2]aracely3270@yahoo.com; [3]iza.perez@hotmail.com

[1 y 2] Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

[2] Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

Resumen

Los edulcorantes no calóricos (ENC) han sido asociados a enfermedades crónicas no transmisibles y recientemente a cambios metabolómicos en estudios *in vivo*, por lo que el objetivo de este estudio fue realizar un análisis discriminante de metabolitos lipídicos en consumidores regulares de ENC y edulcorantes calóricos (EC) después del consumo de una bebida carbonatada con ENC y EC (refresco). Se incluyeron dos grupos según la historia de preferencia de consumo de edulcorantes provenientes de bebidas, cada uno con diez personas. Se trato de un estudio aleatorizado, cruzado, ciego. Se tomaron peso, medidas antropométricas y se realizó una frecuencia de consumo de alimentos a los participantes. Se tomó una muestra de sangre basal y posteriormente se dio 237 ml de la bebida comercial. A continuación, se tomaron muestras de sangre a los 15, 30, 60 y 120 minutos. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en parámetros antropométricos, bioquímicos y dietéticos entre el grupo ENC y EC. El análisis discriminante muestra diferencia en los compuestos basales y posteriormente, se mantiene después del consumo de las bebidas con ENC y EC. En conclusión, existen diferencias en metabolitos de origen lipídico después del consumo de una bebida con ENC y EC.

Palabras claves: Edulcorantes calóricos, edulcorantes no calóricos, metabolitos, refresco

Abstract

Non-nutritive sweeteners (NNS) have been associated with chronic diseases and recently metabolomic changes in experimental studies with animals, for these reason, the goal of this study was to conduct a discriminatory analysis of lipid metabolites in regular users of NNS and nutritive sweeteners (NS) after consumption of a carbonated beverage with NNS and NS. Two groups were included according to the history of preference for sweeteners from beverages, each with ten people. It was a randomized, cross-over, single-blind study. Weight and anthropometric measurementes were take and a food frequency questionnaire was made. A basal blood sample was taken and subsequently 237 ml of the commercial soda was given. Blood samples were taken at 15, 30, 60 and 120 minutes. Statistically significant differences in anthropometric, biochemical and dietary parameters were found between the NNS and NS group. The discriminatory analysis shows differences in basal compounds and subsequently, is maintained after consumption of soft drink with NNS and NS. In conclusion, there are differences in metabolites of lipid origin after consumption of a soda with NNS and NS.

Keywords: Non-nutritive sweetener, nutritive sweeteners, metabolites, soft drink

Introducción

Los edulcorantes calóricos (EC) como el azúcar fueron asociados con el incremento de obesidad durante mucho tiempo. Como resultado, se incrementó el consumo de los edulcorantes no calóricos (ENC) (Tendel, 2011). Diversos estudios han sugerido que tanto niños como adultos consumen algún tipo de ENC, debido a su presencia en diversos alimentos industrializados (Durán, 2014), por lo que los recientes datos epidemiológicos y experimentales que demuestran que tienen un rol metabólico activo y promueven obesidad, resistencia a la insulina y diabetes (Pepino, 2013; Temikan, 2015; Sylvetsky, 2016), han originado controversias y un aumento en la investigación en este tema.

La evidencia sugiere que los ENC alteran la microbiota intestinal (Suez, 2014) y estudios experimentales *in vivo* han sugerido que cambian perfiles metabolómicos (Brian, 2017; Brian, 2017; Brian, 2017; Uebanso, 2017; Chi, 2018). Por lo que el presente trabajo tiene como objetivo realizar un análisis discriminante de metabolitos lipídicos en consumidores regulares de ENC y EC después del consumo de una bebida carbonatada comercial con ENC y EC.

Metodología

Participantes

Hombres y mujeres, edad de 25 a 50 años (IMC 18.5-29.8). El experimento se realizó de Enero a Junio 2015. Se excluyeron participantes con diagnóstico de dislipidemia o alteraciones en la glucosa y actividad física elevada. Todos los participantes recibieron información oral y escrita sobre el estudio y firmaron una carta de consentimiento informado. Diez individuos fueron incluidos en cada grupo. El comité de bioética de investigación en humanos de la Universidad Autónoma de Querétaro aprobó el protoloco de investigación (26FCN2014).

Diseño del estudio

El estudio fue aleatorizado, cruzado y ciego. Para la selección de los grupos, los participantes contestaron una frecuencia de consumo de bebidas con edulcorantes calóricos (EC) y no calóricos (ENC) y aquellos que tuvieran un consumo ≥50 mg/d de edulcorante, fueron incluidos en el grupo EC o ENC. Aquellas personas que fueron seleccionadas, se les cito en el laboratorio de toma de sangre de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro con un ayuno de 8 horas. Cada persona fue evaluada en su composición corporal y respondió una frecuencia de consumo de alimentos. Se tomó una muestra de sangre a cada participante en ayuno y posteriormente, cada uno recibió 237 ml de una bebida carbonatada con edulcorante calórico (refresco normal, Coca-cola, con glucosa y fructosa) y no calórico (refresco de dieta, Coca-cola light, con aspartame y acesulfame-K) en dos días diferentes de forma aleatoria. Se recolectaron muestras de sangre a los 15, 30, 60 y 120 min después del consumo de las bebidas. Los participantes permanecieron sentados y en reposo durante la prueba.

Evaluación dietética, antropometría y composición corporal

Los cuestionarios de frecuencia de consumo estuvieron basados en Agudo *et al.,* (2005). El cuestionario de frecuencia de consumo de bebidas con edulcorantes calóricos y no calóricos se diseño con 25 bebidas carbonatadas y no carbonatadas. Se incluyeron ítems para bebidas alcohólicas. Los recordatorios de 24 horas fueron analizadas de acuerdo a tablas del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

Las mediciones fueron realizadas por un mismo evaluador de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud. Los participantes asistieron con ropa ligera. Para la estatura se utilizó un estadímetro Torino (Person-Plus model) y los participantes se colocaron en posición vertical con los talones juntos y la punta de los pies separados en plano Frankfort para la toma de peso y composición corporal con una báscula marca TANITA (SC331S, Japón). Las circunferencias de cintura y cadera fueron tomadascon una cinta metálica (Rosscraft). Para la cintura, los participantes se colocaron distribuyendo su peso en ambos pies y la medición se hizo alrededor de la cicatriz umbilical después de exhalar. La cadera fue tomada en el punto donde la circunferencia era la más alta con los pies juntos.

Los participantes fueron clasificados de acuerdo a su IMC en bajo peso (<18.5 kgm^2), normal (≥18.5, <24.9 kgm^2), sobrepeso (≥25, <29.9 kgm^2) y obesidad (≥30 kgm^2) (WHO, 2018). Grasa elevada en mujeres se consideró ≥33% y ≥20% para hombres (Gallagher *et al.,* 2000).

Análisis de sangre

Después de recolectar el suero, se congeló a -70°C (REVCO, Thermo Cientific). Se midió en tiempo basal glucosa, insulina, leptina, triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL. Colesterol LDL fue calculado utilizando la fómula de Friedelwald's.

Gucosa, triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL fue medidos con un analizador automático (Mindray BS-120, Medical International Limited, China), por el método enzimático/colorométrico usando kits comerciales con controles y multicalibrador (SPINREACT S.A./S.A.U., Girona, España). Insulina (80-INSHUU-E01.1, 03963, ALPCO inmunoassays) y leptina (11-LEPHU-E01, ALPCO inmunoassays) fueron medidas por ELISA con un lector de placa a 450 nm (Thermo, electron corporation).

Análisis metabolómico

Los metabolitos fueron extraídos de suero de muestras sanguíneas usando metanol:cloroformo 2:1 (v/v), seguido de incubación por 20 minutos a -20ºC y centrifugación a 1000 rpm por 5 minutos a 4ºC. Posteriormente, la mezcla se procesó en un cromatógrafo de líquidos de ultra resolución (UPLC) columna HSS T3 C18 (100 x 2.1 mm, 1.7 mm) a 50 ºC. Fase móvil: (A) agua con 0.1% de formato de amonio y (B) acetonitrilo con 0.1% de formato de amonio bajo condiciones de gradiente lineal (0.2 mL/min) y con un volumen de inyección: 0.75 mL. Se utilizó un analizador cuadrupolo-Tiempo de Vuelo (Q-TOF MS^E) usando las siguientes características Ionización por Electrospray modo ESI+ y ESI-, rango de m/z: 50-1800 Da, fuente de iones: 120 ºC, gas de desolvatación: N_2 a 800 L/h a 450 ºC, gas de cono: N_2 a 50 L/h, voltaje de cono: 40 V, voltaje de capilar: 3.5 kV, energía de colisión: 5 eV / 15-45 eV, lock-spray: leucina-encefalina (50 pg/mL) a 10 mL/min. El análisis de datos se llevó a cabo con el equipo Porgénesis QI.

Análisis estadístico

La normalidad de variables se comprobó mediante la prueba Shapiro-Wilk test. Las características de cada grupo fueron comparadas mediante ANOVA de una vía o Mann-Whitney test según aplicara. Las tablas presentan medias y desviaciones estándar. Se consideró una $p < 0.05$ como estadísticamente significativo. La normalidad de variables fue medida mediante el paquete SPSS v18 y para las pruebas estadísticas se utilizó Statview v5.0.1. El análisis mutivariado metabolómico se realizó utilizando Metaboanalyst. Se aplicó normalización de datos y posteriormente el análisis de componentes principales se usó para observar la separación de grupos. Los datos presentados fueron calculados mediante el modelo PLS-DA.

Resultados

El diseño experimental se presenta en la Figura 1. Se incluyeron 4 hombres y 6 mujeres en el grupo EC y 5 hombres y 5 mujeres en el grupo ENC. El grupo ENC presentó IMC, circunferencia de cintura, índice cintura-cadera, triglicéridos, colesterol total, consumo de proteínas, lípidos, grasa saturada y monosaturada más alto que el grupo EC (Tabla 1) ($p<0.05$).

El análisis de compuestos mediante PLS-DA muestra que existen diferencias en el perfil lipidómico de los grupos en el tiempo basal y después del consumo de las bebidas con EC (Figura 2) y ENC (Figura 3) en los diferentes grupos.

Discusión y conclusiones

Este trabajo evaluó el efecto de una bebida comercial en un modelo experimental con humanos basado en la historia de consumo de edulcorantes calóricos y no calóricos proveniente de bebidas.

Nettleton (2009) asociaron el consumo de ENC con una ganancia de peso en animales y humanos. Se ha comprobado *in vivo* y en humanos, que cuando se consumen ENC hay un incremento en el consumo de calorías y por lo tanto, en el peso (Swithers, 2008). En nuestro estudio, no existen diferencias entre los grupos en el consumo de energético total y peso, sin embargó, encontramos que consumidores regulares de ENC tienen mayor IMC además de parámetros antropométricos asociados a mayor riesgo cardiovascular como circunferencia de cintura e ICC. Estos resultados se suman a la evidencia de que el consumo de bebidas con ENC incrementa el riesgo cardiovascular (Mossavar-Rahmani, 2019).

Los datos de nuestro trabajo comprueban que el consumo de macronutrientes es diferente en el grupo ENC y EC. Se observa que el grupo ENC tiene menor ingesta de carbohidratos y azúcar, conduciendo a un incremento en el consumo de proteínas y lípidos y por ende, mayor incremento

de medidas antropométricas. Este reajuste del consumo de macronutrientes al eliminar la sacarosa de la dieta, se ha observado con anterioridad por Raben, 2002 y se debe a que el sabor dulce sin calorías confunde los mecanismos regulatorios del control homeostático al ser ambiguas, conduciendo a un pobre control del apetito (Blundell, 1986). Nuestros datos indican que los consumidores regulares de ENC presentan mayor consumo de colesterol y grasa saturada de la dieta, afectando parámetros bioquímicos de la sangre.

Finalmente, no existen datos de análisis metabolómicos en suero en humanos después del consumo de una bebida comercial con ENC. Los primeros datos presentados en este trabajo, muestran que existen diferencias en el perfil metabolómico basal de consumidores regulares de ENC y NC. Cuando a los grupos se les da una bebida comercial carbonatada con ENC y EC, estas diferencias, persisten. Estos datos concuerdan con la evidencia científica actual. Bian (2017) encontró en su análisis fecal metabólico *in vivo* que aquellos animales que recibieron una dosis de acesulfame K tenían un perfil metabolómico diferente a los controles, haciendo una distinción de compuestos por género. Por otro lado, Palmnäs, 2014 comprobó mediante el análisis en suero de ratas, que el consumo de aspartame estaba asociado a un incremento de ácidos grasos de cadena corta. Otros estudios metabolómicos *in vivo* usando otros edulcorantes como sucralosa, stevia, sacarina y neotame han encontrado diferencias en perfiles metabolómicos entre los animales experimentales y los controles (Bian, 2017; Bian 2017; Eubanso, 2017; Chi, 2018).

En conclusión, nuestros resultados demuestran que el consumo regular de ENC está asociado a cambios antropométricos, bioquímicos y dietéticos basales que conducen a mayor riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles. Además, existen diferencias metabólicas en consumidores regulares de ENC y EC basales y después del consumo de una bebida carbonatada con ENC y EC.

Referencias bibliográficas

1. Agudo A, Joint, F.A.O. Measuring intake of fruit and vegetables [electronic resource]. 2005.
2. Bian, X., Tu, P., Chi, L., Gao, B., Ru, H., & Lu, K. (2017). Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food and Chemical Toxicology*, *107*, 530-539.
3. Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., & Lu, K. (2017). The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. *PLoS One*, *12*(6), e0178426.
4. Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., & Lu, K. (2017). Gut microbiome response to sucralose and its potential role in inducing liver inflammation in mice. *Frontiers in physiology*, *8*, 487.
5. Blundell, J. E., & Hill, A. J. (1986). Paradoxical effects of an intense sweetener (aspartame) on appetite. *The Lancet (USA)*.
6. Chi, L., Bian, X., Gao, B., Tu, P., Lai, Y., Ru, H., & Lu, K. (2018). Effects of the artificial sweetener neotame on the gut microbiome and fecal metabolites in mice. *Molecules*, *23*(2), 367.
7. Durán, S. A., Record, J. C., Encina, C. V., de Ariza Salazar, J., Cordón, K. A., Cereceda, P. B. M., ... & Espinoza, S. B. (2014). Consumption of carbonated beverages with nonnutritive sweeteners in Latin American university students. *Nutricion hospitalaria*, *31*(2), 959-965.
8. Gallagher D, Heymsfield S, Heo M, Jebb S, Murgatroyd P, & Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(3):694-701.
9. Mossavar-Rahmani, Y., Kamensky, V., Manson, J. E., Silver, B., Rapp, S. R., Haring, B., ... & Wassertheil-Smoller, S. (2019). Artificially sweetened beverages and stroke, coronary heart disease, and all-cause mortality in the Women's Health Initiative. *Stroke*, *50*(3), 555-562.
10. Nettleton, J. A., Lutsey, P. L., Wang, Y., Lima, J. A., Michos, E. D., & Jacobs, D. R. (2009). Diet soda intake and risk of incident metabolic syndrome and type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes care*, *32*(4), 688-694.
11. Palmnäs, M. S., Cowan, T. E., Bomhof, M. R., Su, J., Reimer, R. A., Vogel, H. J., ... & Shearer, J. (2014). Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PloS one*, *9*(10), e109841.
12. Pepino, M. Y., Tiemann, C. D., Patterson, B. W., Wice, B. M., & Klein, S. (2013). Sucralose affects glycemic and hormonal responses to an oral glucose load. *Diabetes care*, *36*(9), 2530-2535.
13. Raben, A., Vasilaras, T. H., Møller, A. C., & Astrup, A. (2002). Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. *The American journal of clinical nutrition*, *76*(4), 721-729.
14. Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C. A., Maza, O., ... & Kuperman, Y. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, *514*(7521), 181.

15. Swithers, S. E., & Davidson, T. L. (2008). A role for sweet taste: calorie predictive relations in energy regulation by rats. *Behavioral neuroscience*, *122*(1), 161.
16. Sylvetsky, A. C., Brown, R. J., Blau, J. E., Walter, M., & Rother, K. I. (2016). Hormonal responses to non-nutritive sweeteners in water and diet soda. *Nutrition & metabolism*, *13*(1), 71.
17. Tandel, K. R. (2011). Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*, *2*(4), 236.
18. Temizkan, S., Deyneli, O., Yasar, M., Arpa, M., Gunes, M., Yazici, D., ... & Yavuz, D. G. (2015). Sucralose enhances GLP-1 release and lowers blood glucose in the presence of carbohydrate in healthy subjects but not in patients with type 2 diabetes. *European journal of clinical nutrition*, *69*(2), 162.
19. Uebanso, T., Ohnishi, A., Kitayama, R., Yoshimoto, A., Nakahashi, M., Shimohata, T., ... & Takahashi, A. (2017). Effects of low-dose non-caloric sweetener consumption on gut microbiota in mice. *Nutrients*, *9*(6), 560.
20. World Health Organization. (2018). Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 1998. *WHO Technical Report Series*, *894*.

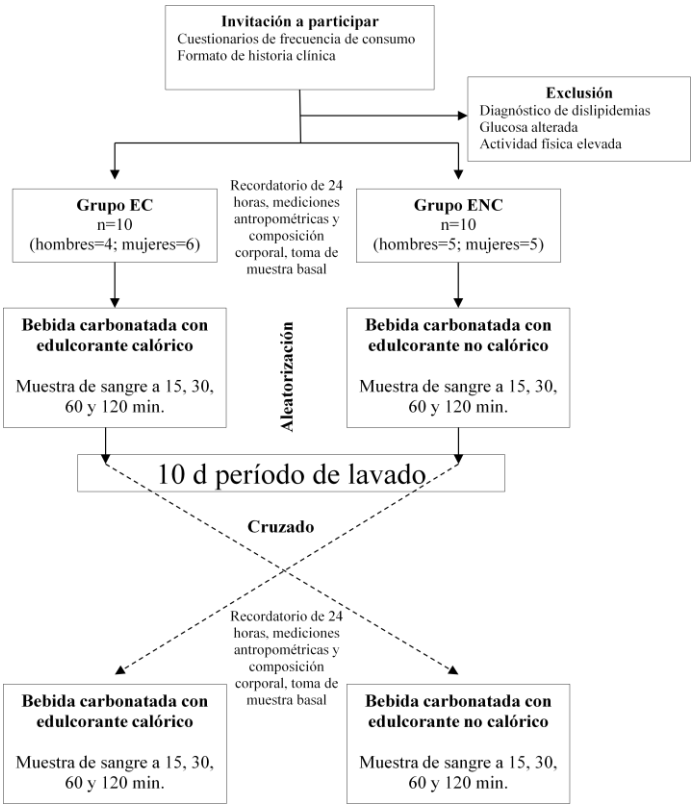


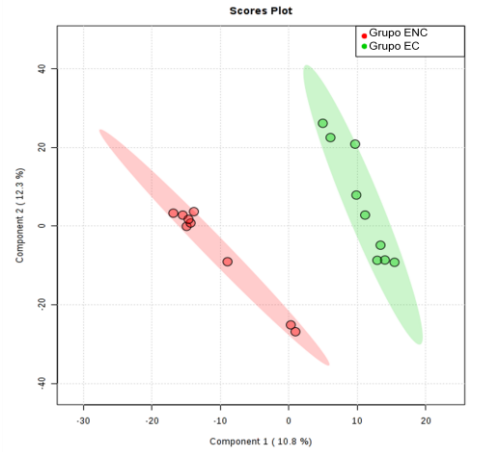
Figura 1. El diseño experimental fue cruzado, ciego y aleatorizado. EC=Edulcorante calórico. ENC=Edulcorante no calórico.

Tabla 1. Características generales de los participantes de acuerdo a los grupos.

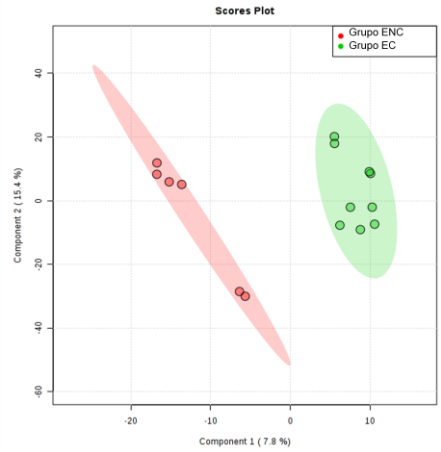
	Grupo EC	Grupo ENC	
	H (n = 4), M (n = 6)	H (n = 5), M (n = 5)	
	Mean ± SD	Mean ± SD	*P*
Sueño, hrs	6.36 ± 0.95	6.55 ± 1.30	0.3826
Ayuno, hrs	10.66 ± 1.33	11.33 ± 1.07	0.0139*
Edad, y	26.72 ± 2.99	28.77 ± 7.10	0.4797
Peso, kg	62.93 ± 13.49	67.02 ± 10.5	0.1029
IMC, kg/m^2	22.20 ± 2.73	24.69 ± 3.34	0.0194*
Grasa corporal, %	22.86 ± 4.77	24.90 ± 9.23	0.5498
Cintura, cm	75.37 ± 9.79	82.58 ± 9.76	0.0028**
Cadera, cm	96.64 ± 4.56	98.51 ± 7.04	0.3277
Índice cintura-cadera	0.77 ± 0.06	0.83 ± 0.08	0.0258*
Glucosa, mg/dl	78.31 ± 5.82	79.90 ± 8.12	0.7864
Triglicéridos, mg/dl	88.74 ± 20.61	134.36 ± 66.62	0.0115*
Colesterol total, mg/dl	152.88 ± 13.86	180.52 ± 37.82	0.0036**
Colesterol LDL, mg/dl	57.95 ± 14.46	73.75 ± 32.31	0.0292*
Colesterol HDL, mg/dl	51.30 ± 10.66	57.70 ± 16.12	0.2424
Insulina, mIU/L	8.35 ± 3.81	11.65 ± 7.45	0.2479
Leptina, ng/ml	16.15 ± 9.29	16.13 ± 7.52	0.9970
Consumo energético, Kcal	2,129.69 ± 769.47	2,199.07 ± 984.33	0.7035
Consumo de proteína, %	17.50 ± 3.16	19.82 ± 3.44	0.0258*
Consumo de lípidos, %	28.04 ± 6.64	32.80 ± 6.20	0.0194*
Consumo de carbohidratos, %	54.96 ± 8.71	45.14 ± 6.61	0.0004***
Consumo de azúcar, %	18.42 ± 6.50	17.94 ± 4.22	0.7282
Consumo de grasa saturada, %	7.42 ± 2.09	9.85 ± 2.84	0.0175*
Consumo de grasa monosaturada, %	10.77 ± 2.17	13.01 ± 3.24	0.0106*
Consumo de colesterol, mg/día	264.19 ± 109.74	325.77 ± 248.18	0.6246

Los valores están en medias ± desviaciones estándar. H = Hombre, M = Mujer. IMC = Índice de Masa Coporal. LDL = Lipoproteína de baja densidad. HDL = Lipoproteína de alta densidad. ANOVA o Mann-Whitney *$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$.

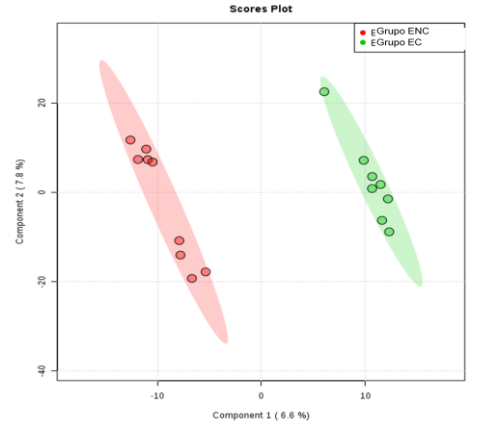
A)



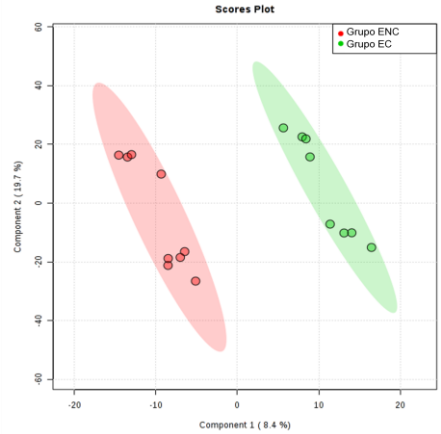
B)



C)



D)



E)

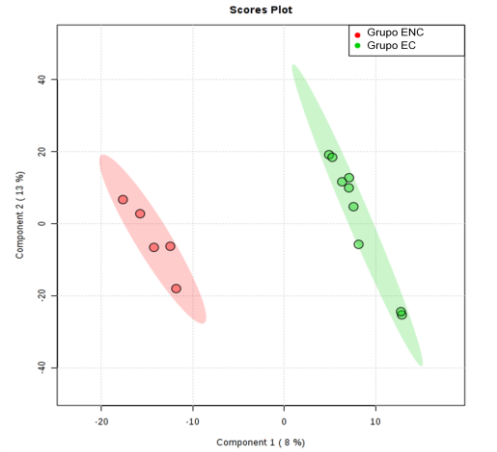
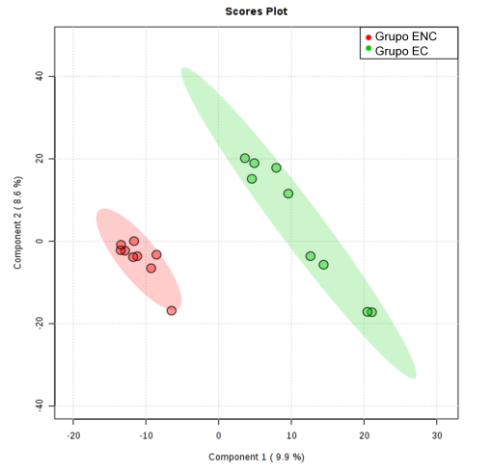
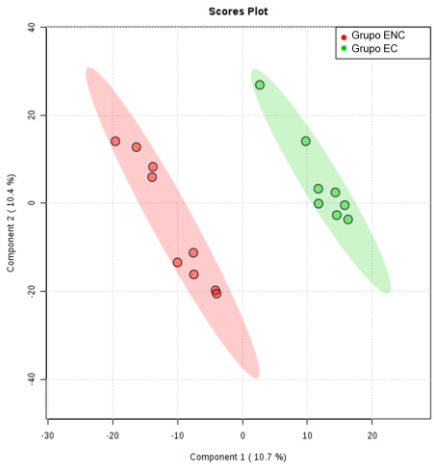


Figura 2. Análisis lipidómico en consumidores regulares de EC y ENC con el consumo de una bebida carbonatada con EC. A) Basa, B) 30 minutos, C) 60 minutos, D) 120 minutos

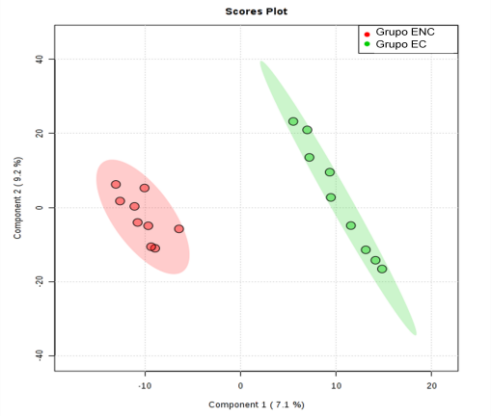
A)



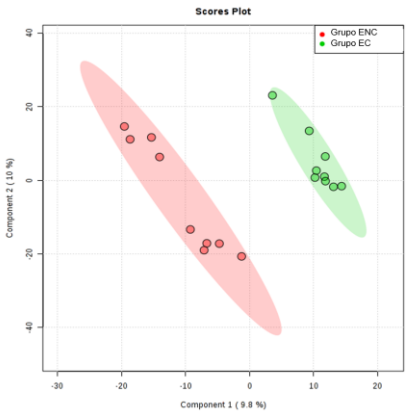
B)



C)



D)



E)

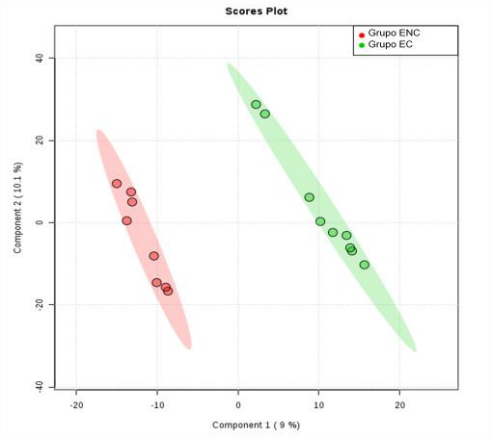


Figura 3. Análisis lipidómico en consumidores regulares de EC y ENC con el consumo de una bebida carbonatada con ENC. A) Basa, B) 30 minutos, C) 60 minutos, D) 120 minutos

Pérez Tinajero JF (andoezro122009@hotmail.com), Bueno-Hermosa Z (zule.hermosa@gmail.com), Gómez-Martínez CE (crlsnrq90@gmail.com), Esquivel-Guadarrama FR (fernando.esquivel@uaem.mx) & López-Guerrero DV (vannylpzgro@gmail.com).

Efecto Del Trasplante De Microbiota En Murino con DMNID

Pérez-Tinajero JF [1], Bueno-Hermosa Z[2], Gómez-Martìnez CE[2], Esquivel-Guadarrama FR[3] & López-Guerrero DV[2].

1) Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

2) Facultad de Nutrición. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

3) Facultad de Medicina. Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Resumen

La DMNID es una enfermedad caracterizada por una hiperglucemia en sangre, resistencia a insulina y diferentes fagias que en el año 2016 fue responsable de 15.4% de las muertes en México. La relación entre la diabetes y la microbiota intestinal incurre en los estadios de eubiosis y disbiosis como factores en la relación entre metabolismo y la DMNID. La transferencia de microbiota se ha utilizado para tratar diferentes enfermedades, incluyendo el sobrepeso. Se estudia el efecto de la transferencia de microbiota de ratón CD1 sano a enfermo con el objetivo de observar una mejoría en los niveles de glucosa en sangre de los ratones. Los resultados arrojan que la transferencia no muestra en efecto benéfico en los ratones al corto plazo, se propone un monitoreo continuo por mayor tiempo para conocer si realmente tiene un efecto benéfico.

Abstract

NIDDM is a disease characterized by hyperglycemia in the blood, insulin resistance and different fagias that in 2016 was responsible for 15.4% of deaths in Mexico. The relationship between diabetes and the intestinal microbiota incurs the stages of eubiosis and dysbiosis as factors in the relationship between metabolism and NIDDM. Microbiota transfer has been used to treat different diseases, including being overweight. The effect of the transfer of CD1 mouse microbiota healthy to diseased is studied in order to observe an improvement in the blood glucose levels of the mice. The results show that the transfer does not show a beneficial effect in the mice in the short term, a continuous monitoring is proposed for a longer time to know if it really has a beneficial effect.

Palabras Clave: *Diabetes mellitus no insulinodependiente, transferencia de microbiota intestinal, estreptozotocina, cóctel de antibióticos, hiperglucemia.*

Keywords: *No Insulindependient Diabetes Mellitus, Intestinal Microbiome Transfer, Streptozotocin, Antibiotic Cocktail, Hyperglycemia.*

Introducción

La DMNID (*Diabetes Mellitus No Insulinodependiente*) es considerada una de las enfermedades crónicas con mayor prevalencia mundial [1]. Entre las características de esta patología se encuentra la poliuria, polifagia y polidipsia, acompañadas de la pérdida de peso en el paciente, debido a un desequilibrio metabólico que aumenta los niveles de glucosa en sangre [2].

Según el INEGI, para el año 2016, la diabetes es la segunda causa de muerte en México con el 15.4% de decesos [3], cada año aumenta el número de decesos por año, del 2015 al 2016 aumentaron los números de casos de diabetes de 98, 521 por año, a 105, 574 por año [3]. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016 (ENSANUT) de medio camino, se observó un aumento en la prevalencia de diabetes en la población adulta, particularmente en mujeres [4].

La etiología de esta patología se relaciona a factores genéticos y ambientales, siendo estos últimos los más relevantes en su desarrollo,en dichos factores se involucran la inactividad física, el sedentarismo, malos hábito dietéticos (dieta alta en energía, baja en fibra, etc.). Actualmente se ha propuesto el importante papel que desempeña la microbiota intestinal en el desarrollo y control de la DMNID, actuando como una verdadera oportunidad para los pacientes que viven con esta condición clínica. La microbiota intestinal es un ecosistema de microorganismos, que coexisten con el intestino, se caracteriza por variar entre especies, e incluso entre individuos. Se ha observado que la microbiota es benéfica cuando su composición se encuentra equilibrada (eubiosis) dando protección al huésped contra bacterias patógenas, favoreciendo el metabolismo de diferentes sustratos energéticos y mejorando el sistema inmunológico. Por otro lado, si dicho equilibrio se encuentra alterado (disbiosis) puede condicionar diferentes enfermedades que perjudican al huésped [5].

El conocimiento de la relación entre la microbiota y la DMNID, a dado lugar al desarrollo de terapias como el consumo de probióticos, o la transferencia de microbiota fecal (TMF) y la terapia de trasplante de microbiota fecal (TTMF). TMF y TTMF difieren en que la primera es la simple inserción de material fecal en el intestino y la segunda agrega la eliminación de la microbiota nativa a través de antibióticos. Debido a las implicaciones que conlleva la TTMF en los seres humanos, se ha optado por el uso de modelos animales de experimentación, tal es el caso del modelo murino inducido a través de estreptozotocina (STZ). Específicamente la STZ es una nitrosourea con una estructura similar a la glucosa, que se utiliza para inducir DMT1 y DMT2. Esto, debido a que las células B del páncreas tienen una cantidad superior de transportadores GLUT-2 que el resto de las células, esto permite la internalización de STZ, con lo que se logra deprimir los nucleótidos de piridina nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y reducir la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) [6].

Se espera que el trasplante de microbiota fecal de ratón sano a ratón DMNID inducido con STZ, mejorará las concentraciones plasmáticas de glucosa en ratones diabéticos.

El objetivo es diabetizar ratones de la cepa CD1 machos con STZ y realizar el trasplante de microbiota fecal de ratones sanos a ratones diabetizados utilizando un método con estreptozotocina. Estudiar el efecto en niveles de glucosa en sangre, peso y consumo de alimento en ratones CD1 machos de la terapia de de trasplante de microbiota fecal de ratones sanos a ratones enfermos con la DMNID.

Pérez Tinajero JF (andoezro122009@hotmail.com), Bueno-Hermosa Z (zule.hermosa@gmail.com), Gómez-Martínez CE (crlsnrq90@gmail.com), Esquivel-Guadarrama FR (fernando.esquivel@uaem.mx) & López-Guerrero DV (vannylpzgro@gmail.com).

Metodología

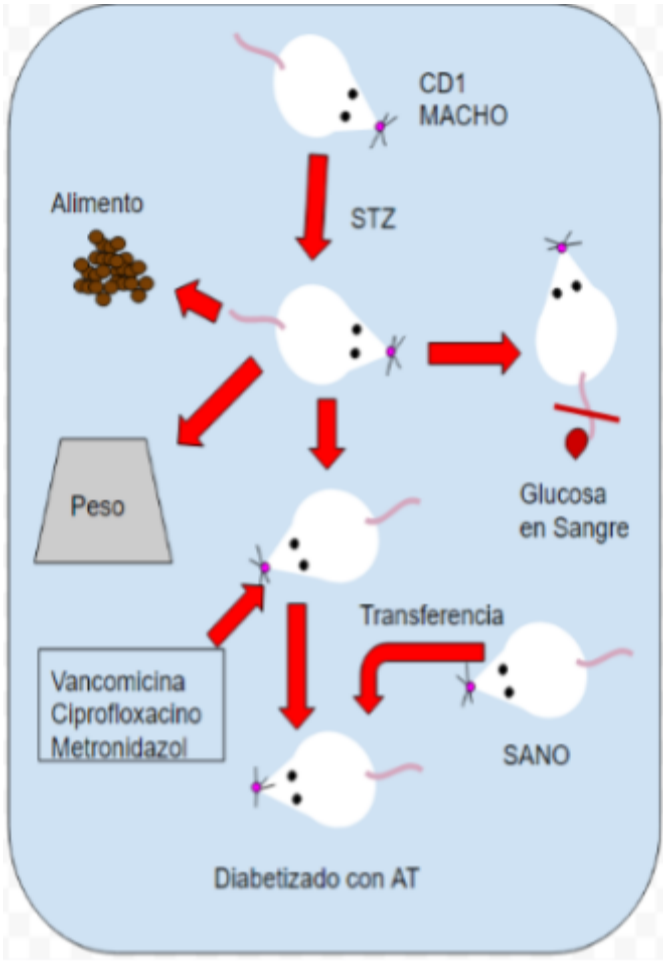


Fig. 1. Esquema general de la metodología.

Tratamiento general

Los ratones utilizados fueron CD1 machos de 8 semanas obtenidos del Bioterio en el IBT de la UNAM, mantenidos en condiciones de 12 horas luz/oscuridad, a una temperatura de 24°C, alimentados con 200 gramos de Tekal Global Diets (ENVIGO) y 300 ml de agua comercial ePura. Se registró el peso de los ratones de forma semanal con una balanza Scout Pro (OHAUS). Todos los cuidados fueron bajo condiciones estándares de luz y oscuridad, todo de acuerdo a la *NOM-062-ZOO-1999* [7].

Glucosa en Sangre

La toma de glucosa en sangre se realizó de acuerdo a *Togashi* [8]. Poniendo a los ratones en ayuno por 4 hrs, realizando una punción en la punta de la cola de los ratones, para obtener una gota de sangre que será analizada con el glucometro One Touch Ultra Mini (LifeScan Inc) y utilizando tiras reactivas (LifeScan Inc).

Diabetización

La diabetización se basó según lo descrito por *Graham* [9]. Se inyectó por vía subcutánea, (STZ) estreptozotocina (Goldbio.com, EE.UU.) a una relación de 40 $\frac{mg\ STZ}{kg\ peso}$ después de 4 horas de ayuno de los ratones, durante 3 días. Se consideró DMNID cuando los ratones presentaban concentraciones mayores de 200 mg/dL de glucosa sanguínea.

Eliminación de microbiota nativa

Se utilizó por kilogramo de peso Vancomicina 50 $\frac{mg}{kg}$ (PiSA Farmacológica, México), Metronidazol 5 $\frac{mg}{kg}$ (Novag, México) y Ciprofloxacino 25 $\frac{mg}{kg}$. (Senosiain, México). Se inyectaron por vía intraperitoneal 300 µl de dicha solución por 4 días a la misma hora. Posteriormente se permite la estabilización del modelo por dos días más, para asegurar el efecto de los antibióticos, y que esté a su vez no altere a la microbiota trasplantada.

Transferencia de microbiota

Se realizó introduciendo con una cánula 200 µl, de Bicarbonato de Sodio 1.33%, para estabilizar el pH del estómago de los ratones, seguida de una inyección vía intraperitoneal (IP) con 200 µl de

pentobarbital sódico Pisabental (PiSA Agropecuaria) 1:10 como sedante, para finalmente introducir a través de una sonda 600 µl de una solución de 4 ml de solución fecal (1:1 v/v) en 10 ml de buffer PBS.

Resultados y Discusión

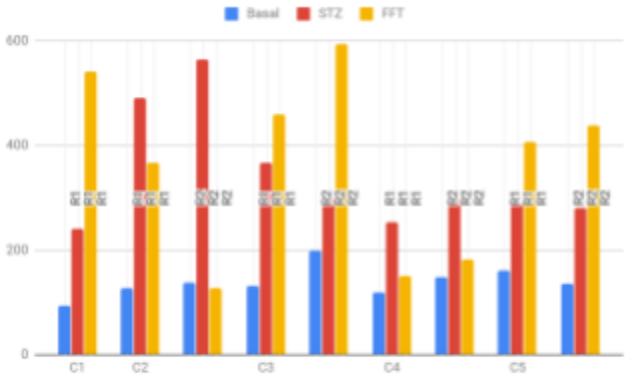


Fig 2. Niveles de glucosa en sangre de ratones CD1. En estado basal (Azul), después de 5 días de la diabetización con STZ (Rojo) y 8 días después de la FFT (Amarillo). Valores mayor a 200 mg/dl indican diabetes.

Glucosa en Sangre

Como ya se ha mencionado, uno de los efectos de la DMNID es un estado de hiperglucemia en la sangre que en los ratones es considerada con valores sobre 200 mg/dL de acuerdo a los criterios de *Young* [10]. En ese sentido, los ratones presentaron valores mayores a 200 mg/dL a 5 días de la diabetización, e incluso algunos de los modelos manifestaron concentraciones de glucosa por arriba de los 400 mg/dL (fig. 2). Esto corrobora que la inducción de DMNID a través de STZ, es una herramienta eficaz para poder tabajar dicha patología en los modelos murinos. Los resultados mostraron que los niveles de glucosa a la semana eran muy variables, incluso en los controles (cajas 4 y 5), los correspondientes a la caja 4 mostraron una normalización de los niveles. En el experimento, solo 2 ratones de 5 mostraron una disminución en los niveles de glucosa. Estos datos son obtenidos a la semana del trasplante, debido a que el tratamiento fue FTT, se propone que los ratones necesitan más tiempo para adaptar su microbiota y tener valores totales que tiendan a ascender o descender. Estudios ya en humanos muestran un efecto positivo al corto plazo, en los niveles directos de insulina se normalizaron, al igual que otros metabolitos en la sangre [11].

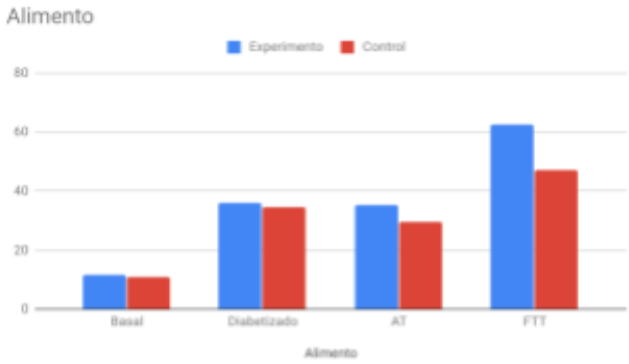


Fig. 3. Consumo de alimento de ratones CD1. Barras azules corresponden al experimento y barras rojas al control.

Consumo de Alimento

Ya que una de las características de la DMNID es la polifagia, se optó por evaluar el consumo semanal de alimento de los ratones, observando que dicho consumo se vio aumentado con la diabetización a través de STZ (fig. 3). La polifagia es el incremento del consumo de alimento por la DMNID, debido a la ausencia de internalización glucosa por las células, el cuerpo demanda más glucosa y por lo tanto, más consumo de alimento; en la (fig. 3) se observa que en los controles el consumo varía pero el consumo siempre mostró un aumento. También la DMNID induce la poliuria y la polidipsia pero esos valores no fueron

determinados.

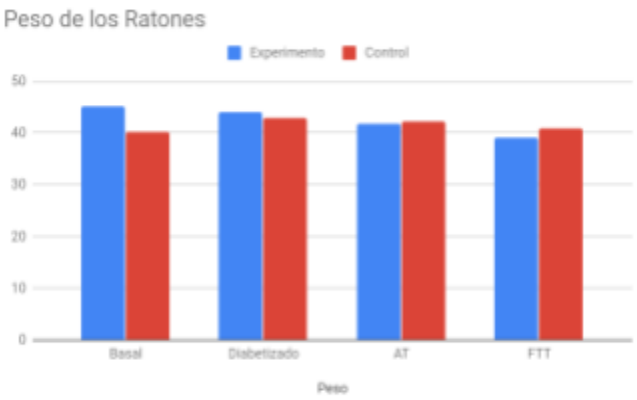


Fig. 4. Peso de los ratones CD1. Barra azul son el experimento y barra roja los controles. Los valores expresados son un promedio.

Peso de los ratones

Los valores del peso del ratón se mantuvieron estables en los cuatro momentos de evaluación de los ratones, con diferencias de máximo 4 g no trascendentales para ser tomadas en cuenta (fig. 4). Solo se observa un lento pero constante descenso en el peso de los ratones.

Conclusión

La STZ induce DMNID en ratones de la cepa CD1. La terapia de transferencia de microbiota fecal no mostró generar un efecto de eubiosis y consecuentemente de mejora de la DMNID, los valores de glucosa en sangre y de peso no son lo suficientemente determinantes como para dar certeza del desarrollo esperado de la metodología; sin embargo, confirmaron un éxito por parte de la STZ de generar la DMNID. Se propone que la lectura de dichos valores a la semana, son demasiados tempranos como para ser concluyentes, un seguimiento por hasta 12 semanas se propone para tener certeza en los resultados.

Bibliografía

1) Cejudo J, Váldes R, Guadarrama AL, Morales RV, Martínez B, Harbige L. Effect of n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation on Metabolic and Inflammatory Biomarkers in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. Nutrients: 2017; 9(6), 1-11.

2) Hernández M, Rivera D. Shamah L, Cuevas L, Gómez L, Gaona E, García D. Instituto Nacional de Salúd Pública. 2 de Julio del 2019.

3) Irazábal Lujambio, J. (2019). *Estadísticas de México*. [online] Federación Mexicana de Diabetes, A. C. Available at: http://fmdiabetes.org/estadisticas-en-mexico/ [Accessed 16 Jul. 2019].

4) Norma Oficial Mexicana. NOM-015-SSA2-2010. Para la prevención y control de la diabetes mellitus. 23 de Julio del 2019.

5) Sapna S, Prabhanshu T. Gut microbiome and type 2 diabetes: where we are and where to go?. The Journal of Nutritional Biochemistry. 2019;(63):101-108.

6) Kennedy E, King K, Baldridge M. Mouse Microbiota Models: Comparing Germ-Free Mice and Antibiotics Treatment as Tools for

Modifying Gut Bacteria. Frontiers in Physiology. 2018;(9):1534.

7) Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. 22 de Julio del 2019.

8) Togashi Y, Shirakawa J, Tomoko O, Shunsuke Y, Mayu K, Ayumi M et al. Evaluation of the appropriateness of using glucometers for measuring the blood glucose levels in mice. Sci Rep. 2016;(6):25465.

9) Gadelkarim, M., Abushouk, A., Ghanem, E., Hamaad, A., Saad, A. and Abdel-Daim, M. (2018). Adipose-derived stem cells: Effectiveness and advances in delivery in diabetic wound healing. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, (107), pp.625-633.

10) Young L, Berglund E, Xinxin Y, May-Yu W, Evans M, Scherer P et al. Hyperglycemia in rodent models of type 2 diabetes requires insulin-resistant alpha cells. PNAS. 2014;(111(36):13217–13222.

11) Kootte, R., Levin, E., Salojärvi, J., Stroes, E., Groen, A. and Nieuwdorp, M. (2017). Improvement of Insulin Sensitivity after Lean Donor Feces in Metabolic Syndrome Is Driven by Baseline Intestinal Microbiota Composition. *Cell Metabolism*, (26(4), pp.611-619.

EFECTOS DEL BISFENOL-A EN EL PROCESO DE DIFERENCIACIÓN DE ADIPOCITOS.

Hernández Puga Ana Gabriela, Guerrero Meza Manuel Fernando, Ramírez Novoa Getsemaní Natalia , Galván Soto Luz Cecilia.

Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de medicina: Universidad Autónoma de Querétaro, México. Teléfono: +52 (442) 1921200, ext: 6240. Dirección: Clavel 200, Col. Prados de la Capilla, Querétaro, Qro. C. P. 76170; México. ana.gabriela.hernandez@uaq.mx

Resumen

El plástico es usado diariamente por los humanos, se ha convertido en el material preferido de las industrias, el bisfenol-A (BPA) es uno de los componentes en la fabricación de plástico, se ha comprobado que BPA es un disruptor endocrino actuando de manera antagónica sobre los receptores de estrógeno y hormonas tiroideas, también se ha demostrado que es un compuesto obesogénico . El objetivo del presente proyecto es determinar el efecto biológico del BPA sobre la regulación de genes tironino-dependientes durante el proceso de diferenciación de adipocitos .Se utilizó como modelo experimental células 3T3-L1 , estas células se trataron con diferentes dosis de BPA 0.001, 0.01, 0.1, 1 y 10 μM, las cuales fueron añadidas en el medio de cultivo a 24 48 y 72h, durante el proceso de diferenciación de los pre-adipocitos .Después del proceso de diferenciación se realizó una tinción con Rojo oleoso y se extrajo el RNA de cada una de las muestras y se realizaron 2 electroforesis , debido al corto tiempo de la estancia al momento de terminar aún no se tenían resultados concluyentes sobre el papel del bisfenol-A en el proceso de diferenciación de adipocitos y si juega un papel importante en la regulacion de genes tironino dependientes

Abstract

Plastic is used daily by humans, it has become the preferred material of the industries, bisphenol-A (BPA) is one of the components in the manufacture of plastic, it has been proven that BPA is an endocrine disruptor acting in a manner Antagonistic about estrogen and thyroid hormone receptors, it has also been shown to be an obesogenic compound. The objective of this project is to determine the biological effect of BPA on the regulation of thyroid-dependent genes during the adipocyte differentiation process. 3T3-L1 cells were used as an experimental model, these cells were treated with different doses of BPA 0.001, 0.01 , 0.1, 1 and 10 μM, which were added in the culture medium at 24-48 and 72h, during the differentiation process of pre-adipocytes.

After the differentiation process a staining with Oily Red was carried out. the RNA was extracted from each of the samples and 2 electrophoresis were performed, due to the short time of the intership I dont have conclusive results on the role of bisphenol A in the differentiation process of adiposites and whether it plays an important role in the regulation of tironin-dependent genes.

Palabras clave: *Bisfenol A, Adipocitos, Regulación genética, Genes tironino-dependientes, diferenciación, hormonas tiroideas.*

Key words: *Bisphenol A, Adipocytes, Genetic regulation, Thyroid-dependent genes, differentiation, thyroid hormones.*

Introducción.

El plástico se ha convertido en uno de los materiales más usados ,esto debido a que presenta características como alta resistencia y bajo costo , lo que lo convierte en uno de los materiales preferidos en la industria , es utilizado para empacar comida y bebidas , es el material del que están hechos la mayoría de los recipientes de uso diario .

El bisfenol-A (BPA) es uno de los materiales utilizados para la fabricación de plástico, es un compuesto orgánico conformado por 2 anillos fenólicos conectados por un puente metilo, con dos grupos metilos unidos al puente. (Kang, 2006)

El BPA fue sintetizado por primera vez en 1891 pero no fue hasta mediados de 1930 cuando el

investigador británico Edward Charles Dodds identificó las propiedades estrogénicas de este compuesto. En 1957 se descubrió que al polimerizar BPA se obtenía un material de alta resistencia, al cual llamaron policarbonato, y fue así como este material comenzó a sustituir metal y vidrio en el mercado. (Vogel, 2009)

El BPA es uno de los compuestos más utilizados en la industria por lo que los humanos están expuestos diariamente a él siendo la mayor exposición a través de los alimentos, debido a que el BPA es uno de los componentes principales de los recubrimientos internos de las latas y se ha descrito que una cantidad considerable de BPA puede migrar de la lata a la comida o bebida. (Bertoli, 2015)

La liberación de BPA en el alimento dependerá de la temperatura de almacenamiento y si existe algún daño interno presente en las latas, ¨se ha observado que la migración de BPA a una temperatura de almacenamiento de 35-47°C es de 3 a 10 veces mayor que a una temperatura de 25°C y el daño interno en la lata aumenta el porcentaje de migración en un 30-40%. Y en un proceso de esterilización la migración puede ser del 80-100%. (Bertoli, 2015)

El BPA es un disruptor endocrino, con la capacidad de unirse a los receptores de estrógeno (ER) , y actuar como antagonista de los receptores al competir con 17-beta estradiol bloqueando la respuesta estrogénica .También posee afinidad por los receptores de hormonas tiroideas (TR) y esto tiene efectos directos sobre la función tiroidea. .(Rochester , 2013)

Estudios muestran que el BPA en concentraciones entre 100 nM y 1μM actúa como antagónico de la hormona tiroidea triyodotironina (T3) en células humanas TSA 201, BPA recluta al co-represor nuclear del receptor de la T3 , esto suprime la activación de la transcripción de genes regulados por la hormona T3. (Welshons, 2006)

La dosis de BPA que se considera aceptable es de 50 μg/kg de peso al día. (Rubin ,2019)

A pesar de que se ha demostrado que la afinidad de BPA a los ER es de 10,000-100,000 veces menor que la del estradiol, en estudios recientes se ha estudiado el mecanismo molecular de acción del compuesto y se han descubierto distintas rutas por las cuales BPA induce la respuesta celular incluso a muy bajas concentraciones (20 μg/kg de peso al día) (Vandenberg,2007). Por ejemplo, se ha demostrado que a una concentración de 1pM el BPA tiene la capacidad de incrementarla la velocidad de entrada de calcio en células tumorales pituitarias de ratón, la entrada de calcio a la célula a su vez desencadena la liberación de prolactina. (Welshons ,2006)

Diversos estudios en animales han mostrado que el BPA está involucrado en el desarrollo de distintas alteraciones del sistema nervioso, tracto reproductivo, incidencia al cáncer y en algunas enfermedades metabólicas como diabetes tipo 2 y obesidad. (García ,2014)

En este sentido el BPA es considerado un compuesto obesogénico , pues estudios empleando células HepG2 han demostrado que el BPA influye de manera directa en la acumulación de lípidos ,esto a bajas concentraciones de BPA (10^{-4}-10^{-12}M) ,este almacenamiento de lípidos se ve favorecido mediante la producción de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria de células HepG2 lo que conduce a un estrés oxidativo y a un estado pro inflamatorio en la célula con la secreción de IL8 y TNF-α.(Huc,2012)

Objetivo

El objetivo del presente proyecto es determinar el efecto biológico del BPA sobre la regulación de genes tironino-dependientes durante el proceso de diferenciación de adipocitos.

Metodología

Modelo experimental

Células 3T3-L1 (Fibroblastos de ratón, ATCC CL-173).

Diseño experimental

Las células 3T3-L1 se trataron con diferentes dosis de BPA 0.001, 0.01, 0.1, 1 y 10 μM, estas fueron añadidas en el medio de cultivo a 24 48 y 72h, durante el proceso de diferenciación de los pre-adipocitos.

Se utilizaron 30 cajas petri de 60mm , las cajas se marcaron de acuerdo a la concentración de BPA que iba a ser añadida (0.001,0.01, 0.1, 1,10 μM) y el número de horas a las cuáles serían expuestos al

compuesto (24,48 y 72 horas) , cada concentración y hora se hizo por duplicado.

Condiciones de cultivo celular

Los fibroblastos de ratón fueron sembrados en una caja Petri de cultivo de 100mm, con medio DMEM (Dulbecco modified Eagles minimal essential médium),10% suero fetal bovino y 1% anti-anti (Antibiótico-anti fúngico) y fueron incubadas a37°C, 95% humedad y 5% CO2. El cambio de medio de cultivo se realizó cada 48h y las células fueron observadas diariamente al microscopio óptico para determinar su viabilidad (presencia, morfología y fijación).

Proliferación de células 3T3-L1

Para promover la proliferación celular de los fibroblastos 3T3-L1 las células fueron sembradas en nuevas cajas de cultivo al alcanzar una confluencia del 70%, como se indica a continuación: se retiró el medio de cultivo y se agregaron 6 mL de tripsina/caja y se incubó a 37°C por 10 minutos. Se recolectó el medio de cultivo en tubos de 1.5 mL y se centrifugaron a 2500 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente.

Posteriormente, el sobrenadante fue retirado y el pellet que contenía las células fue re suspendido con medio DMEM . Se colocaron los fibroblastos 3T3-L1 en cuatro cajas petri de cultivo de 100mm, se incubaron bajo las mismas condiciones (37°C, 95% humedad y 5% CO2; cambio de medio cada 48h). Cuando las cajas alcanzaron una alta confluencia (60-70%) se realizó el mismo procedimiento para la re-siembra pero en este caso las células fueron colocadas en tubos falcón de 15 mL y centrifugadas a 2500 rpm por cinco minutos a temperatura ambiente. Se removió el sobrenadante y las células fueron re suspendidas en medio DMEM. Se colocaron 50 µl de solución celular en cada caja.

Las células fueron sembradas en 30 cajas petri de cultivo de 60mm (Ver Diseño experimental) e incubadas a 37°C, 95% humedad y 5% CO2.; realizando el cambio de medio de cultivo bajo las mismas condiciones descritas previamente.

Diferenciación celular.

Para inducir la diferenciación de los fibroblastos 3T3-L1 hacia adipocitos, las células fueron cultivadas en medio de diferenciación que contenía insulina(10mg/ml), IBMX (50 mg)y dexametasona ; así como la concentración correspondiente de BPA o vehículo.

Estás se incubaron bajo las mismas condiciones anteriormente mencionadas y se hizo el cambió de medio de diferenciación a medio DMEM libre de BPA en las horas correspondientes a cada caja (24, 28,72 h). Se incubaron por 15 días.

Tinción

Se utilizó una tinción de rojo oleoso para determinar evaluar la disposición y concentración de lípidos presente en los adipocitos, así como la diferencia de dicha disposición entre las células tratadas con las concentraciones de BPA utilizadas. El proceso se llevó a cabo de acuerdo a lo anteriormente descrito (R. M. Sargis).

Análisis de datos

Para el análisis de las fotografías tomadas a los cultivos de células se utilizó el programa J Image. Mediante éste se determinó la intensidad celular por área de cada grupo de células.

Extracción de RNA

Se llevó a cabo la extracción de RNA de las muestras con el método de Trizol /Cloroformo y se re suspendieron en agua libre de nucleasas.

Determinación de pureza, concentración e integridad.

Para la determinación de pureza e integridad del RNA extraído se utilizó el equipo NanoDrop , el cual nos arrojó los resultados pertinentes de concentración y relaciones de absorbancia los cuales se muestran en la tabla 2.

Se realizó la electroforesis del RNA extraído para comprobar la integridad de las diversas muestras con gel de agarosa 1.5%, buffer TBE 0.5X ,90V por 20 minutos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta electroforesis se eligieron 5 muestras al azar (3A, 3B, 3C ,4C, 5C) para realizar una segunda electroforesis, en esta electroforesis se incluyeron además de las muestras elegidas 2 muestras basales 1nM y otras 5 muestras correspondientes a experimentos relacionados con el papel del BPA

en las células, la concentración y tiempo de tratamiento se muestran a continuación en la tabla 1.

Tabla 1: Muestras de experimentos alternos.

Muestra	*Tratamiento*	*Duración del tratamiento*
1	Basal 1nm	6 días
2	BPA 1nm	6 días
3	BPA 1nm	2 semanas
4	Basal 1nm	2 semanas
5	ETOH 1nm	2 semanas
6	BPA	Indefinido
7	BPA	Indefinido

Resultados y Discusión

Las células 3T3-L1 crecieron de manera adecuada siguiendo la metodología previamente descrita, no se presentaron signos de contaminación.

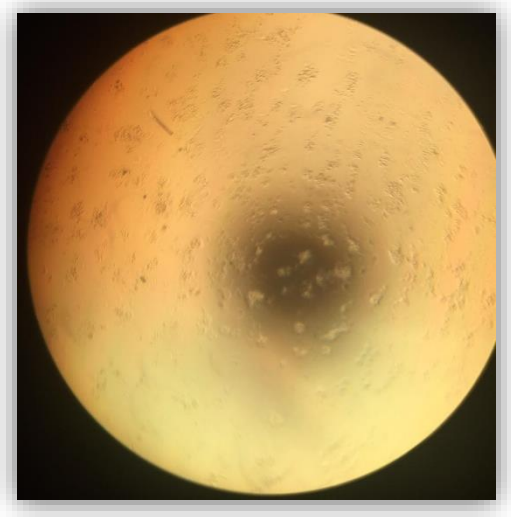


Figura 1: Células 3T3-L1 en medio DMEM , objetivo 10X.

Después de cambiar el medio DMEM por medio de diferenciación se esperaba que aproximadamente el 80% de las células se diferenciara en un lapso de 4-5 días , esto no fue así , se obtuvo el porcentaje deseado de diferenciación hasta después de 15 días , esto debido a que la calidad de la insulina utilizada era baja y se ha demostraron que la insulina es una hormona indispensable para la diferenciación de pre adipocitos , la insulina es la encargada de iniciar la cascada de señalización para la activación del gen adipogénico ,sin la activación de este gen , no hay diferenciación .(Han ,2017)

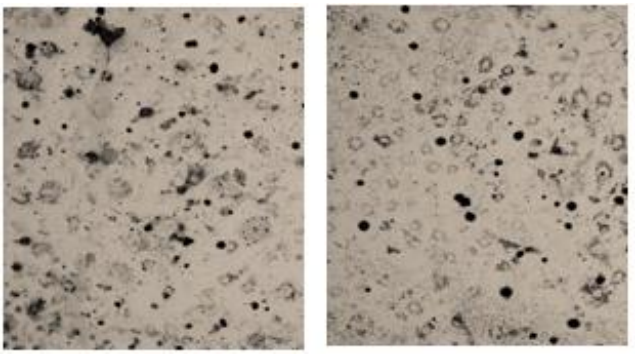


Figura 2: Adipocitos con tratamiento 0.001μM BPA 24 horas (derecha), Adipocitos con tratamiento 10 ɗm 24 horas (izquierda). Objetivo 10X

Tinción

El análisis y comparación de la adipogénesis fueron realizados solamente entre las células tratadas ya que no se elaboró un blanco del procedimiento.

Mediante el programa J Image se determinó la intensidad por área de las imágenes de adipocitos y se construyeron gráficas comparativas. Se pueden observar diversas variaciones entre los tratamientos, dentro de las mismas condiciones de tratamiento como en aquellas que fueron distintas.

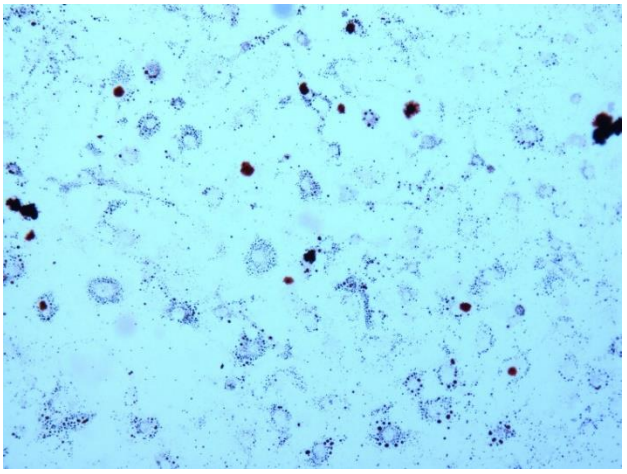


Figura 3.- Fotografía de la tinción rojo oleoso a adipocitos con tratamiento de BPA a una concentración 0.1 μM por 24 horas

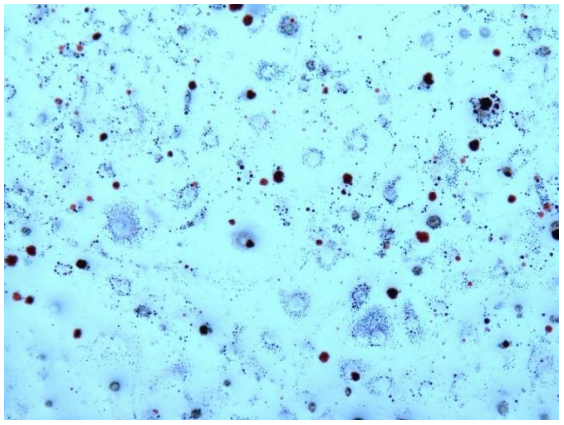
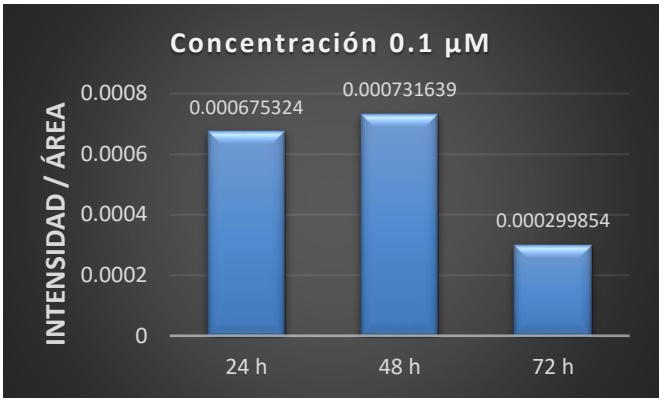
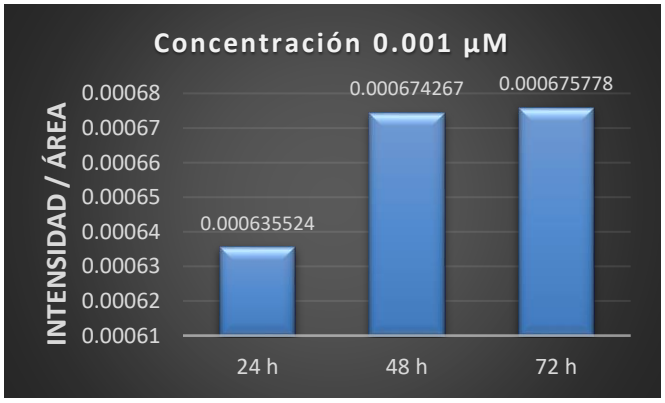


Figura 4.- Fotografía de la tinción rojo oleoso a adipocitos con tratamiento de BPA a una concentración 10 µM por 72horas.

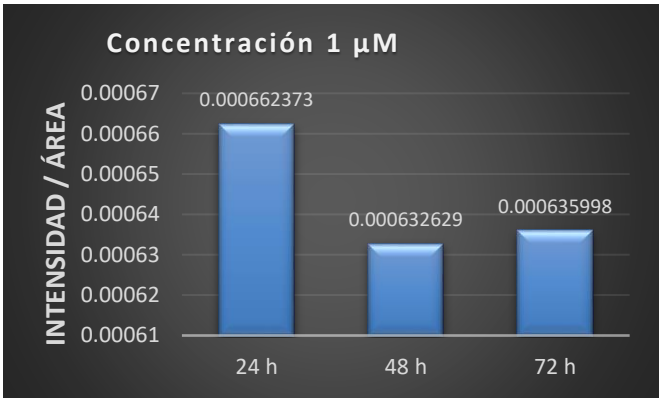
Gráfica 3.- Resultados de intensidad celular por área de adipocitos con tratamiento de BPA a una concentración 0.1 µM.



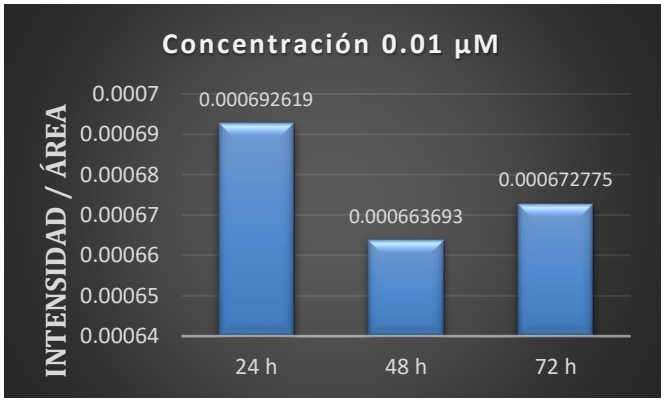
Gráfica 1.- Resultados de intensidad celular por área de adipocitos con tratamiento de BPA a una concentración 0.001 µM.



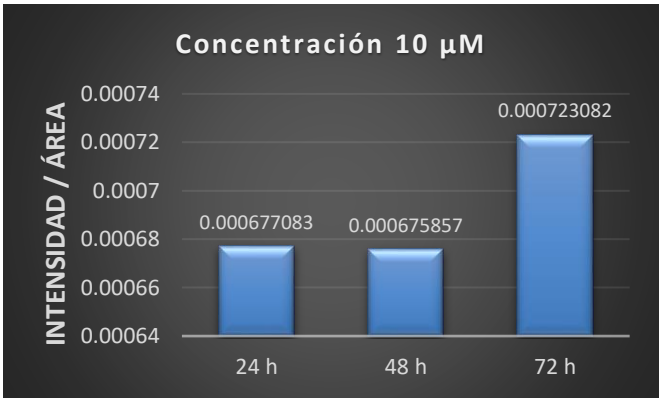
Gráfica 4.- Resultados de intensidad celular por área de adipocitos con tratamiento de BPA a una concentración 1 µM.



Gráfica 2.- Resultados de intensidad celular por área de adipocitos con tratamiento de BPA a una concentración 0.01 µM.



Gráfica 5.- Resultados de intensidad celular por área de adipocitos con tratamiento de BPA a una concentración 10 µM.



Al comparar los resultados obtenidos con resultados previos, se pueden observar diferencias notables. De acuerdo a trabajos anteriormente realizados (M. A. Clavijo), se esperaba que la cantidad de gotas de lípidos aumentara conforme el tiempo de exposición a BPA y de diferenciación fuera mayor. Sin embargo, como se puede observar en las gráficas 4, 3 y 2, la presencia de lípidos fue mayor a las 24 horas que a las 72 horas. Un factor que pudo influir en los resultados fue el equipo utilizado para la toma de fotografías. El tamaño de las cajas Petri no permitía un libre movimiento de los objetivos del microscopio, por lo que no era posible acceder al área total de las células. De igual forma, la sincronización de las células se pudo ver afectada por un incremento de temperatura anormal ocurrido previamente a la diferenciación. La temperatura de la incubadora aumentó a 47 º C, lo cual pudo ocasionar la muerte de un gran porcentaje de células o el desprendimiento de éstas de su adhesión a la caja Petri y con ello una confluencia distinta en cada uno de los grupos de células.

El grupo de células que presentó una mayor presencia de lípidos fue el tratado con 0.1 µM de BPA por 48 horas. Es un resultado que no se esperaba, ya que de acuerdo a la literatura (F. Ariemma), la adipogénesis era mayormente inducida a bajas concentraciones de BPA. Al comparar los resultados obtenidos con resultados previamente analizados es posible observar que existen variaciones notables entre los distintos grupos estudiados durante el experimento. Estas discrepancias deben de ser analizadas para verificar si están relacionadas a errores durante el proyecto o si poseen relación con el tratamiento que se dio a las células. Al analizar las imágenes obtenidas tras la tinción, se puede observar una pequeña diferencia entre la estructura y la forma en que las células almacenan los lípidos. Esta evidencia da pie a futuras investigaciones para analizar si existe diferencia entre el almacenamiento de lípidos dentro de las células y cuales son los factores que podrían influir en el proceso.

Se determinó que la concentración de BPA a 0.1 µM por 48 horas fue la condición que produjo una mayor concentración de lípidos dentro de los adipocitos. Mientras que, a la misma concentración durante 72 horas, se produjo la menor concentración de lípidos. No fue posible establecer una relación directa entre los tratamientos de BPA y la adipogénesis, sin embargo, se pueden observar diferencias dependiendo del tiempo a exposición.

Pureza

La pureza y concentración correspondiente al RNA obtenido en la extracción de las muestras se obtuvo gracias al equipo NanoDrop estos datos se agruparon en la siguiente tabla.

Tabla 2: Concentración de RNA y relaciones de absorbancia.

Muestra	[BPA] µM	Horas de tratamiento	[RNA] µg/ml	Relación absorbancia 260/230	Relación absorbancia 260/280
1 A	0.001	24	75.92	0.26	1.702
1 B	0.001	48	176.281	0.264	1.141
1 C	0.001	72	79.6	0.32	1.725
2 A	0.01	24	466.684	1.415	1.962
2 B	0.01	48	237.362	1.028	1.92
2 C	0.01	72	365.723	0.923	1.807
3 A	0.1	24	517.765	0.659	1.798
3 B	0.1	48	543.405	0.843	1.931
3 C	0.1	72	650	1.385	1.883
4 A	1	24	416.124	1.345	1.943
4 B	1	48	257.362	1.303	1.907
4 C	1	72	508.325	1.023	1.924
5 A	10	24	588.685	0.711	1.814
5 B	10	48	381.043	1.065	1.939
5 C	10	72	462.404	0.66	1.886

Se obtuvo resultados variados tanto de concentración como de pureza de cada una de las muestras, lo que nos indica una falla en la técnica de extracción, se tiene que analizar el protocolo y la forma de llevarse a cabo.

Al correr la electroforesis de estas 15 pruebas se obtuvo lo siguiente:

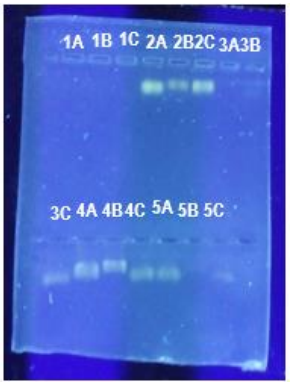


Figura 5: Gel de electroforesis de las muestras obtenidas en la extracción.

Esta imagen nos muestra la integridad de cada una de las extracciones, como se puede observar solo hay 10 bandas, 8 de ellas muy visibles (2A, 2B, 2C, 3C, 4A ,4B, 4C ,5A) y 2 casi imperceptibles (5C, 3B).
La ausencia de banda nos indica una degradación del material genético.
Esta degradación se pudo dar durante la extracción o durante la manipulación del RNA para electroforesis.
Se procedió a la segunda electroforesis, en esta ocasión se utilizaron 5 muestras (3A, 3B, 3C ,4C, 5C) , para determinar si la degradación se dio por la manipulación al prepararse para la electroforesis o desde antes a la par se corrieron también las muestras de la tabla 1 y una escalera de 1000pb .

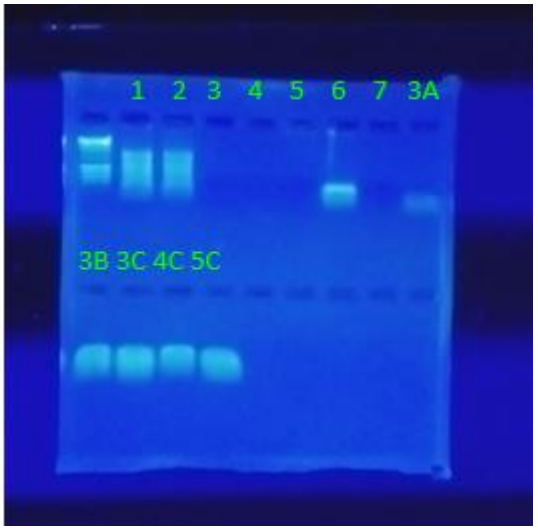


Figura 6:Gel de electroforesis muestras (3A,3B,3C,4C ,5C) y muestras de la tabla 1.

Como se observa en la imagen están presentes las bandas de las muestras 3A, 3B, 3C ,4C y 5C por lo que se comprueba que la degradación se dio por mal manejo de la muestra.
El siguiente paso es la síntesis de cDNA a partir del RNA extraído.

Conclusión.

Las perspectivas a futuro consisten en determinar la relación entre el tiempo a exposición y el proceso de diferenciación, así como la posible diferencia que puede existir en el almacenamiento de lípidos dentro de la célula dependiendo de las condiciones de tratamiento.
El proyecto va por buen camino pero aún hay mucho por hacer, debido al corto tiempo de la estancia no me fue posible obtener resultados concluyentes de los efectos del bisfenol-a en el proceso de diferenciación de adipocitos y su papel en la regulación de genes tironino dependientes.

Agradecimientos

A la doctora Ana Gabriela Hernández Puga por la oportunidad que me dio de incluirme en su proyecto, al médico Fernando Manuel Guerrero Meza por su ayuda y enseñanza, a mi compañera Luz Cecilia Galván Soto por ser un gran apoyo y a la Universidad Autónoma de Querétaro por la facilidad del uso de las instalaciones y los recursos brindados.

Bibliografía

- Bertoli, S., Leone, A., & Battezzati, A. (2015). Human Bisphenol A Exposure and the "Diabesity Phenotype". Dose-response : a publication of International Hormesis Society, 13(3), 1559325815599173. doi:10.1177/1559325815599173
- F. Ariemma, V. D'Esposito, D. Liguoro, "Low-Dose Bisphenol-A Impairs Adipogenesis and Generates Dysfunctional 3T3-L1 Adipocytes", PLoS ONE 11(3): e0150762. Disponible en: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150762 [Consultado en 2019].
- García-Arevalo, M., Alonso-Magdalena, P., Rebelo Dos Santos, J., Quesada, I., Carneiro, E. M., & Nadal, A. (2014). Exposure to bisphenol-A during pregnancy partially mimics the effects of a high-fat diet altering

glucose homeostasis and gene expression in adult male mice. PloS one, 9(6), e100214. doi:10.1371/journal.pone.0100214

- Han, H., Wei, W., Chu, W., Liu, K., Tian, Y., Jiang, Z., & Chen, J. (2017). Muscle Conditional Medium Reduces Intramuscular Adipocyte Differentiation and Lipid Accumulation through Regulating Insulin Signaling. International journal of molecular sciences, 18(8), 1799. doi:10.3390/ijms18081799

- Huc, L., Lemarié, A., Guéraud, F., & Héliès-Toussaint, C. (2012). Low concentrations of bisphenol A induce lipid accumulation mediated by the production of reactive oxygen species in the mitochondria of HepG2 cells. Toxicology in Vitro, 26(5), 709–717.doi:10.1016/j.tiv.2012.03.017

- Kang, J.-H., Kondo, F., & Katayama, Y. (2006). *Human exposure to bisphenol A. Toxicology, 226(2-3), 79–89.* doi:10.1016/j.tox.2006.06.009

- M. A. Clavijo, D. G. Camargo, C. G. Alegría, "Adipogénesis in vitro de células 3T3-L0000001", Revista Med, Vol. 15, Issues 2, pp 170-176. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-52562007000200004#tab1 [Consultado en 2019].

- R. M. Sargis, D. N. Johnson, R. A. Choudhury, et. al. "Environmental Endocrine Disruptors Promote Adipogenesis in the 3T3-L1 Cell Line through Glucocorticoid Receptor Activation", Obesity, Vol. 18, Issue 7, pp. 1283-1288. Disponible en: https://doi.org/10.1038/oby.2009.419 [Consultado en 2019].

- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. Reproductive Toxicology, 42, 132 155.doi:10.1016/j.reprotox.2013.08.008

- Rubin, B. S., Schaeberle, C. M., & Soto, A. M. (2019). The Case for BPA as an Obesogen: Contributors to the Controversy. Frontiers in endocrinology, 10, 30. doi:10.3389/fendo.2019.00030

- Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., & Welshons, W. V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). Reproductive Toxicology, 24(2), 139–177.doi:10.1016/j.reprotox.2007.07.010

- Vogel S. A. (2009). The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol a "safety". American journal of public health, 99 Suppl 3(Suppl 3), S559–S566. doi:10.2105/AJPH.2008.159228

- Welshons, W. V., Nagel, S. C., & vom Saal, F. S. (2006). Large Effects from Small Exposures. III. Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure. Endocrinology, 147(6), s56–s69. doi:10.1210/en.2005-1159

RELACIÓN MIOSTATINA-CORTISOL EN ADULTOS CON ENTRENAMIENTO FÍSICO SISTEMÁTICO

Ramírez-Reséndiz F.[1]; Curiel-Cervantes V.[2]; Camacho-Barrón M.[2]; Anaya-Loyola A[3].
Laboratorio de Nutrición Humana. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.
Tel (442) 1 92 12 00 Ext. 5307
[1]fatima.donc@gmail.com
[2]viana.ccjv@gmail.com;
marielacamachob@yahoo.com.mx
[3]aracely.anaya@uaq.mx

RESUMEN

La miostatina regula negativamente el desarrollo muscular, se ha sugerido que es necesaria para los efectos catabólicos de glucocorticoides. El cortisol es un glucocorticoide que aumenta en situaciones de estrés, aumentar la actividad física aumenta los niveles de cortisol. El objetivo fue analizar si existe una relación positiva entre miostatina-cortisol y si hay diferencias entre grupos (nadadores y controles). Se obtuvieron muestras de sangre de ambos grupos en edades de 30 a 60 años. Se obtuvo el plasma y se almacenó a -70°C. La miostatina requirió ser activada por HCl y NaOH/HEPES, su concentración y la de cortisol se determinaron mediante ELISA. Las pruebas estadísticas se realizaron con SPSS. Las medianas entre los grupos fueron diferentes. La concentración de cortisol fue de 21.8 ± 7.5 y 14.9 ± 12.9 ug/dL mientras que en miostatina fue de 3.48 ± 1.02 y 4.52 ± 1.77 ng/ml en nadadores y controles respectivamente. La relación entre miostatina y cortisol en nadadores (0.073) y controles (0.208) no fue significativa ($P<0.05$), probablemente porque ambos grupos tenían un adecuado consumo energético. En conclusión, mientras el consumo energético sea adecuado, al aumentar la miostatina no necesariamente aumenta el cortisol y viceversa, posiblemente exista una relación significativa entre miostatina y cortisol cuando no hay un aporte energético adecuado.

Palabras clave: Miostantina, cortisol, masa muscular, ELISA.

ABSTRACT

Myostatin negatively regulates muscle development, it has been suggested that it is necessary for the catabolic effects of glucocorticoids. Cortisol is a glucocorticoid that increases in stressful situations, increases physical activity increases cortisol levels. The objective was to analyze if there is a positive relationship between myostatin-cortisol and if there are differences between groups (swimmers and

controls). Blood samples were obtained from both groups at ages 30 to 60 years old. Plasma was obtained and stored at -70 ° C. Myostatin required to be activated by HCl and NaOH / HEPES, its concentration and cortisol concentration were determined by ELISA. Statistical tests are presented with SPSS. The medians between the groups were different. The cortisol concentration was 21.8 ± 7.5 and 14.9 ± 12.9 ug / dL while in myostatin it was 3.48 ± 1.02 and 4.52 ± 1.77 ng / ml in swimmers and controls respectively. The relationship between myostatin and cortisol in swimmers (0.073) and controls (0.208) was´t significant (P <0.05), probably because both groups affected adequate energy consumption. In conclusion, as long as energy consumption is adequate, increasing myostatin doesn´t necessarily increase cortisol and vice versa, there is possibly a significant relationship between myostatin and cortisol when there isn´t adequate energy consumption.

Keywords: Myostatin, cortisol, muscle mass, ELISA.

1. INTRODUCCIÓN

La masa muscular (MM) facilita la movilidad, almacena proteínas y regula los niveles de sustancias como glucosa, colesterol y triglicéridos. Sin embargo, la edad, la falta de actividad física y una dieta baja en proteínas ocasionan pérdida de MM asociada con enfermedades cardiovasculares, cáncer, obesidad, enfermedades hepáticas y el deterioro músculo-esquelético en adultos mayores (Zimmermann, 2004).

Las respuestas fisiológicas mejoran con el aumento adecuado de MM, este mecanismo está controlado por hormonas anabólicas que estimulan la construcción y reparación del tejido y por hormonas catabólicas que estimulan la descomposición de carbohidratos, grasas y proteínas (Williams, 2002). Una de las principales hormonas catabólicas es el cortisol, un glucocorticoide circadiano que aumenta con el estrés (Suarez et al., 2007). El cortisol eleva los niveles de glucosa en la sangre induciendo el catabolismo de proteínas e inhibe el crecimiento de masa muscular mediante la modulación de la vía GH-IGF (Galt et al., 2016). Un aumento en la actividad física crea una necesidad energética muscular y el organismo entra en estrés para compensar la disminución de glucosa (Rivera et al., 2016).

Un marcador del estado biológico de la MM es la miostatina o factor diferenciador de crecimiento 8 (GDF-8). En el ser humano, el gen de miostatina (MST) se localiza en el cromosoma 2, con 2 intrones y dos exones que codifican 375 aminoácidos (Arce et al., 2005). La principal acción de la miostatina es regular negativamente el desarrollo muscular, impidiendo la

proliferación y activación de células satélites musculares al inhibir la proliferación de mioblastos y la transformación de estos en miotubos. Al carecer de una miostatina funcional se incrementa el número y tamaño de fibras musculares y se disminuye la adiposidad (Arce et al., 2005).

La expresión de miostatina aumenta con los glucocorticoides lo que sugiere que es necesaria para sus efectos catabólicos. La miostatina en mamíferos es regulada a través de elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE) dentro del promotor de miostatina (Galt et al., 2016). El cortisol toma las proteínas del músculo para reconvertir por gluconeogénesis, glucosa en el hígado, por ello, incrementa la degradación de proteínas y disminuye su síntesis (Suarez et al., 2007). Por lo que se esperaría que al aumentar el cortisol la expresión de miostatina aumente en personas con menor masa muscular.

El objetivo fue analizar si existe una relación positiva entre miostatina-cortisol y si hay diferencias entre grupos (nadadores y controles).

2. METODOLOGÍA

2.1 Obtención de muestras

Se obtuvieron 5 ml de muestras de sangre, se centrifugaron a 500 xg para separar el sobrenadante y realizar alícuotas de 1.5 ml que se almacenaron a -70°C.

Tabla 1: Características descriptivas de la muestra.

	Nadadores	Controles
Muestra	20	21
Edades (años)	30-60	30-60
Entrenamiento	2 sesiones de tolerancia lactacida en 5 días totales	Con ejercicio aeróbico ≤ 180 min por semana
NAF (Nivel de Actividad Física)	1.6-2	<1.4

2.2 Determinación de cortisol en suero humano por ELISA

Se adicionaron 20 uL de los controles, estándares y muestras (los controles y los estándares se realizaron por duplicado) en cada pozo. Se agregaron 100 uL del anticuerpo conjugado con Peroxidasa de rábano picante (HRP). Se incubó por 45 min a temperatura ambiente y a 150 rpm. Se lavó 3 veces con buffer de lavado, y se agregaron 150 uL del sustrato TMB para después incubarlo por 20 min a temperatura ambiente y a 150 rpm. Se agregaron 50 uL de la solución STOP y se midió la absorbancia a 450 nm antes de que pasaran 20 min.

2.3 Activacion de la miostatina

Se prepararon 10 ml de HCl 1N con 9.1 ml de agua destilada y 0.9 ml de HCl 12 N. Se prepararon 10 ml de 1.2 N NaOH/0.5 M HEPES con 7.5 ml de agua destilada y 1.2 ml de NaOH 10 N, se mezclaron y agregaron 1.2 g de HEPES para aforar a 10ml.

A 100 ul de cada muestra se agregaron 50 ul de 1 N HCl y se incubó por 10 min a temperatura ambiente. Después se agregaron 50 ul de 1.2 N NaOH/0.5 M HEPES, se mezclaron y agregaron 200 ul de la solución de dilución (RD5-26).

2.4 Determinacion de miostatina (GDF-8) en suero humano por ELISA

Se agregaron 50 uL de diluyente de ensayo (RD1-17) a cada pozo. Se adicionaron 50 uL de controles, estándares y muestras (los estándares y controles se realizaron por duplicado). Se Cubrió la placa e incubó a 150 rpm por 2 horas a temperatura ambiente. Se lavó la placa 4 veces con buffer de lavado para agregar 200 uL del anticuerpo conjugado y se incubo por 2 horas a temperatura ambiente a 150 rpm posteriormente se lavó la placa 4 veces con buffer de lavado y se adicionaron 200 uL del sustrato para incubar por 30 min protegido de la luz a temperatura ambiente. Se agregaron 50 uL de la solución STOP y se agitó suavemente para medir la absorbancia a 450 nm y a 550 nm. A las lecturas de 450 nm se les restaron las lecturas a 550 nm para corregir la longitud de onda.

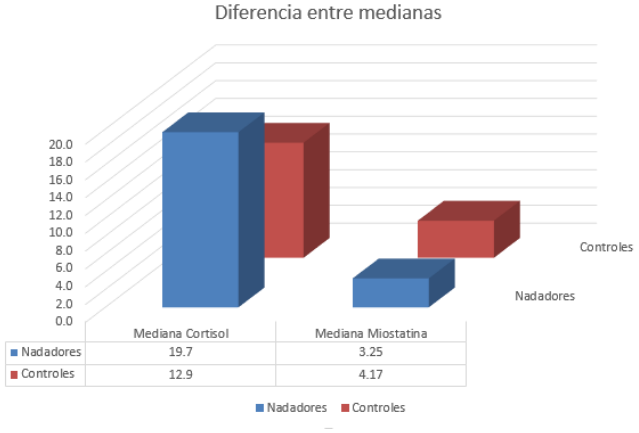
2.5 Análisis estadístico

Se utilizó el programa SPSS para el análisis estadístico. Se utilizaron las pruebas de Kolmogorov-Smimov con corrección de la significación de Lilliefors y la prueba con Shapiro-Wilk para observar si existía una distribución normal. Posteriormente se realizó la prueba de Mann-Whitney para pruebas no paramétricas. Se realizó la prueba de correlación de Spearman utilizando una significancia de 0.05.

3. RESULTADOS

La concentración promedio de cortisol en nadadores fue de 21.8 ± 7.5 ug/dL y en controles de 14.9 ± 12.9 ug/dL, mientras que en miostatina fue de 3.48 ± 1.02 ng/ml en nadadores y 4.52 ± 1.77 ng/ml en controles.

Con la prueba de Shapiro se obtuvo una significancia de 0 tanto en miostatina como cortisol (P<0.05), lo que significa que los datos no tienen una distribución normal.



Grafica 1: Comparación entre medianas

La prueba de Mann-Whitney, permite contrastar las medianas de dos grupos independientes con libre distribución. La significancia bilateral en miostatina fue de 0.032 y cortisol 0.0 (P<0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta

la alterna, es decir, los niveles de miostatina y cortisol en controles y nadadores son diferentes.

Tabla 2: Comparación del coeficiente Rho de Spearman

Nadadores		
	Cortisol	Miostatina
Cortisol	1	0.073
Miostatina	0.073	1
Controles		
Cortisol	1	0.208
Miostatina	0.208	1

El coeficiente Rho de Spearman tanto en nadadores (0.073) como en controles (0.208) no fue significativo, debido a que el valor se encuentra más cercano a 0 que a 1, no hay una relación significativa entre miostatina y cortisol en ninguno de los grupos.

4. DISCUSIÓN

Las medias de miostatina entre controles y nadadores son diferentes, los niveles de miostatina son menores en los nadadores debido a que el ejercicio reduce el mRNA de miostatina en el musculo, favoreciendo la proliferación de mioblastos y su transformación en miotubos, por un aumento de los valores de miogenina y myoD, factores de transcripción miogénicos (Allen et al., 2011). Por lo contrario con periodos de menor actividad física aumenta la miostatina estimulando el catabolismo muscular al inducir apoptosis y pérdida de proteínas (Arce, et al., 2005).

La secreción de cortisol fue distinta tanto en el grupo control como en el grupo con entrenamiento sistemático (nadadores). Esto puede deberse a la respuesta de secreción del cortisol frente al ejercicio físico. Los entrenamientos de resistencia no tienen incidencia en la respuesta del cortisol, mientras que un entrenamiento de velocidad puede disminuir su respuesta, los ejercicios de resistencia pueden provocar incrementos en las concentraciones plasmáticas de cortisol, mientras que los ejercicios realizados a intensidades de entre el 60 y el 70% de la frecuencia cardíaca máxima y los ejercicios de fuerza pueden disminuirlo (Sheikholeslami et al., 2015), también el estado psicológico puede provocar una fatiga acumulada, incluso los valores de cortisol basal y su respuesta son influidos por componentes genéticos (Suarez et al., 2007).

No se encontró una relación positiva significativa entre la miostatina y cortisol probablemente porque ambos grupos tenían un adecuado consumo energético, el consumo de proteínas en ambos grupos no representó más del consumo calórico diario total recomendado. Por lo que al aumentar la miostatina no necesariamente aumenta el cortisol ya que con el aporte calórico adecuado el cortisol se secreta menos. La nutrición depende esencialmente de la alimentación, Si nuestras células no reciben los aportes nutritivos adecuados, se produce una gran

carga de estrés debida a esta demanda interna insatisfecha (Díaz F., 2007).

Según lo reportado por Vambini et al., las concentraciones de cortisol cambian significativamente en sujetos privados de energía, mientras que los niveles de folistatina aumentan para unirse a miostatina y dar lugar a un complejo inactivo, la folistatina podría actuar directamente en el músculo, y regular la accesibilidad de la miostatina a su receptor formando una especie de barrera que difucultaría el paso de moléculas de miostatina activa, este mecanismo permite una protección contra la pérdida excesiva de masa muscular cuando la disponibilidad de nutrientes es limitada en situaciones de ayuno (Vambini et al., 2011).

5. CONCLUSIÓN

Existen diferencias entre miostatina y cortisol en adultos con entrenamiento sistemático y los controles utilizando la prueba de Mann-Whitney, sin embargo al realizar la correlación con el método de Spearman no fue significativa, probablemente porque ambos grupos tenían un aporte energético adecuado a sus necesidades. Se pueden realizar más estudios para encontrar una relación positiva significativa entre miostatina y cortisol pero con muestras de una población que no tiene el aporte energético adecuado.

6. REFERENCIAS

Allen, D., Hittel, D., McPherron, A. (2011). Expression and Function of Myostatin in Obesity, Diabetes, and Exercise Adaptation. Med Sci Sports Exerc. 43(10): 1828–1835. doi:10.1249/MSS.0b013e3182178bb4.

Arce, V. M., Carneiro, I., Fernández-Nocelo, S., & Devesa, J. (2005). La miostatina: un regulador autocrino/paracrino del desarrollo muscular. Endocrinología y Nutrición, 52(7), 350–357. doi:10.1016/s1575-0922(05)71031-7

Díaz, F. (2007). Estrés alimentario y salud laboral VS. Estrés laboral y alimentación equilibrada. Med Segur Trab; Vol LIII Nº 209: 93-99

Galt, N. J., McCormick, S. D., Froehlich, J. M., & Biga, P. R. (2016). *A comparative examination of cortisol effects on muscle myostatin and HSP90 gene expression in salmonids. General and Comparative Endocrinology, 237, 19–26.*doi:10.1016/j.ygcen.2016.07.019

Heyduk, E., Hickey, R., Pozzi, N., & Heyduk, T. (2018). *Peptide ligand-based ELISA reagents for antibody detection. Analytical Biochemistry.*doi:10.1016/j.ab.2018.08.012

Rivera, A., Macías, J., Ochoa, E., Castellanos, A. (2016). Respuesta de la glucosa sanguínea en el ejercicio físico máximo. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab; 63 (2): 79-81

Sheikoleslami, D., Ahmadi, S., Salavati, R. (2013). Effects of Resistance Exercise Orders on Number of Repetitions, Serum IGF-1, Testosterone and Cortisol Levels in Normal-Weight. Sports Medicine Research Center. 7(1). doi: 10.5812/asjsm.30503

Suárez, A. M., Javierre, C., Ventura, J. L., Garrido, E., Barbany, J. R., & Segura, R. (2007). Diferencias interindividuales en las concentraciones de cortisol plasmático tras una hora de ejercicio mixto aeróbico-anaeróbico. Apunts. Medicina de l'Esport, 42(153), 7–12. doi:10.1016/s1886-6581(07)70031-2

Vambini, M. T., Arois, K. N., Chamberland, J. P., Mantzoros, C. S. (2011). Energy Deprivation Alters in a Leptin- and Cortisol-Independent Manner Circulating Levels of Activin A and Follistatin But Not Myostatin in

Healthy Males Clin Endocrinol Metab, 96(11):3416 –3423. doi: 10.1210/jc.2011-1665

Williams, M.H. (2002). *Nutrición para la salud, la condición física del deporte*, Barcelona, España: Paidotribo.

Zimmermann, K. (2004). *Entrenamiento muscular*, Barcelona, España: Paidotribo.

“Consumo de sodio y yodo y su correlación con la tensión arterial en escolares del Municipio de Querétaro, Querétaro”

Ángeles Torres-González[1], Adriana Jheny Rodríguez-Méndez[2], Nicolás Camacho-Calderón[2], David ✉ Gustavo García-Gutiérrez [3], Pablo García-Solís [2] .

1 Maestría en Ciencias en Biomedicina. Facultad de Medicina (FM), Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), México
2 Departamento de Investigación Biomédica, FM, UAQ, México.
3 Facultad de Química, UAQ, México.

Palabras clave: tensión arterial, sal, yodo, escolares.

RESUMEN
La hipertensión arterial sistémica (HAS) es una enfermedad silenciosa, que cada año cobra la vida de más de 9 millones de personas en el mundo debido a comorbilidades asociadas. En solo 40 años, la población de hipertensos se duplicó en el mundo (de 500 millones a más de mil millones) y cabe mencionar que, la HAS es considerada como un factor de riesgo para sufrir eventos cardio y cerebrovasculares que son primera causa de muerte en México y en el mundo. Su prevalencia aumenta de 40-65% entre los adultos después de los 25 años, sin embargo, el panorama para la población infantil no es más alentador, ya que nuestro país es número uno en obesidad infantil y obesidad en edad adulta, lo que se considera factor de riego para padecer HAS. Aunado a esto, existe un consumo excesivo de sal, varias veces por arriba de lo recomendado (≤3g/d para escolares), que está considerado también, como factor de riesgo para padecer HAS.
Mediante una colecta de orina de 24h en una muestra de 131 escolares, encontramos una correlación positiva y significativa entre la ingesta excesiva de sodio y la tensión arterial entre la población escolar, hallazgo que difiere de otros equipos de trabajo que no han obtenido datos significativos para establecer dicha correlación.

INTRODUCCION
La hipertensión arterial sistémica (HAS) es una de las enfermedades crónicas con mayor prevalencia en el mundo cuyas complicaciones causan anualmente 9.4 millones de muertes (World Health Organization *et al*., 2013.Campos-Nonato et al., 2018). En México, la HAS es un problema de salud pública que afecta a 18 millones de mexicanos y donde el 1-3% son escolares y adolescentes (Gutiérrez *et al*., 2012. Acosta-Berrelleza., *et al* 2017. Instituto Nacional de Estadística y Geografía., 2017). Los principales factores de riesgo asociados a la HAS son las enfermedades renales, la mala alimentación, factores hereditarios, la inactividad física, el sobrepeso, la obesidad y el consumo excesivo de sal (Rodríguez-Herrera *et al*., 2008. Gutiérrez-Hernández *et al*., 2014. Muhihi *et al*., 2018).
Debido a esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana para la Salud (OPS) recomendaron en 1993 una disminución en el consumo de sodio, reduciendo el consumo de sal a <5 g/día. Con esta medida se pretende reducir la prevalencia de HAS en un 25% y un 18% la incidencia de

cardiopatía coronaria (World Health Organization *et al*., 2013). Se estima que aproximadamente la mitad de los eventos cardiovasculares son atribuibles a la HAS. Sin embargo, muchas personas no son conscientes de ser hipertensos y los accidentes isquémicos y vasculares a menudo ocurren sin un diagnóstico previo de hipertensión. Las estrategias gubernamentales de toda la población apuntan a reducir los factores de riesgo de la dieta y promover factores protectores. Los expertos reconocen como uno de estos factores protectores la ingesta restringida de sodio (Na) por debajo de 5g (87 mmol) por día (Beer-Borst *et al.,* 2018).

El panorama en la población escolar, no es muy alentador, ya que la prevalencia de HAS en niños es de 1% a 3%, y asciende a 30% en adolescentes obesos (Gambeta & Chiesa., 2013. Acosta-Berrelleza., *et al* 2017). Aunque la HAS es más frecuente en adultos, los estudios prospectivos de cohortes han demostrado que la HAS en la infancia y la adolescencia se asocian con una presión arterial elevada en el futuro y representa las etapas iniciales de la HAS en la edad adulta (Marrodán *et al*., 2013; Juonala *et al.,* 2006; Andrade *et al.,* 2010, Vega-Vega *et al*., 2018).
En la edad pediátrica adquiere relevancia el monitoreo de la tensión arterial y el control de los factores de riesgo asociados, ya que esta población suele ser asintomática. Su detección y diagnóstico temprano, representa una disminución en las probabilidades de padecer complicaciones en la edad adulta (Stalmer et al., 1991). Es por esto que, el objetivo principal de este trabajo fue, establecer si existe una correlación entre el consumo de sal y la tensión arterial entre escolares.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio transversal de correlación mediante la selección aleatoria de 149 escolares de ambos sexos, de entre 5-12 años, aparentemente sanos. El proyecto fue aprobado por el comité de Bioética de la Facultad de Medicina, por el consejo de investigación y Posgrado de la misma y por las autoridades escolares.

Determinación antropométrica

Se obtuvieron los datos de sexo, edad, talla (estadímetro Seca 213), peso (Taniita BC 543 SV) y tensión arterial (Baumanómetro anaeroide y mediante Tablas Percentilares del 4th Report del JNC) en un formato proporcionado por el Instituto del Deporte y la Recreación del Estado de Querétaro (INDEREQ) y en colaboración con el Programa escolar Ponte al 100.

Recolección de muestras de orina

Se realizaron pláticas informativas con los padres de familia y las autoridades escolares para la obtención del Consentimiento Informado. La colecta de orina se hizo del día 4-5 de Febrero de 2018, en un frasco estéril con capacidad para 2,700 ml y se entregó en el plantel escolar. Estas fueron transportadas al laboratorio de Endocrinología y Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), donde se homogenizaron, se midió el volumen, se hicieron 3 alícuotas de 14.5 mL y se refrigeraron a - 20 ºC para su posterior estudio. El resto se desechó.

Análisis bioquímico

La concentración de creatinina se determinó por el método de Jaffé en la Unidad de Servicios Químicos de la Facultad de Química de la UAQ, donde las muestras urinarias con valores de creatinina por debajo de 7 mg/kg/24/h (clasificadas como un volumen insuficiente de orina) o por arriba de 30 mg/ kg/24/h (clasificadas como volumen excesivo) se excluyeron (Maldonado-Martín *et al.,* 2002; Méndez-Villa *et al.,* 2016).
Posteriormente la determinación de sodio excretado en la orina de 24h se llevó a cabo mediante la técnica del Ión Selectivo en la Unidad de Servicios Químicos. Los resultados se expresan en mmol/24h.
La cuantificación de yoduria de 24h se hizo mediante el método colorimétrico tradicional de Sandell-Kolthoff, el cual incluye la digestión de substancias interferentes en la orina con persulfato de amonio (como agente oxidante) y la reducción del sulfato cérico en arsenato, en presencia de yodo (Pino *et al*, 1986). La reacción se dejó reposar por 30 min a 25 ºC y la absorbancia se midió en un lector Multiskan Ascent de microplacas a 405nm.Los resultados se expresan como microgramos por litro (µg/L) y la excreción urinaria de yodo (UIE) se expresa en microgramos por 24h.

RESULTADOS

Para el presente trabajo de investigación participaron 131 escolares de entre 5- 12 años de edad, provenientes de una escuela pública de educación básica, de la ciudad de Querétaro, Querétaro.

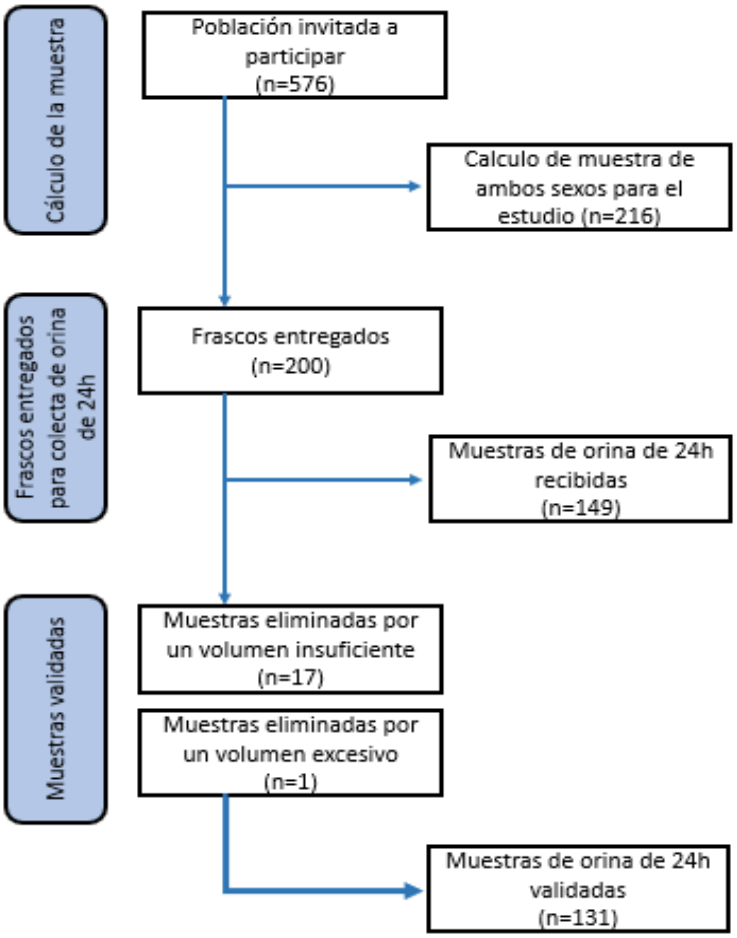


Fig.1 Diagrama de flujo para la obtención de las muestras de orina de 24h.

Las muestras urinarias con valores de creatinina por debajo de 7 mg/kg/24/h (clasificadas como un volumen insuficiente de orina) o por arriba de 30 mg/ kg/24/h (clasificadas como volumen excesivo) se excluyeron (Maldonado-Martín et al., 2002; Méndez-Villa et al., 2016).

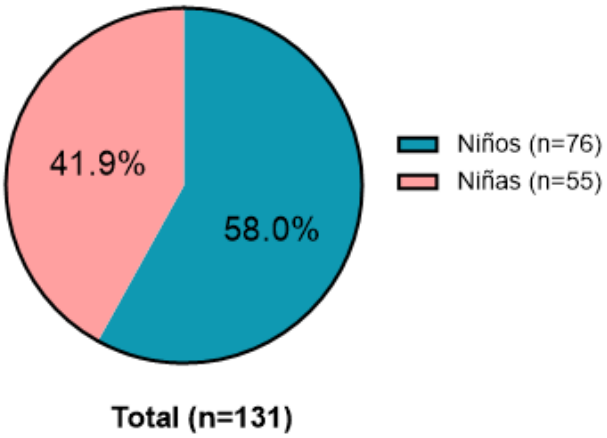


Fig. 2 Sexo

Distribución de los participantes en base al sexo. entre los

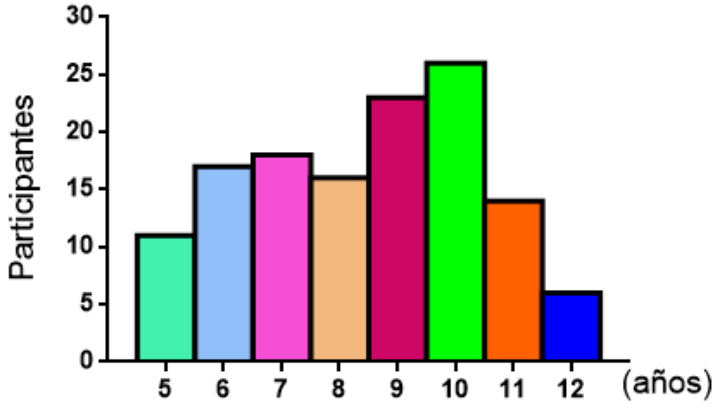


Fig. 3 Edad

Distribución de la edad participantes

En la Figura 2 se observa que de los 131 escolares que comprenden la muestra, existe un número relativamente igual de niños y niñas, con una relación masculino/femenino de 1.36 de tal manera que existe una mayor participación del sexo masculino en relación con el femenino.

La distribución de la edad entre los participantes (Figura 3), muestra una mayor participación entre los escolares de 9 y 10 años.

La Tabla 1 muestra los valores promedio antropométricos y de tensión arterial de los 131 niños y niñas.

Tabla 1. Características antropométricas y de tensión arterial en una muestra de 131 escolares de 5-12 años del Municipio de Querétaro, Querétaro.

	NIÑOS	NIÑAS	TOTAL
	(n=76)	(n=55)	(n=131)
Edad (años)	8.4±1.9	8.3±1.9	8.4±1.9
Peso (Kg)	32.2±9.6	33.9±12.5	32.9±10.9
Talla (m)	1.3±0.1	1.3±0.1	1.3±0.1
IMC (Kg/m^2)	17.6±3.0	18.4±3.8	17.9±3.4
TAS (mmHg)	92.7±15.7	94.6±17.2	93.5±16.3
TAD (mmHg)	61.5±12.2	64.6±12.3	*62.8*±12.3

IMC= Índice de Masa Corporal; TAS = Tensión Arterial Sistólica; TAD= Tensión Arterial Diastólica. Los valores se presentan en promedio y desviación estándar DE.

El volumen urinario promedio esperado para esta edad oscila entre los 500 y los 1,000ml por día, sin embargo la cantidad dependerá de muchos factores y por lo tanto es esperado que su valor sea muy fluctuante. Así mismo, la natriuria promedio para escolares de 5-12 años se recomienda sea de entre 43-80mmol/día de sodio y donde se observa que más del 80% de la población tiene una excreción promedio mayor a lo esperado para este grupo de edad. Además de la mediana de excreción urinaria de yodo, en un máximo de 300 µg/24h, lo cuál también es sobrepasado en esta población.

Tabla 2. Características bioquímicas de orina de 24h de una muestra de 131 escolares de 5 -12 años del Municipio de Querétaro, Querétaro.

	NIÑOS	NIÑAS	TOTAL
	(n=76)	(n=55)	(n=131)
Volumen urinario (ml)	735.1±414.1	707.6±404.8	723.5±408.8
Sodio urinario (mmol/24h)	91.6±38.7	85.9±52.1	89.2±44.7
Yodo urinario (µg/24h)	303.6±171.4	334.4±223.6	316.5±194.8

Los valores se presentan en promedio y desviación estándar DE.

Tabla 3. Prevalencia de la talla en una muestra de 131 escolares de 5 – 12 años del Municipio de Querétaro, Querétaro.

	NIÑOS		NIÑAS	
	frecuencia	%	frecuencia	%
Baja	0	0	1	1.8
Normal	59	77.6	41	74.5
Alta	17	22.3	13	23.6

El percentil de talla para la edad y sexo, se determina siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares CDC para niños y adolescentes.

En cuanto a la distribución de la población por diagnóstico nutricional (Tabla 4) determinado por percentiles de la CDC, se encontró sobrepeso en el 48.1% y obesidad en el 20.5% lo que es acorde a lo que se ha reportado previamente (Acosta-Berrelleza *et al.,* 2017) para población infantil mexicana.

Tabla 4. Prevalencia del estado nutricio en una muestra de 131 escolares de 5 – 12 años del Municipio de Querétaro, Querétaro.

	NIÑOS		NIÑAS	
	frecuencia	%	frecuencia	%
Bajo peso	7	9.2	3	5.4
Normal	43	56.5	33	60.0
Sobrepeso	20	26.3	12	21.8
Obesidad	6	7.8	7	12.7

El percentil de IMC para la edad y sexo, se establece siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares CDC para niños y adolescentes y se empleó para determinar el estado nutricio de los escolares.

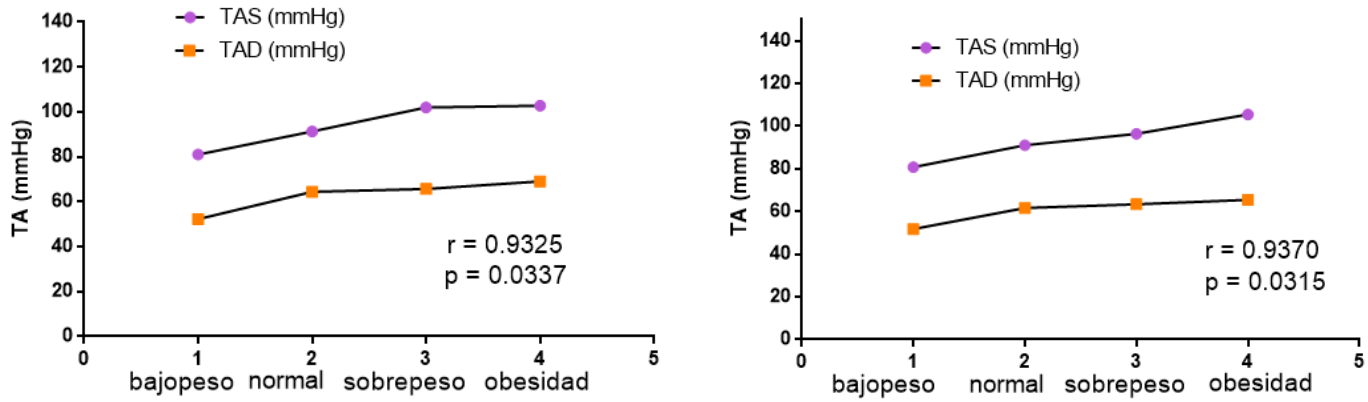


Fig. 4 Coeficiente de correlación lineal de Pearson de la TAS y TAD con el IMC en niñas A) y en B) niños de 5 – 12 años del Municipio de Querétaro, Querétaro.

Al establecer el estado nutricional de la población en base a la edad (Figura 4), se observó que la característica predominante es el normopeso en todas las edades, sin embargo, existe una relación de 1:4 niños y niñas en condición de bajopeso.

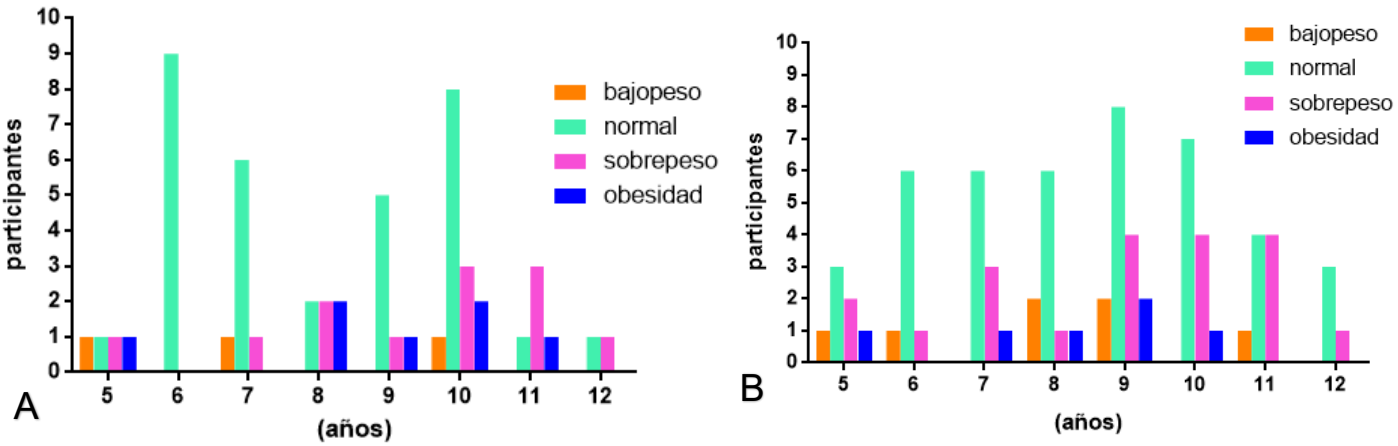


Fig.5 Prevalencia del estado nutricio de A) niñas y B) niños por edad. El percentil de IMC para la edad y sexo, se establece siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares CDC para niños y adolescentes y se empleó para determinar el estado nutricio de los escolares.

Tabla 5. Distribución de la TA en una muestra de 131 escolares de 5 – 12 años del Municipio de Querétaro, Querétaro.

	NIÑOS		NIÑAS	
	frecuencia	%	frecuencia	%
Normal	65	85.5	45	81.8
Pre-hipertensión	10	13.1	7	12.7
Hipertensión	1	1.3	3	5.4

El percentil de TA para la edad y sexo, se determina siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares del 4to Reporte del JNC para niños y adolescentes.

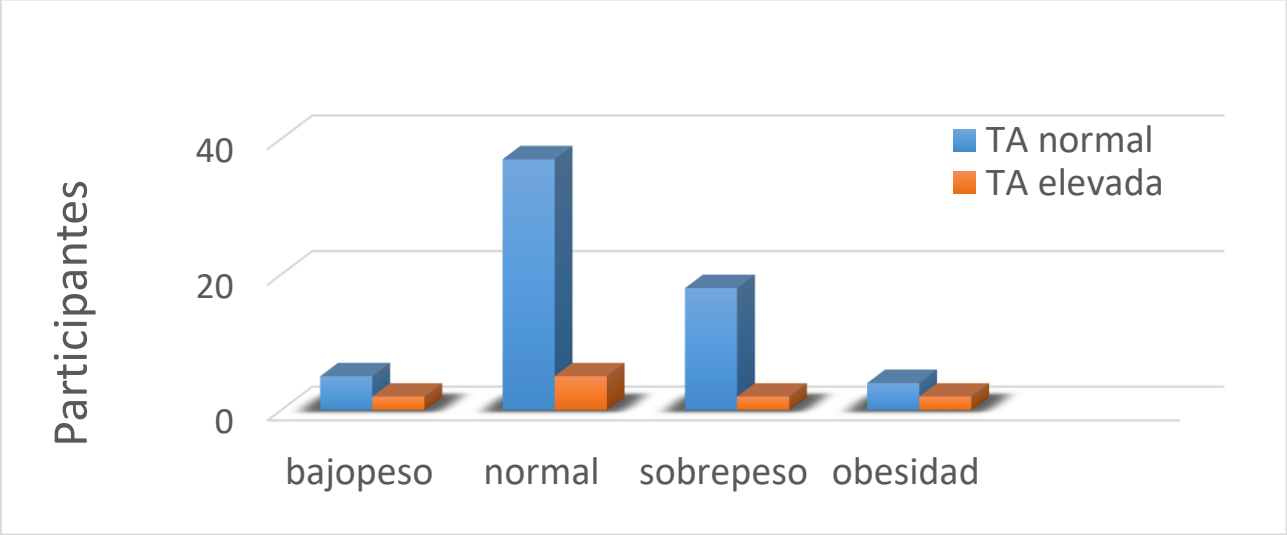


Fig.6 Prevalencia de la Tensión Arterial entre niños, en base al percentil de IMC.

El percentil de TA para la edad y sexo, se determina siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares del 4to Reporte del JNC para niños y adolescentes; el percentil de IMC para la edad y sexo, se establece siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares CDC para niños y adolescentes.

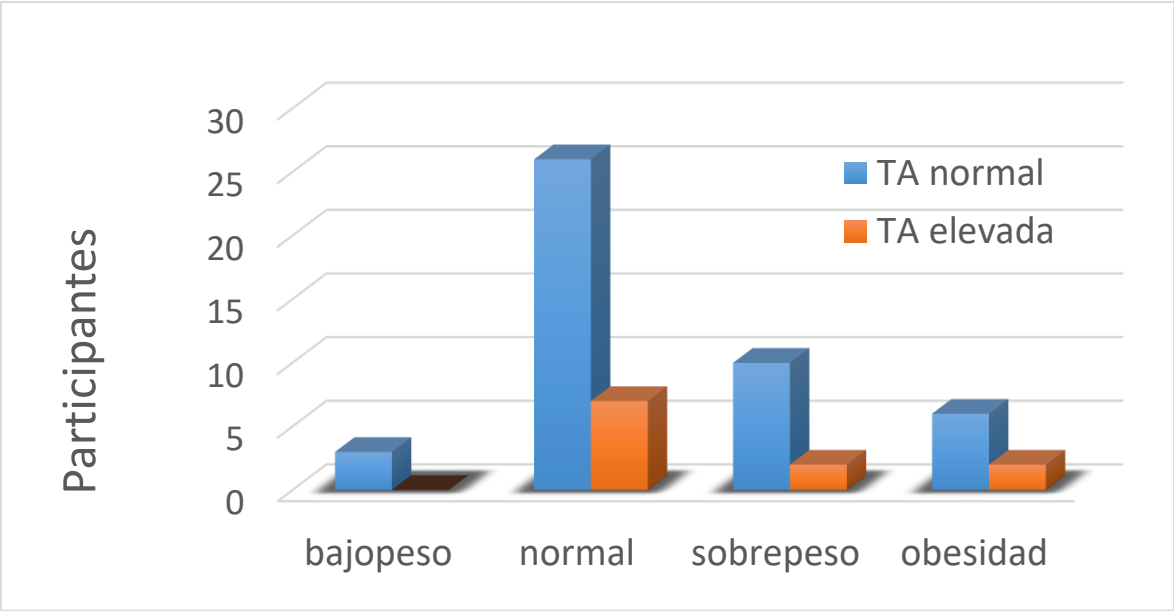


Fig. 7 Prevalencia de la Tensión Arterial entre niñas, en base al percentil de IMC.

El percentil de TA para la edad y sexo, se determina siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares del 4to Reporte del JNC para niños y adolescentes; el percentil de IMC para la edad y sexo, se establece siguiendo los lineamientos de las tablas percentilares CDC para niños y adolescentes.

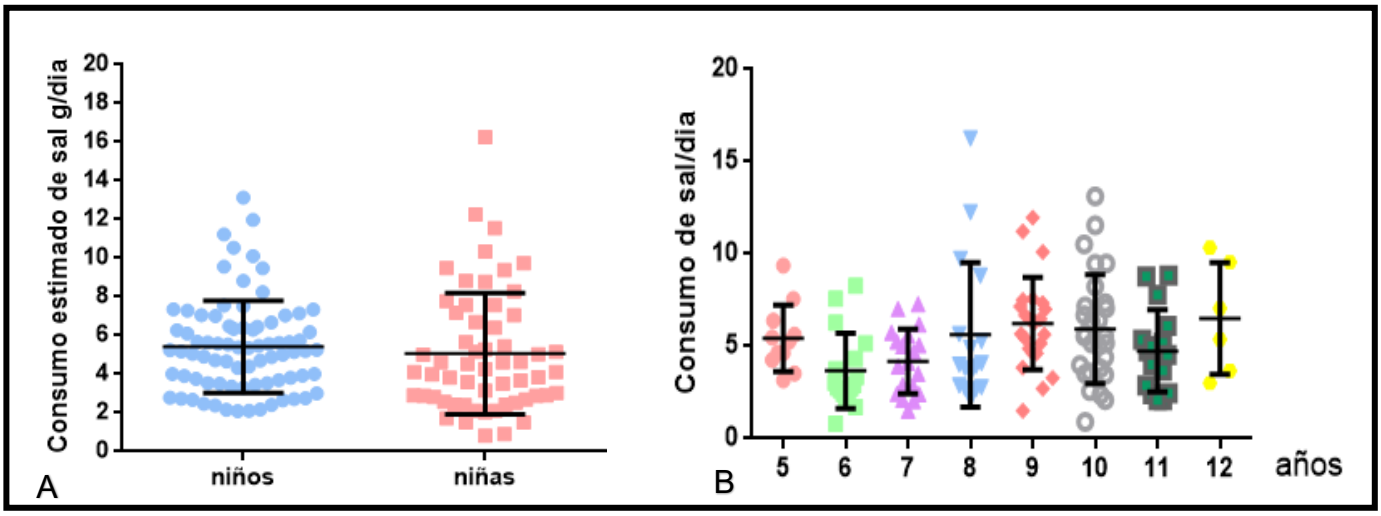


Fig. 8 Consumo estimado de sal g/día de A) los 76 niños y las 55 niñas en muestras de orina de 24h. B) Consumo estimado de sal g/día de los 131 escolares por edad en orina de 24h.

Al comparar (Figura 8) el consumo estimado de sal g/día entre niños y niñas A) no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, en ambos grupos la IA de sal fue mayor que lo establecido por la OMS y FAO (86.8% y 67.0%

respectivamente). Al comparar B) el consumo estimado de sal g/día de la población dividida en diferentes etapas de crecimiento, 5 ,6 ,7 ,8 ,9, 10, 11 y 12 años, se encontró que el grupo de 6 a 7 años poseía un mayor porcentaje de niños con los valores de ingesta adecuada respecto al grupo de 8 a 10 años y que solo había diferencia significativa entre el consumo de los participantes de 8 años (p= 0.0034)

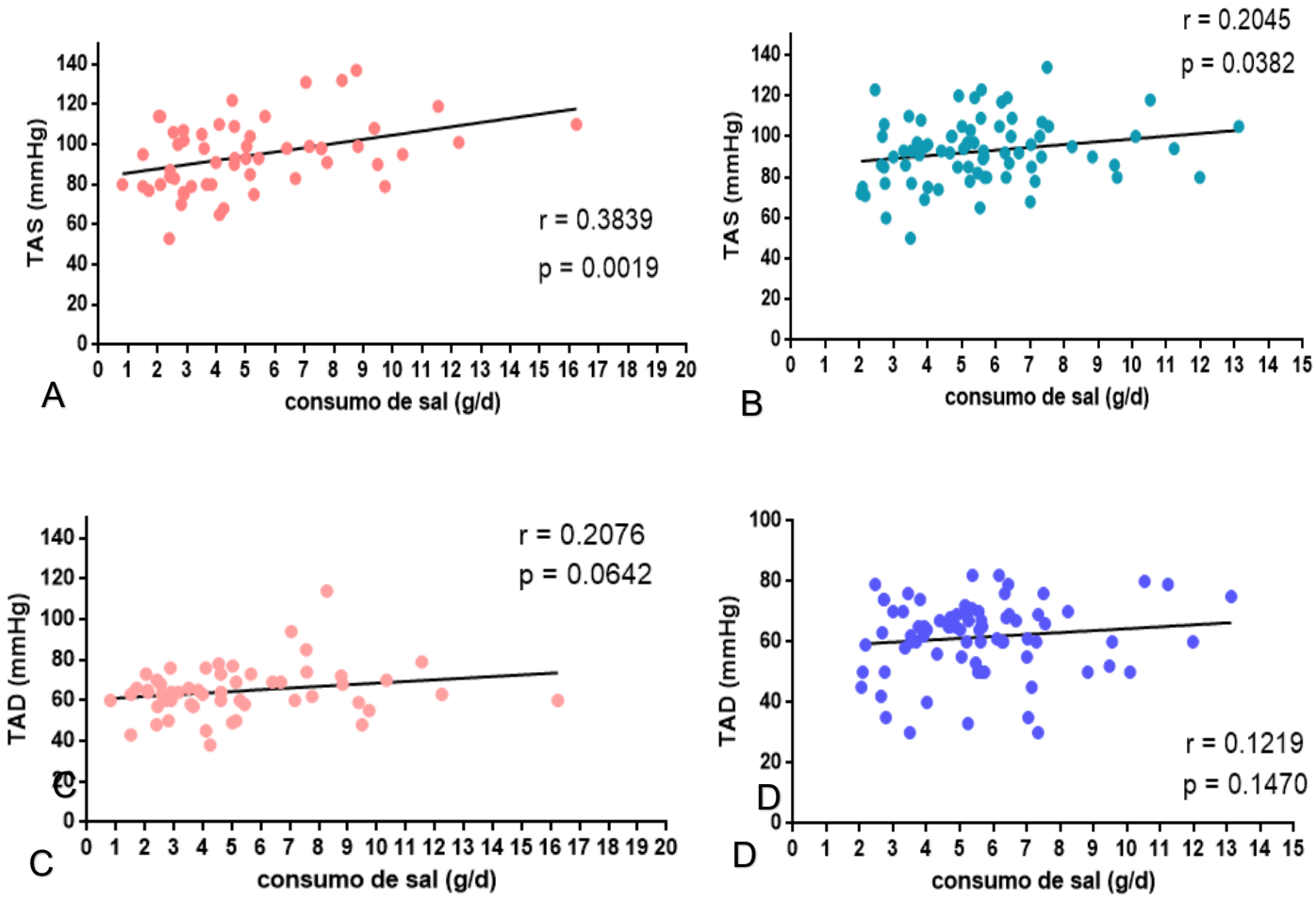


Fig. 9 Correlación entre el consumo de sal g/día y la TAS en A) niñas y B) en niños. Correlación del consumo de sal g/día y la TAD en C) niñas y D) en niños, en orina de 24h. TAS = tensión arterial sistólica; TAD = tensión arterial diastólica. Se considera una correlación significativa con un valor de p = < 0.05

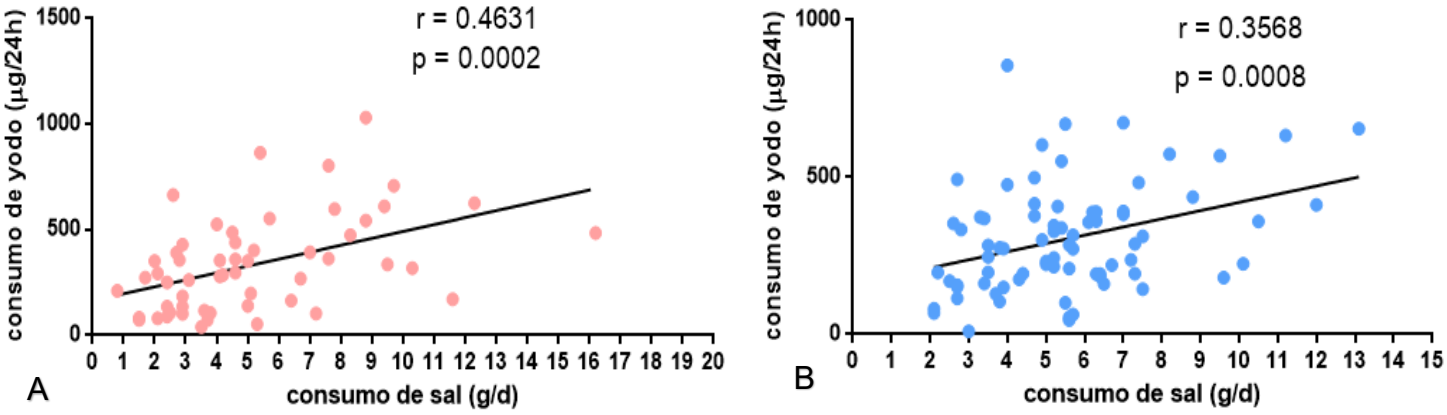


Fig. 10 Correlación entre el consumo de sal g/día y el consumo de yodo µg/24h en A) niñas y B) en niños, en orina de 24h. Se considera una correlación significativa con un valor de p = < 0.05

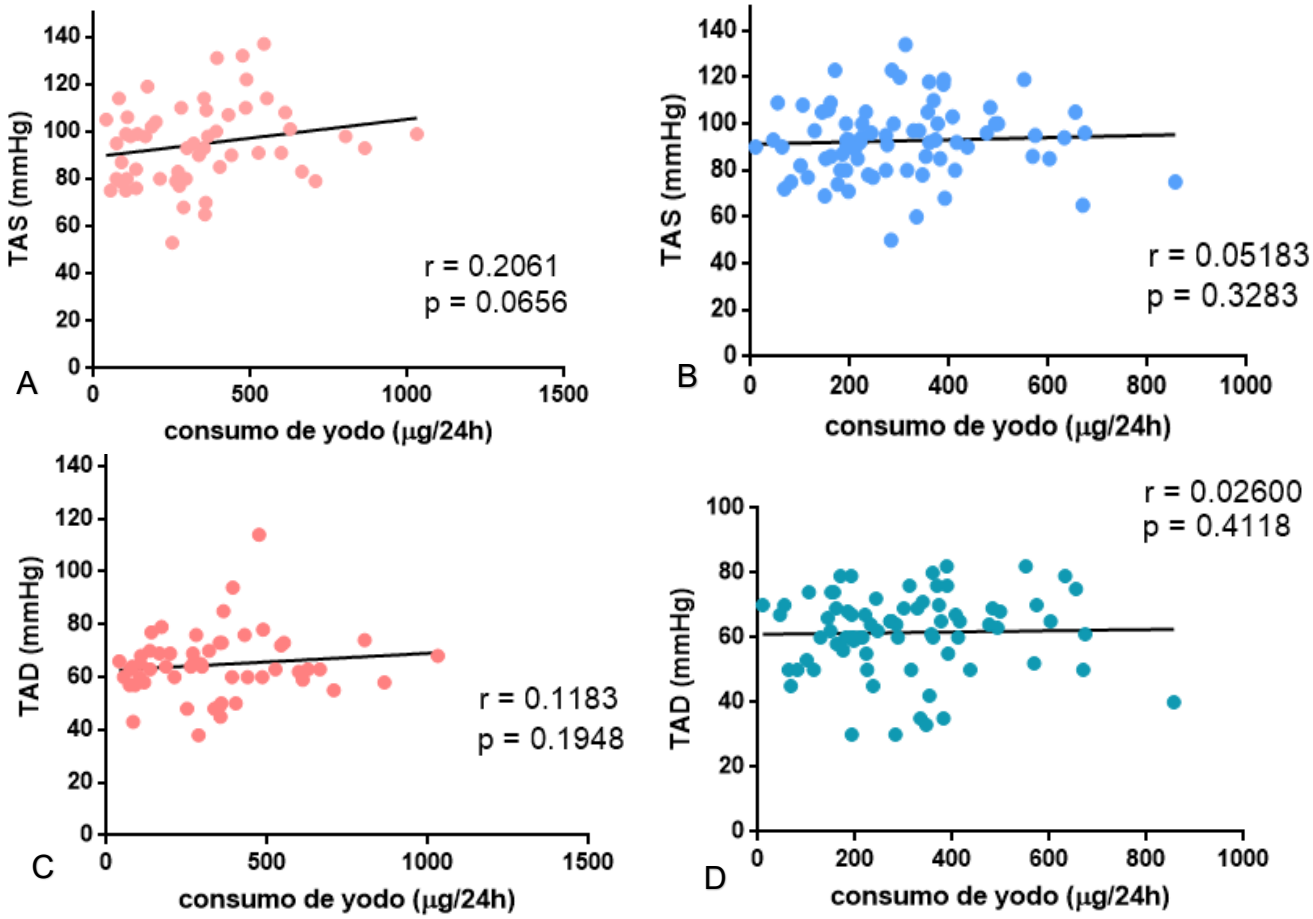


Fig.11 Correlación entre el consumo de yodo µg/24h y la TAS en A) niñas y B) niños, y de la TAD en C) niñas y D) niños, en orina de 24h. TAS = tensión arterial sistólica; TAD = tensión arterial diastólica. Se considera una correlación significativa con un valor de p = < 0.05.

Para la excreción urinaria de sodio (mmol/d) y yodo (µg/24h) de la Figura 11, no existe diferencia entre ambos sexos A) respecto a la tendencia a incrementar la excreción en función al aumento de la adiposidad entre los participantes. Lo mismo sucede con el consumo de yodo B) y el IMC, teniendo su valor más significativo y alto en la condición de sobrepeso en ambos sexos (niños 373.8 µg/24h; niñas 422.8 µg/24h)

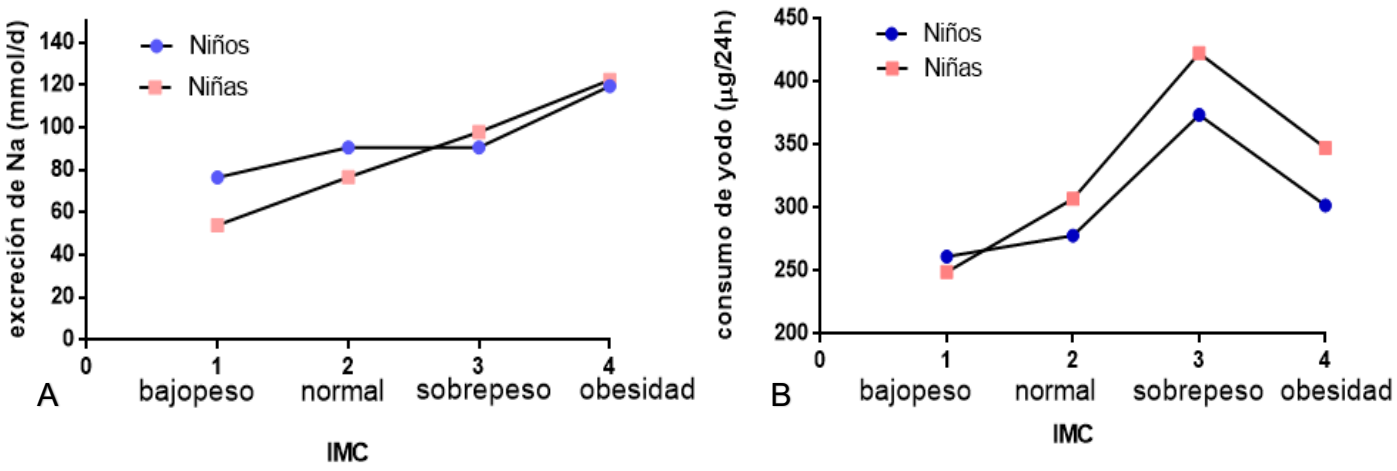


Fig.12 Media urinaria A) de la excreción de sodio (mmol/d) en función del percentil de IMC de niños y niñas. Media urinaria de la excreción de yodo (µg/24h) en función B) del percentil de IMC de niños y niñas.

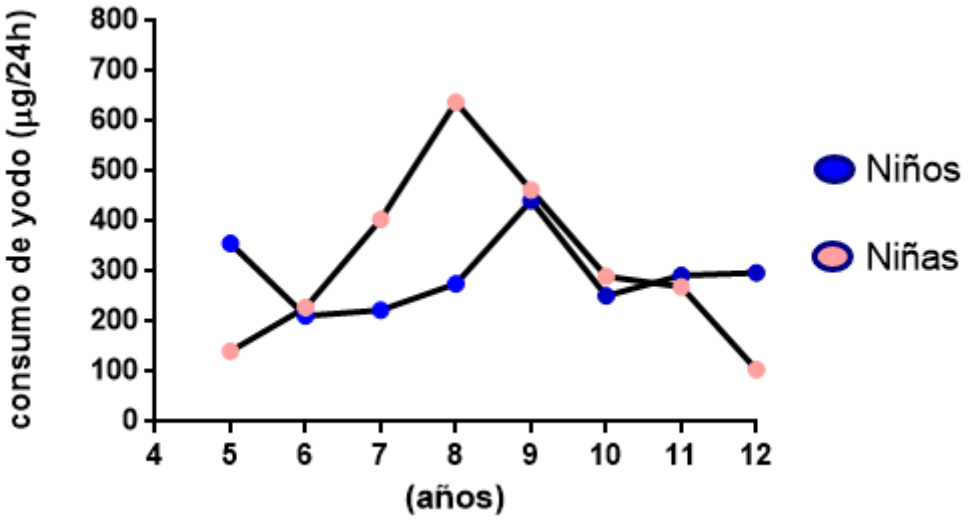


Fig.13

Media urinaria del consumo de yodo (µg/24h) en niños y niñas de los 5 a los 12 años.

No existe una normalidad en la excreción media urinaria de yodo (µg/24h) de la Figura 12, sin embargo, a la edad de 8 (niñas 638.3 µg/24h) y 9 años para ambos sexos (niñas 441.5 y niños 462.8), la excreción media urinaria alcanza valores en los que se han reportado alteraciones de la función y tamaño de la glándula tiroides en diferentes poblaciones infantiles (Aakre *et al*., 2017; Koukkou *et al* 2017).

Tabla 6. Frecuencia de la prevalencia del consumo de sal ≤ 3g/sal/d y el consumo > 3g/sal/d en una muestra de 131 escolares de ambos sexos de 5 – 12 años del Municipio de Querétaro, Querétaro.

	NIÑOS		NIÑAS	
	frecuencia	%	frecuencia	%
≤ 3g/sal/d	10	13.1	18	32.0
> 3g/sal/d	66	86.8	37	67.0

DISCUSIÓN

La HAS pediátrica es una enfermedad de reciente prevalencia y de difícil diagnóstico para el profesional de la salud debido a la casi nula presencia de signos y síntomas entre la población infantil.

Sin embargo, es necesario identificar los principales factores de riesgo asociados a enfermedades en edades tempranas que pueden conducir a eventos cerebrovasculares, cardíacos y cánceres en la edad adulta.

Al analizar las variables antropométricas de los participantes, se observa, como lo mencionan en 2013 Marroldán *et al.,* que los valores medios de presión arterial

sistólica (PAS) y de presión arterial diastólica (PAD) se incrementan en función del índice de masa corporal (IMC), lo que nos puede indicar que el nivel de riesgo depende en particular del exceso de tejido adiposo y su distribución (grasa visceral), más que del consumo de sodio, para esta edad.

También se pudo confirmar que la ingesta de sodio por día, para este grupo de edad, sobrepasa los límites permitidos, posiblemente debido a: 1) el consumo de alimentos procesados al que tienen acceso en la población infantil y adolescente, un blanco para sus ventas (Botella *et al.,* 2015) y refrigerios hipercalóricos.

Presencia de SNP Thr92Ala en población adulta en el estado de Querétaro

Hernández Puga Ana Gabriela, Ponce Zúñiga Atenea, Vega León Paulina.
Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de medicina: Universidad Autónoma de Querétaro, México. Teléfono: +52 (442) 1921200, ext: 6240. Dirección: Clavel 200, Col. Prados de la Capilla, Querétaro, Qro. C. P. 76170; México.
ana.gabriela.hernandez@uaq.mx

Review

The thyroid hormone performs various tasks in the body, however for these to be carried out, the hormone must pass from its basal state to its active form, that is, the pre hormone T4 undergoes deiodination to transform into the T3 hormone, which can already perform its function as a transcription factor for the production of other biomolecules.

The deiodination process is carried out by type 2 deiodination, this function can also be carried out by type 1 deiodination, although it should be noted that the transformation rate is lower than DIO2. The activity of DIO2 may present complications if the individual has the mutation and therefore affect the signaling cascades involved.

Due to the presence of a polymorphism known as Thr92Ala, a mutation at a base of codon 92 of DIO2, the function of deiodinase is affected, which by interacting with T4 transforms it into T3 and this hormone, in turn, It acts as a transcription factor and regulates gene expression, and in this way the activity of DIO2 is involved in lipid degradation. In the present work, DNA extraction techniques and their amplification by PCR were used for the detection of the Thr92Ala SNP, and to establish a relationship between this mutation and the concentrations of lipids, THS and T4 in blood.

Resumen español

La hormona tiroidea realiza diversas tareas en el organismo, sin embargo para que estas se lleven a cabo, la hormona debe pasar de su estado basal a su forma activa, es decir, la pre hormona T4 sufre una desyodación para transformarse en la hormona T3, la cual ya puede realizar su función como un factor de trascripción para la producción de otras biomoléculas. El proceso de desyodación lo realiza la desyodasa tipo 2, ésta función también la puede realizar la desyodasa tipo 1, aunque cabe resaltar que la tasa de transformación es inferior a la DIO2. La actividad de la DIO2 puede presentar complicaciones si el individuo tiene la mutación y por lo tanto afectar en cascadas de señalización involucradas.

Debido a la presencia de un polimorfismo conocido como Thr92Ala, una mutación en una base del codón 92 de la DIO2, se ve afectada la función de la desyodasa, la cual al tener interacción con la T4 la transforma en T3 y esta hormona a su vez actúa como un factor de transcripción y regula la expresión génica, y de ésta manera la actividad de la DIO2 se involucra en la degradación de lípidos. En el presente trabajo se utilizaron técnicas de extracción de DNA y su amplificación mediante PCR para la detección del SNP Thr92Ala, y establecer una relación entre ésta mutación y las concentraciones de lípidos, THS y T4 en sangre.

Key words: Dio2, SNP Thr92Ala, lipids profile.
Palabras clave: Dio2, SNP Thr92Ala, perfil de lípidos.

Introducción

Todos los seres vivos cuentan con un organismo el cual se regula a través de distintos mecanismos y esto es lo que permite llevar a cabo las actividades cotidianas, sin embargo cuando una irregularidad tiene lugar, se generan dificultades para realizar ciertas tareas. Debido a ésta situación los seres humanos han desarrollado estudios que permiten

evaluar la producción de ciertos componentes biológicos que produce nuestro organismo y así evaluar el desempeño del mismo. Dos de estos estudios son el perfil de lípidos y los exámenes de hormona estimulante de la tiroides (TSH), en el primero se estudian las concentraciones de lípidos en sangre, tales como; colesterol, HDL, LDL y triglicéridos (Brites, 2013).

El estudio de la TSH, indica el nivel de concentración de la hormona tirotropina, la cual es producida por la hipófisis y regula la actividad de la glándula tiroides (González, 2019). Sin embargo aun con estos estudios surge la presencia de anomalías, incluso a un nivel molecular. Tal es el caso de las mutaciones. Un Polimorfismo de un solo nucleótido o también
conocido como SNP (Single Nucleotide Polymorphism) es una mutación en la cual solo una base se ve afectada. En el presente estudio el polimorfismo a estudiar es Thr92Ala, en el cual hay un cambio de adenina a guanina, lo cual genera una sustitución de la treonina por alanina en el codón 92, este polimorfismo se puede presentar en la proteína Dio2 (Canani, 2005), la cual tiene una importante interacción con la prehormona tiroidea (T4) también conocida como tiroxina.

La hormona tiroidea es una biomolécula que tiene una gran importancia para el correcto desarrollo del organismo durante las primeras etapas de vida y posteriormente toma un papel más importante en el las rutas metabólicas que se llevan a cabo (García, 2018). Actualmente se conocen distintos tipos de hormona tiroidea, las cuales se diferencian por la actividad que realizan y en dónde se producen, ya que puede ser en tejido periférico o central (White, 2006). Principalmente esta hormona se encuentra en su forma pasiva como T4, y T3 es su forma activa, y son reguladores de la expresión génica, sin embargo para que ocurra este proceso, la pre hormona tiene que sufrir una desyodación, actividad que es realizada tanto por la DIO1 y DIO2, sin embargo la producción de T3 por la Dio2 es más alta que en comparación con la otra desyodasa. La DIO1 se produce en el hígado, riñón tiroides e hipófisis, la desyodasa tipo 2 es secretada por la hipófisis, tejido graso pardo y cerebro además de que su localización a nivel celular es en el retículo endoplásmico con sitio activo hacia citosol (Solís, 2011).

La actividad de la hormona tiroidea se puede ver afectada por diversos factores ya sea una inadecuada producción de la hormona, rechazo de los receptores de la hormona a la célula, o la presencia del SNP Thr92Ala (Solís, 2011).

Es por este motivo que en el presente estudio es de gran interés la relación que existe entre la actividad de DIO2 con este polimorfismo y el metabolismo de lípidos, ya que se conoce que éste tipo de hormonas intervienen en la degradación, síntesis y movilización de éstas biomoléculas, ya que su ruta metabólica influye en una mejor utilización de sustratos lipídicos, aumento de síntesis y movilización de triglicéridos, aumento en la concentración de ácidos grasos no esterificados y también en el aumento de la actividad lipoproteína-lipasa (Pucci, 2000).

Para cumplir con el objetivo del presente trabajo la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) con la variante de genotipificación. Esta técnica ha sido desarrollada por Kary Mullis (Tamay, 2013), la cual utiliza la propiedad de hibridación del DNA para realizar una reacción in vitro en la cual se amplifica un fragmento de DNA durante varios ciclos en un equipo llamado termociclador (Armendáriz, 2013). En caso de que el sustrato sea cDNA sintetizado a partir de mRNA se conoce como RT-PCR por el uso de la enzima transcriptasa (Espinosa,
2007). La reacción consta de tres etapas: desnaturalización, hibridación y extensión. Los elementos necesarios son el sustrato (DNA o cDNA), la enzima, oligonucleótidos, dNTPs, ión magnesio, solución amortiguadora y agua en calidad para PCR (Tamay, 2013).

Objetivo general

Establecer una posible relación de la presencia del SNP Thr92Ala con los niveles circulantes de lípidos.

Metodología

Se tomaron muestras sanguíneas de 499 individuos de una edad entre 18 a 60 años y el promedio son 29 años, a estas muestras se les hizo un análisis completo que incluía análisis de TSH y T4 en sangre así como perfil de lípidos. Se utilizaron los siguientes intervalos para evaluar los resultados de los análisis sanguíneos como se muestra en la Tabla 1 y Tabla 2.

Tabla 1. Índices normales de concentración de lípidos en sangre.

Colesterol	<200 mg/dL
col-HDL	>40 mg/dL
col-LDL	<160 mg/dL
col-VLDLc	col-VLDLc
Triglicéridos	<160 mg/dL

Tabla 2. Índices normales de concentración de lípidos en sangre.

Insulina	<10 uUi/mL
fT4	0,7 - 1,24 ng/dL
TSH	0,34 - 4,25 µUI/mL

Para cumplir con el objetivo principal del estudio, se extrajo el DNA de las muestras sanguíneas mediante utilizando el mini Kit EZNA Blood DNA de OMEGA, el producto obtenido se conservó a una temperatura de -20° C hasta su uso. El DNA fue amplificado por PCR (equipo StepOne Real-Time PCR System) utilizando sondas Taqman y se añadió la variante de genotipificación, los resultados obtenidos fueron analizados para conocer la cantidad de personas que tienen este polimorfismo ya sea de manera dominante o recesiva. Se consideraron los siguientes parámetros para las amplificaciones de las muestras a analizar:

Ciclos: 50
Cantidad de muestras por análisis: 46
Cantidad de controles positivos: 0
Cantidad de controles negativos: 2

Para cada corrida de 48 muestras, se utilizaba por pocillo 4µL de master mix, 0.4µL de ensayo SNP (Thr92Ala), 3.6µL de la muestra a analizar y 0.5µL de agua inyectable. Este procedimiento se llevaba a cabo en condiciones asépticas.

Resultados

Durante el desarrollo de la parte experimental del proyecto hubo un desabasto de material, por lo cual de las muestras recolectadas solo se analizaron 266 de las cuales 53 no amplificaron, como se muestra en la Figura 1.

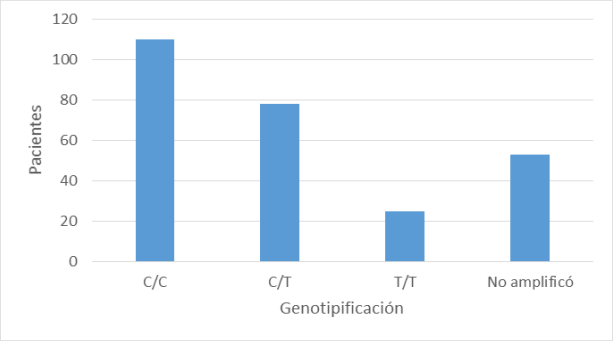


Figura 1. Resultados de la amplificación y genotipificación de las muestras recolectadas. C/C representa que muestra la mutación en ambos alelos; C/T solo presenta la mutación en uno de los alelos, T/T no presenta la mutación

Posteriormente las amplificaciones que no tuvieron éxito fueron descartadas y solo se consideraron las muestras genotipificadas. Se observa que en los sujetos de experimentación que el polimorfismo está presente en una gran cantidad de personas ya se de forma homocigota o heterocigota. También se obtuvieron los resultados de la concentración de glucosa en sangre (Figura 2) así como los perfiles lipídicos (Figura 3) y hormonales, este último solo incluye la hormona insulina, fT4 y TSH (Figura 4). Como se menciona en la metodología, se siguieron los índices indicados para valorar si las concentraciones ya sea de la glucosa, la hormona insulina, fT4 y TSH o los valores del perfil lipídico estaban en un rango aceptable o estaban por encima de estos valores, lo cual representa un riesgo y en las gráficas está señalado con gráficos de color rojo.

Como se observa en la Figura 2, los que no presentan el SNP Thr92Ala tienden a mantenerse dentro de los límites saludables de glucosa en sangre, en comparación con los heterocigotos y homocigotos que aumenta la población con glucosa por arriba de los 110 mg/dL, lo cual puede representar riesgos de salud a corto o largo plazo.

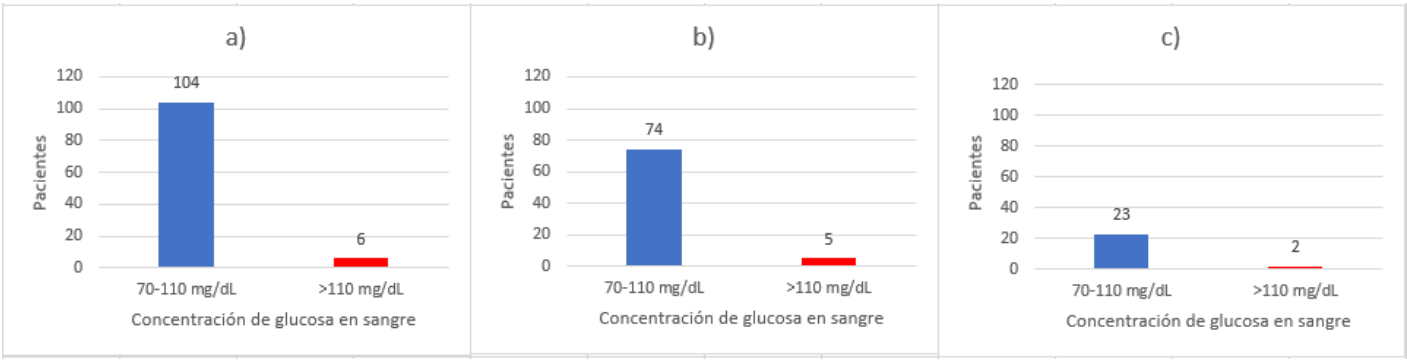


Figura 2. Resultados de concentración de glucosa en sangre siendo a) los datos de las muestras homocigotas con la mutación C/C, b) los datos de las muestras heterocigotas C/T y c) los resultados de las muestras homocigotas que no presentan la mutación.

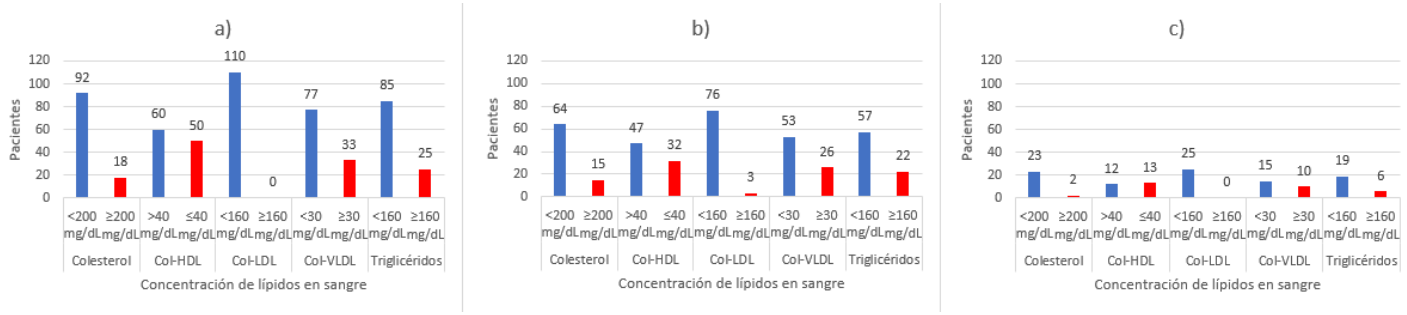


Figura 3. Resultados de concentración de lípidos en sangre siendo a) los datos de las muestras homocigotas con la mutación C/C, b) los datos de las muestras heterocigotas C/T y c) los resultados de las muestras homocigotas que no presentan la mutación.

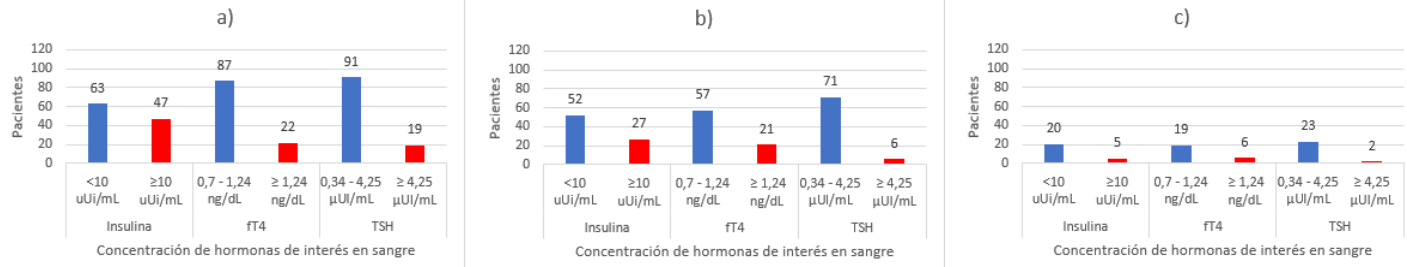


Figura 4. Resultados de concentración de hormonas (insulina, fT4 y TSH) en sangre siendo a) los datos de las muestras homocigotas con la mutación C/C, b) los datos de las muestras heterocigotas C/T y c) los resultados de las muestras homocigotas que no presentan la mutación.

En la mayoría de los casos se observa que mientras el paciente cuente con el polimorfismo en ambos alelos tiene una disposición a tener valores altos en los aspectos valorados, perfil hormonal, lipídico entre otros. Se ve que la población con índices altos en los rangos evaluados va disminuyendo conforme la mutación se presenta de manera heterocigota y aún más cuando ya no presenta el SNP Thr92Ala.

Se realizó una comparación entre la concentración de triglicéridos en sangre y la concentración de la pre hormona fT4 ya que son los aspectos de mayor interés para poder relacionar la actividad de ésta última en presencia de la mutación, se hizo una gráfica por cada tipo de genotipificación homocigota C/C (Figura 5), heterocigota C/T (Figura 6) y homocigota T/T (Figura 7).

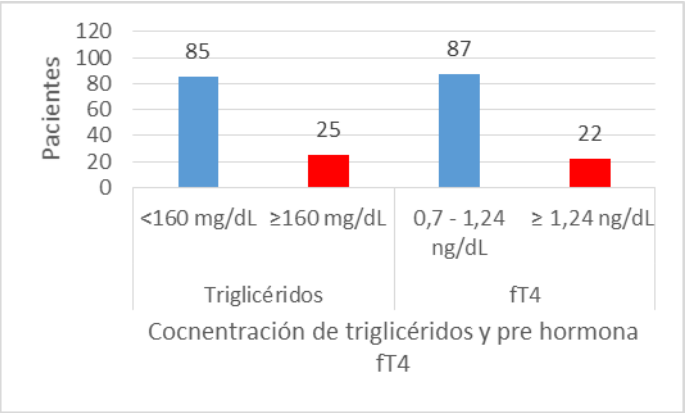


Figura 5. Comparación de triglicéridos en sangre y pre hormona fT4 de pacientes con genotipo C/C.

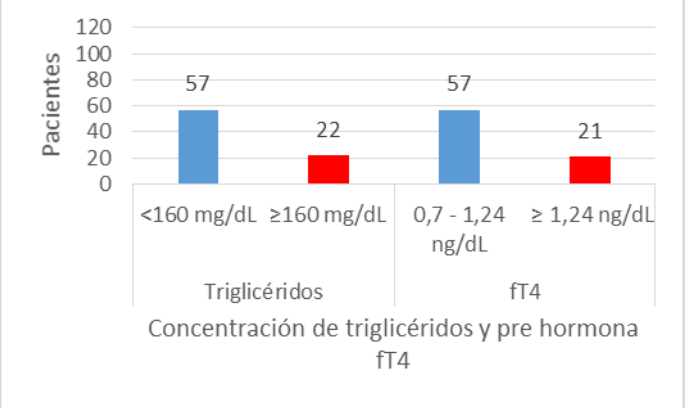


Figura 6. Comparación de triglicéridos en sangre y pre hormona fT4 de pacientes con genotipo C/T.

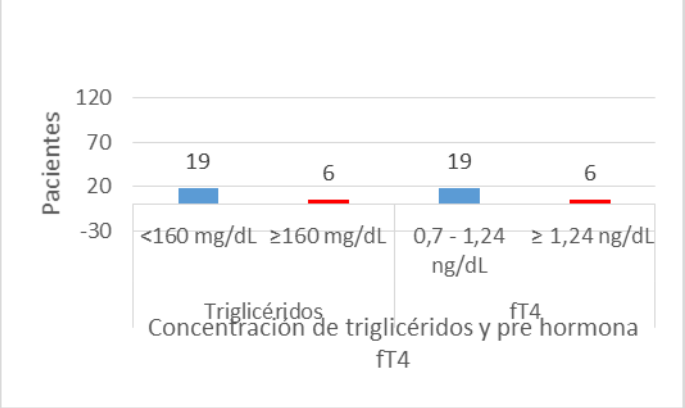


Figura 7. Comparación de triglicéridos en sangre y pre hormona fT4 de pacientes con genotipo T/T.

Sin embargo, como se mencionó al inicio de ésta sección solo se muestran los resultados parciales de la fase de experimentación del presente trabajo

Discusión y conclusión

En los resultados obtenidos se observa que la presencia de la mutación en las muestras analizadas hay un incremento de pacientes con altas concentraciones de triglicéridos y fT4, como se observa en la Figura 5 y 6, en comparación con los pacientes que no tienen el polimorfismo en ninguno de los alelos, hay una menor cantidad de personas que con altas concentraciones de los parámetros evaluados, sin embargo se esperaría que al no presentar la mutación, estos casos especiales indican que hay más factores que intervienen en la acumulación de estos componentes en la sangre, puede ser una mal alimentación, de origen genético, consumo de medicamentos y esto puede dar origen a enfermedades como ateroesclerosis, infarto de miocardio, problemas cardiovasculares (Goldberg, 2019). Por las razones mencionadas también se puede explicar que a pesar de que en las Figuras 5 y 6 hay una cantidad considerable de pacientes con altas concentraciones de triglicéridos que no han sido degradados correctamente por la irregular síntesis de la DIO2, sigue siendo un número inferior a las personas que tienen el polimorfismo pero aun así se mantienen dentro del rango ideal de triglicéridos en sangre, debido a su estilo de vida y otros cuidados respecto a su alimentación.

Sin embargo la presencia de SNP Thr92Ala no indica que la DIO2 no realice su función de desyodación de la T4, más bien se puede interpretar que la tasa de cambio es más lenta de lo normal. Un estudio similar realizado en Brasil, donde se realizó la genotipificación del polimorfismo de interés (Thr92Ala) y en pacientes que tenían Diabetes tipo II, y se determinó que la mutación se asociaba con la resistencia a la insulina y que en pacientes que tenían el polimorfismo de manera homocigota la actividad de la DIO2 se veía disminuida en un 50% y por lo tanto la T3 tampoco estaba en la cantidad necesaria para la degradación de insulina (Canani, 2005).

Cabe aclarar que el polimorfismo no da lugar a desarrollar Diabetes tipo II o hipertiroidismo como se podría pensar, ya en diversas investigaciones se ha tratado de relacionar el origen de enfermedades cardiovasculares o como la Diabetes sin embargo se ha comprobado que la mutación no las desarrolla,

pero sí ya se tienen indicios de éstas enfermedades puede agravar la situación tener el polimorfismo.

En la Figura 1, se observa que hubo varios casos donde la amplificación no se realizó correctamente y no se obtuvieron los resultados esperados, esto puede deberse a distintos factores como la concentración de DNA no fue la suficiente o no tenía los índices de pureza suficientes, es decir, había residuos de otros componentes que no permitieron llevar a la polimerasa su función. También es posible que las temperaturas no fueran las adecuadas para estos fragmentos ya que si fueron bajos, la cadena de DNA no se deshibridó y la enzima no pudo replicar la cadena, en cambio si las temperaturas fueron muy altas esto pudo provocar que tanto como la enzima o la cadena de DNA se desnaturalizara (Herráez, 2014).

Los resultados demostrados indican que una gran parte de la población queretana sí presenta la mutación que interfiere con la correcta formación de la proteína DIO2, por lo tanto puede interferir con la actividad de la hormona tiroidea ya que está involucrada con su activación, sin embargo no se pudo determinar si tiene un efecto directo con la degradación de lípidos debido a que otros factores están relacionados para que suceda este proceso. Los resultados del presente trabajo dan pie a futuras investigaciones para profundizar sobre el SNP Thr92Ala y cómo afecta la vida de la población queretana.

Agradecimientos

A la facultad de medicina y los investigadores del Departamento de Investigación Biomédica, ya que de no ser por el apoyo y recursos aportados, la investigación no hubiera sido realizada adecuadamente. También a la Universidad Autónoma de Querétaro que ayudó a la vinculación de alumnos de licenciatura con doctores para la participación en estos proyectos.

Referencias bibliográficas

Armendáriz, Juan. (2013). *Biología Molecular: Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*. México, pp. 145.

Brites, D. Fernando. (2013). *Lípidos y Lipoproteínas. Características, Fisiología y Acciones Biológicas. Fisiopatología y Diagnóstico Bioquímico de las Dislipemias.*(Posgrado). FEPREVA, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Canani, L.H. (2005). *The type 2 deiodinase A/G (Thr92Ala) polymorphism is associated with decreased enzyme velocity and increased insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus.* J Clin Endocrinol Metad. 2005 Jun: 90(6): 3472-8. DOI:10.1210/jc.2004-1977

Espinosa, Laura. (2007). *Ecología molecular*. pp. 517. Universidad Nacional Autónoma de México.

Herráez A. (2014). Plásmidos en electroforesis. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, España.

García, S. Pablo. (2018). *Thyroid hormones and obesity: a known but poorly understood relationship.* Endokrynologia Polska. Tom/Volume 69; Numer/Number 3/2018 ISSN 0423–104X.
DOI: 10.5603/EP.a2018.0031

Goldberg, C. Anne. (2019). *Dislipidemia*. Manual SMD. Recuperado de: https://www.msdmanuals.com/es-mx/hogar/trastornos-hormonales-y-metab%C3%B3licos/trastornos-relacionados-con-el-colesterol/dislipidemia-dislipemia

González, H. Álvaro. (2019). *Pruebas de función tiroidea. Diagnóstico en la clínica.* Clínica Universidad de Navarra. Recuperado de: https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/pruebas-diagnosticas/funcion-tiroidea

Pucci, E. (2000). *Thyroid and lipid metabolism.* International Journal of Obesity. Vol: 24, pagesS109–S112 (2000)

Solís. (2011). *Bioactividad de las hormonas tiroideas. Importancia clínica de los transportadores de membrana, de las desyodasas y de los receptores nucleares.* Revista de Investigación Clínica / i es Vol. 63, Núm. 3 / Mayo-Junio, 2011 / pp 287-308

Tamay, de L. (2010). *Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real.* Investigación en discapacidad, Mediagraphic. Vol. 2, Núm. 2 Mayo-Agosto 2013 pp 70-78

White, L. James. (2006). *Thyroid Disorders. Part I: Hyperthyroidism.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;101:276-284

7 ENCUENTRO
DE JÓVENES INVESTIGADORES
2019

IDEAS JÓVENES PARA IMPULSAR EL CRECIMIENTO DEL PAÍS

IV

Biotecnología y Agropecuarias

CONCYTEQ

Índice

Generación de un sistema de expresión del gen GCaMP6s en Danio rerio
Pablo E. Backhoff G., Ph.D. Luis R. Rodríguez O.

Procesamiento y caracterización de un prototipo de popote de biopolímeros
Z.I. Hernández-Rufino, A. Cortés-Mendoza, A.L. Atanacio-Gelover, C. Bravo-Rangel, M.B. Ortuño-López, C.G. Flores-Hernández, A.L. Ramírez-Hernández, J.L. Rivera-Armenta

Caracterización de aislados microbianos como agentes de biocontrol de Botrytis cinerea en vid
Braulio Carrillo-Carrillo, Yara Suhan Juárez-Campusano, Juan Ramiro Pacheco-Aguilar

Remoción de cationes As^{3+}, utilizando un polisacárido producido por Ustilago maydis
José Luis Castro Martínez, José Antonio Cervantes Chávez

Evaluación de coque como electrodo de CCM
David Centeno Chávez, Brenda del Angel Santiago, Marco Antonio González Mendoza, Yolanda Reyes-Vidal, Jorge Gracida Rodríguez

Extracción y estabilidad de pigmentos de cálices de Jamaica
Alexandro Escobar Ortiz, Ricardo Andres Segovia Ochoa, Rosalía Reynoso Camacho

Evaluación extractiva del aceite de soya para recuperar naproxeno mediante ELL
D.L. González-Cervantes, T.A Razo-Lazcano

Concentración y extracción de DNA de bacterias depredadoras de agua de mar
Grisel Fierros Romero, Mario Ortega Garza, Samantha Lilibeth González, Elizondo, Carlo César Ramírez Santos, Ingrid María Trinidad Seeldrayers

Estudio de la fisiología del espermatozoide de humano en condiciones artificiales y semi-fisiológicas
Jaime-Ventura M.F., Mata-Martínez E., Arias R J., de Blas G.

Identificación de kafirinas en heces de conejos en engorda
Andrea Monserrat Jurado Rangel, José Guadalupe Gómez Soto

Bacterias antagonistas a Botrytis cinerea aisladas de flor del manzano
Rocío Crystabel López González, Ramón Álvar Martínez Peniche, Juan Ramiro Pacheco Aguilar

Evaluación de la promoción del crecimiento de sorgo en asociación con Metarhizium
María Guadalupe Mendoza Cervantes, Israel Enrique Padilla Guerrero

Evaluación de aguas residuales en jacaranda empleando sistemas acuapónicos
Luis Alberto Montes Flores, José Luis Vargas Ríos, Ana Angélica Feregrino Pérez

Caracterización patogénica de hongos epífitos aislados del fruto de manzana cv. 'Golden Delicious'
Juan Pablo Orozco Martínez, Rocío Crystabel López González, Juan Ramiro Pacheco Aguilar

Sorgo y niveles de fibra detergente neutro para alimentar conejos
M. Rocha-Solache, J.G. Gómez-Soto, E.R. Ramos-Olvera, C.J. Gudiño-Lozano, C.I. Narváez-Briones, T.C. Reis-de Souza, K Escobar-García.

Comparación entre metodologías de extracción de pigmentos de Chlorella vulgaris
Karina E. Rodríguez-López, Juan Fernando García Trejo

Determinación de la permeabilidad y el tiempo de retención hidráulica de un biofiltro por simulación (CFD).
David Rosales-Rodríguez, Mónica Ortuño López, Héctor A. López-Aguilar, A. Gómez Jorge, Enrique A. Huerta- Reynoso, Benjamín Hernández-Figueroa, Antonino Perez-Hernandez

Expresión de tres poliamino oxidasas de Opuntia ficus-indica
José Francisco Rubio Aguilera, María de la Luz Guerrero González

Construcción de la mutante Msn4Δ de Cándida glabrata, un patógeno oportunista
Diana L. Vázquez-Durán, Guadalupe Gutiérrez- Escobedo, Alejandro De Las Peñas

Generación de un sistema de expresión del gen GCaMP6s en *Danio rerio*

Backhoff, G., Pablo E.[1], Rodríguez, O., Luis R. Ph.D.[2]

[1]Universidad Autónoma de Querétaro; emiliano.backhoff@gmail.com

[2]CONACYT-Instituto de Neurobiología, UNAM Juriquilla; rodriguez.ortiz.lr@gmail.com

Resumen

El pez cebra es un modelo biológico muy utilizado en los campos de la investigación biomédica, genética, metabólica, entre otras. Con el uso del sistema Tol2 se buscó construir un plásmido de expresión ubicua para el gen sensible al calcio GCaMP6s en todo el organismo. De tres plásmidos posibles (p5E_h2afx, p_CMV y p_βactin) se modeló el sistema pDestTol2-pCMV-GCaMP6s vía SnapGene y se construyó por restricción enzimática y ligación catalizada por T4. Los fragmentos genéticos y vectores construidos se caracterizaron por fragmentos de restricción corridos en geles de agarosa 1% y PCR en colonia. A los embriones de pez, durante su estado unicelular embrionario, se les micro inyectó dos sistemas de expresión; el Mix 1 (pDestTol2-ph2afx-GCaMP6s); y el Mix 2 (pDestTol2-pELAVL3-GCaMP6s). Se observó la expresión del gen tres días después de la fertilización. Solo las larvas microinyectadas con el Mix 1 expresaron el gen; los sistemas con promotores CMV y h2afx no se construyeron exitosamente.

Palabras clave: sistema Tol2, GCaMP6s, microinyección, PCR en colonia, clonación por restricción.

Abstract

Zebrafish is a biological model widely used in the fields of biomedical, genetic, metabolic research, among others. With the use of the Tol2 system, we sought to build a ubiquitous expression plasmid for the GCaMP6s calcium-sensitive gene throughout the body. From three possible plasmids (p5E_h2afx, p_CMV and p_βactin), the pDestTol2-pCMV-GCaMP6s system was modeled via SnapGene and was constructed by enzymatic restriction and ligation catalyzed by T4. The genetic fragments and constructed vectors were characterized by restriction fragments run on 1% agarose gels and PCR in colony. Fish embryos, during their unicellular embryonic state, were injected with two expression systems; Mix 1 (pDestTol2-ph2afx-GCaMP6s); and Mix 2 (pDestTol2-pELAVL3-GCaMP6s). Gene expression was observed three days after fertilization. Only larvae microinjected with Mix 1 expressed the gene; CMV and h2afx promoter systems were not built successfully.

Key words: Tol2 system, GCaMP6s, microinjection, In colony PCR, restriction cloning.

1. Introducción

Los iones de calcio (Ca^{2+}) tienen una importante función moduladora en una gama muy amplia de procesos celulares, es un mensajero secundario ubicuo en las células. Cientos de proteínas tienen como función la modulación de niveles de este ion y así la transducción de estos en cascadas de señalización (Wu, 2019). La

concentración intracelular de iones libres de Ca^{2+} tiende a variar rápidamente en células musculares así como en neuronas. El desarrollo de un método de monitoreo de estos cambios de actividad neuronal, tanto de poblaciones celulares, como de una única neurona, representa un paso clave en el desarrollo de tratamientos para problemas de investigación relacionados con las neuronas y la señalización por Ca^{2+} (Ding, 2014). De igual forma, es una valiosa herramienta que posibilita la medición funcional de proteínas blanco y rutas fisiológicas mediadas por éste.

Existen dos tipos de indicadores utilizados para la visualización de éste: el calcio químicamente sintetizado, el cual tiene una alta sensibilidad y una rápida cinética, pero no es selectivo en cuanto al tipo de células; y los indicadores de Ca^{2+} codificados genéticamente (GECIs), también llamados proteínas indicadoras fluorescentes de calcio (FCIPs). Estas fueron la primer sonda usada para la medición intracelular de este ion. Derivadas de una proteína bioluminiscente producida por *Aequorea victoria*, éstas posibilitan la visualización duradera no invasiva de células específicas, así como de compartimentos subcelulares. Sin embargo, presentan una velocidad lenta de respuesta y una baja intensidad luminiscente.

GCaMP es uno de los GECIs más utilizados. Surge de la fusión de una variante circular permutada de proteína verde fluorescente mejorada (cpEGFP) con la proteína de unión a calcio, calmodulina (CaM), en el carbono terminal, mientras que, en el amino terminal, posee un péptido sintético M13 con un dominio de unión a calmodulina. (Ding, 2014). La luz emitida por esta proteína puede ser observada bajo un microscopio de fluorescencia.

El pez cebra (*Danio rerio)* es un modelo biológico ampliamente utilizado en el campo de la investigación biomédica. Gracias al conocimiento de su genoma secuenciado, la relativa facilidad de su manipulación genética, su alta fertilidad, su fecundación y desarrollo fuera del útero y la presencia de los órganos principales involucrados en el metabolismo humano, este animal se ha vuelto una poderosa herramienta en el estudio de procesos biológicos, enfermedades y desórdenes metabólicos como la diabetes mellitus tipo 2, la falla renal crónica, la epilepsia, entre otras (Teame, 2019). Además, la alta tasa de producción embrionaria (hasta 200 huevos cada siete días) y el hecho de que el embrión sea casi transparente, con un rápido desarrollo anatómico y fisiológico, permiten estudiar el desarrollo de este vertebrado desde estadíos tempranos de la embriogénesis hasta la maduración (Tavares, 2013). Actualmente, el pez cebra es utilizado para estudiar desde el desarrollo fisiológico, la inmunidad, el comportamiento, la nutrición y hasta la psicología. Esto debido al gran grado de conservación funcional de la genética, la fisiología y la morfología entre el pez cebra y los humanos a la par del desarrollo de técnicas moleculares y nanotecnológicas (Teame, 2019).

Objetivo: construir, por medio de clonación por restricción y ligación, un vector de transformación de pez cebra para la expresión de la proteína sensible al calcio GCaMP6s en todos sus tejidos.

2. Metodología

2.1. Diseño in silico del sistema de transformación:

Haciendo uso del software SnapGene (GSL Biotech LLC) se identificaron los sitios de restricción de diversas endonucleasas tipo II para los plásmidos comerciales:

pELAVL3_GCaMP6s; p5E_h2afx; p_βactin; pCMV; y pDestTol2pA2. Las enzimas de restricción elegidas fueron:

- *pELAVL3_GCaMP6s: EcoRI, NotI, XhoI*
- *p5E_h2afx: NcoI, SacI, EcoRI, NotI*
- *p_actin: HindIII, SalI, EcoRI, NotI, SacI*
- *pCMV: EcoRI, SalI, NcoI, SacI*
- *pDestTol2pA2: BamHI, EcoRI, XhoI, NcoI, HindIII*

Se corrieron simulaciones de las digestiones enzimáticas corridas en un gel de agarosa 1%, usando un marcador de peso molecular GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific). Se realizó la construcción del plásmido de destino (pDestTol2pA2+h2afx/actin/CMV+GCaMP6s) en SnapGene (GSL Biotech LLC).

2.2. Clonación de plásmidos de interés:

Se generaron clones de los plásmidos de interés vía la transformación de células competentes de E.coli obtenidas del Laboratorio de Proteogenómica del Instituto de Neurobiología (INB). Se utilizó 1 µL de cada plásmido [100 ng/µL] por cada vial con 100 µL de células competentes y se mezclaron por pipeteo. Como controles positivos se utilizaron los plásmidos de resistencia a ampicilina y a kanamicina. Como controles negativos se dejaron cuatro viales sin transformar, uno por cada plásmido. Se incubaron todos los viales a 4°C/30 minutos, posteriormente se incubaron a 42°C/90 segundos en un termobloque (Thermomixer Compact, Eppendorf) y se dejaron reposar en hielo a 4°C/5 minutos. A cada vial se le añadieron 800 µL de medio LB sin antibiótico y se incubaron a 37°C/90 minutos con agitación de 180-200 rpm. Las células se centrifugaron a 12,000 rpm/1 minuto a temperatura ambiente (TA), se descartó el sobrenadante y se resuspendió el paquete celular en el medio sobrante. Cada suspensión se inoculó, por esparcimiento en placa, en cajas petri con agar LB con antibiótico, Ampicilina o Kanamicina. Todas las cajas se incubaron a 37°C/16-18 horas.

- *LB+Ampicilina: pELAVL3_GCaMP6s, pCMV y pDestTol2pA2.*
- *LB+Kanamicina: p5E_h2afx y p_actin.*

Habiendo pasado el tiempo de incubación, se tomaron colonias aisladas de cada caja petri con plásmido clonado y se colocaron en tubos de cultivo con 3 µL de medio líquido LB+amp/kan, dependiendo de la resistencia conferida a las células. Cada tubo se incubó a 37°C/16-18 horas.

2.3. Purificación de plásmidos:

Se siguió el protocolo de purificación GeneJET Plasmid MiniPrep Kit (Thermo Fisher Scientific) para todas las clonaciones. Primero, se tomaron 1.5 µL de células en medio LB líquido y se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 µL. Esto se hizo cuatro veces por cada plásmido. Se centrifugaron a 12,000 rpm/5 minutos a TA y se descartó el sobrenadante. Se resuspendieron los pellets en 250 µL de solución de resuspensión fría con RNAsa A y se vortexearon para eliminar sólidos. Inmediatamente después se agregaron 250 µL de solución de lisis y se mezcló por inversión; se agregaron 350 µL de solución de neutralización y se mezcló por inversión. Las muestras se centrifugaron a 12,000 rpm/5 minutos a TA y se transfirió cada sobrenadante a una columna GeneJET, respectivamente. Se centrifugaron a 12,000 rpm/1 minuto a TA, se descartó el sobrenadante y se le agregó a cada columna 500 µL de solución de lavado con etanol 96%; se volvió a centrifugar a 12,000 rpm/30 segundos a TA. Se desechó el sobrenadante, se agregaron 500 µL de solución de lavado, dejándola reposar durante dos minutos antes de volver a centrifugar a 12,000 rpm/30 segundos a TA. Se volvió a descartar el sobrenadante y se transfirió cada columna a tubos eppendorf 1.5 mL y se les añadió 50 µL de solución de elución. Ésta

se dejó reposar en la columna durante dos minutos antes de centrifugar a 12,000 rpm/2 minutos a TA. Se recolectó el sobrenadante y se descartaron las columnas. Todas las muestras de plásmido purificado se cuantificaron vía NanoDrop (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific). Se cargaron muestras de 1-1.5 µL y se usó 1 µL de la solución de elución como blanco.

2.4. Caracterización de plásmidos purificados:

Todas las muestras se dirigieron con dos enzimas de restricción diferentes. Una endonucleasa que generará un solo corte y otra que generará dos o más cortes. El volumen final de reacción para todas las muestras fue de 15 µL (10 µL de plásmido purificado + 5 µL master mix de reacción). Todas las muestras, más sus controles (plásmido sin cortar) se incubaron a 37°C/60 minutos. El Master Mix de reacción para cada plásmido estaba compuesto por 3 µL de amortiguador de enzima, 1 µLde la endonucleasa II respectiva, y 12 µL de agua ultrapura (miliQ). Las enzimas, el amortiguador y el tipo de corte que generaban se muestra a continuación:

- *pELAVL3_GCaMP6s: EcoRI (4 cortes) con amortiguador ReAct3 ® (Thermo Fisher Scientific) y XhoI (2 cortes) con amortiguador ReAct2 ® (Thermo Fisher Scientific).*
- *p5E_h2afx: NcoI (1 corte) con amortiguador Anza ® (Thermo Fisher Scientific) y SacI (2 cortes) con Anza ® (Thermo Fisher Scientific).*
- *p_actin: HindIII (1 cortes) con ReAct2 ® (Thermo Fisher Scientific) y SalI (2 cortes) con ReAct10 ® (Thermo Fisher Scientific). SacI (2 cortes) Anza ® (Thermo Fisher Scientific)*
- *pCMV: NcoI (1 cortes) con Anza ® (Thermo Fisher Scientific) y SacI (2 cortes) con Anza ® (Thermo Fisher Scientific).*

Todas las muestras se incubaron a 37°C/60 minutos y posteriormente se corrieron en una electroforesis de agarosa 1% con 250 mL de amortiguador de corrida (150 mL TAE1X+100 mL agua mQ). Se cargaron 15 µL de muestra más 3 µL de amortiguador de carga. El orden de carga para todas las muestras fue: plásmido sin digerir, plásmido con un corte, plásmido con dos cortes. En el primer carril se cargó 1 µL la escalera de pesos moleculares GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific). Todas las muestras se corrieron a 80-100 voltios por 30- minutos. Los resultados se visualizaron en un fotodocumentador (MiniBIS Pro, SERVA) bajo luz UV.

2.5. Diseño de cebadores para clonación:

pELAVL3_GCaMP6s:

A. *Directo: GCCAAGAATTCCACCCCTA*
B. *Indirecto: GCACCCGCGGCCGCATCTTC*

p5E_h2afx, p_actin y pCMV:

C. *Directo: CCATGGGGATCCAAATAATG*
D. *Indirecto: GTAAAACGACGGCCAGGATCC*

2.5.1. Diseño de cebadores para comprobación:

GCaMP6s:

E. *Directo: GGCAATGGCTACATCAGTGC*
F. *Indirecto: CGAGATCCTTATCGTCATCG*

p5E_h2afx:

G. *Directo: CAGCTAAAAGTGAATTTCTC*

p_actin:

H. *Directo: GCTGAAGATTAACGTTAACG*

pDestTol2:

I. *Directo: GCTGAACGGTCTGGTTATAG*
J. *Indirecto: GTTGATAATTCACTGGCCGTC*

2.6. Aislamiento de GCaMP6s:

Al plásmido pELAVL3_GCaMP6s se le realizó una PCR utilizando los cebadores A y B. El programa de PCR fue el siguiente: un ciclo de 94°C/5 minutos; 30 ciclos de 94°C/3 minutos, 55°C/30 segundos y 72°C/3 minutos; y un ciclo a 4°C/1 minuto. La soluciones de reacción fueron las siguientes:

Tabla 1. Soluciones de reacción para PCR.

Reactivos	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Buffer 10x sin Mg	5 µL	5 µL	5 µL
10 mM dNTP's	1 µL	1 µL	1 µL
50 mM $MgSo_4$	1.5 µL	1.5 µL	1.5 µL
Cebador A	1.25 µL	1.25 µL	1.25 µL
Cebador B	1.25 µL	1.25 µL	1.25 µL
pELAVL_GCaMP6s	1 µL	3 µL	5 µL
Taq Polimerasa	0.5 µL	0.5 µL	0.5 µL
Agua mQ	38.5 µL	36.5 µL	33.5 µL

Una vez finalizada la PCR, las muestras se corrieron en un gel de agarosa 0.7% a 100V/35 minutos. Se usó 1 µL de GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Fisher Scientific) que se cargó en el primer carril; se cargaron 5 µL de cada muestra + 1 µL de amortiguador de carga por muestra. Se visualizaron los resultados en un fotodocumentador (MiniBIS Pro, SERVA) bajo luz UV.

Para purificar al amplicón, se corrió el resto de las muestras de GCaMP6s amplificadas. Se cargaron los tubos 2 y 3 (45 µL muestra + 7 µL amortiguador de carga) en dos pocillos de un gel de agarosa 0.7% y la muestra 1 se distribuyó en ambos pocillos. Se corrió la electroforesis a 70 V/75 minutos y se visualizó en MiniBIS Pro (SERVA). Las bandas fueron cortadas con un bisturí estéril y se purificaron siguiendo el protocolo del kit QIAQuick Gel Purification 250 (QIAGEN).

2.7. Construcción del plásmido de destino:

pDestTol2_h2afx_GCaMP6s: primero se cortó a p5E_h2afx y a GCaMP6s con las enzimas de restricción EcoRI y NotI siguiendo la metodología escrita en la sección 2.4. Después se llevó a cabo una reacción de ligación entre p5E_h2afx y GCaMP6s a TA por 270 minutos. La solución de reacción fue la siguiente (volumen final 20 µL):

Tabla 2. Solución de ligación h2afx+GCaMP6s.

Amortiguador 10x	T4	p5E_h2afx	GCaMP6s	Agua mQ
2 µL	0.4 µL	3 µL	3 µL	11.6 µL

Este nuevo vector se clonó vía transformación de E. coli (ver sección 2.2.) y se purificó como se reportó en la sección 2.3. Este vector fue ligado a pDesTol2 de misma manera reportada en esta sección pero se dejó la reacción de ligación durante toda una noche. Una vez ligado, el vector de destino se clonó en bacterias E.coli (ver sección 2.2.) y, posteriormente, se purificó (sección 2.3.).

pDestTol2-CMV-GCaMP6s: se siguió el protocolo reportado en ésta sección para la ligación de pCMV con GCaMP6s. La reacción se dejó correr por toda una noche. La solución de reacción fue la siguiente:

Tabla 3. Solución de ligación CMV+GCaMP6s.

Amortiguador 10x	T4	pCMV	GCaMP6s	Agua mQ
2 µL	0.4 µL	10 µL	1.5 µL	6.1 µL

Este nuevo vector se clonó y purificó de células de E.coli (sección 2.2. y 2.3.) y se comprobó su integridad vía PCR en colonia. La solución de reacción fue la siguiente (se usaron 18 µL por cada muestra):

Tabla 4. Master Mix de reacción para 12 muestras.

Reactivos	*Volumen*
Amortiguador 10x	26 µL
dNTP's	6.5 µL
$MgSO_4$	9.75 µL
Taq Polimerasa	2.6 µL
Agua mQ	171 µL
Cebador C	9.1 µL
Cebador D	9.1 µL

El programa de PCR consistió en 1 ciclo 94°C/5 minutos seguido de 20 ciclos (94°C/5 minutos; 52°C/30 segundos; 72°C/270 segundos) y un ciclo a 72°C/4 minutos. Los amplicones se corrieron en un gel de agarosa 1 % a 100V/45 minutos. Se cargaron 10 µL de muestra + 2 µL de amortiguador de carga; se utilizó el marcador de peso molecular indicado en la sección 2.3. Los resultados se visualizaron bajo luz UV utilizando un fotodocumentador (MiniBIS Pro, SERVA).

Para purificar el amplicón (pCMV-GCaMP6s) se siguió el método reportado en la sección 2.5. junto con el protocolo QIAQuick Gel Extraction 250 (QIAGEN). Éste amplicón se cortó con BamHI y se ligó a pDesTol2. La solución de reacción fue la siguiente:

Tabla 5. Solución de ligación pDesTol2+pCMV-GCaMP6s.

Amortiguador 10x	T4	pDestTol2	CMV-GCaMP6s	Agua mQ
2 µL	0.4 µL	1 µL	6 µL	10.6 µL

Este plásmido final se clonó vía transformación de células de E.coli (ver sección 2.2.) y se purificó como está reportado en la sección 2.3. Para comprobar su integridad se caracterizó como se reportó en la sección 2.4. utilizando las enzimas de restricción NcoI y HindIII.

2.6. Microinyección de embriones:

En un tanque de cruza, se colocaron dos peces cebra hembras y un macho separados por una mampara transparente. Estos se dejaron así durante toda una noche. En la mañana siguiente, antes de que comenzara el ciclo de luz, se quitó la mampara para permitir la cruza de peces. Una vez depositados los embriones en el fondo del tanque, se devolvieron los peces a sus respectivas peceras y se recolectaron los embriones haciendo uso de un colador de cocina. Los embriones atrapados en el colador se lavaron con agua de pecera Blue E3 para eliminar contaminaciones. Los embriones limpios se colocaron en una caja petri con agua de pecera Blue E3 y se observaron bajo un estereoscópico SZ61 (Olympus Life Sciences) para evaluar su integridad. Los embriones saludables se colocaron en los carriles de una caja petri de medio sólido (agarosa 1%/Blue E3). Haciendo uso de una lanceta y el estereoscopio, los embriones se acomodaron en los carriles, dejando poco espacio entre cada uno.

Se acercó el pedestal de inyección a la caja con los embriones y se colocó el capilar a un ángulo de 45° respecto a los embriones. Teniendo mucho cuidado de no destruir al embrión, se insertaba el capilar atravesando el corion y llegando a la célula vegetal. Una vez ahí se inyecta el material genético haciendo uso de una bomba de aire. El tamaño de la gota para inyectar debe de ser 1/10 del tamaño del embrión. Para cerciorarse de que el material se hubiese depositado correctamente se observaba la velocidad de difusión de la muestra dentro del embrión. También se dejaron cerca de ¼ de embriones sin microinyectar como control experimental. Las muestras genéticas que se micro-inyectaron fueron:

- *Mix 1: mRNA de transposasa, pDestTol2-h2afx-GCaMP6s y rojo fenol.*
- *Mix 2: mRNA de transposasa, pDestTol2-ELAVL3-GCaMP6s y rojo fenol.*

Una vez micro-inyectados todos los embriones, estos se colocaron en una caja petri con agua de pecera Blue E3 limpia y se incubaron a 28.5°C durante tres días. Las larvas sobrevivientes se observaron en un microscopio confocal de fluorescencia.

3. Resultados y Discusión

3.1. Generación de pDesTol2-pCMV-GCaMP6s:

Se escogió como vector de destino a pDestTol2 debido a su alta tasa de transgénesis, hasta un 50% (Kawakami, 2004). Este plásmido posee un elemento genético transponible (transposón) el cual puede ser reconocido por la enzima transposasa. Esta enzima puede integrar al transposón dentro del genoma de un organismo eucarionte o procarionte cortando en regiones que posean la secuencia de reconocimiento para la transposasa (Pray, 2008). El sistema Tol2 integrado con un gen reportero fluorescente (por ejemplo, cpEGFP) puede ser una poderosa herramienta en la selección de organismos transformados exitosamente (Kwan, 2007). Este sistema también facilita la construcción de vectores complejos con relativa facilidad gracias al sistema de clonación Gateway (Thermo Fischer Scientific) pero por falta de reactivos necesarios para este sistema la construcción del sistema se realizó vía clonación por restricción.

La amplificación de GCaMP6s con los cebadores A y B resultó exitosas. Se obtuvo un amplicon con un tamaño cercano a las 1.8 Kb (**figura 1A)**; el tamaño de GCaMP6s es de 1,748 pb. Los cebadores A y B poseían sitios de restricción para las endonucleasas II EcoRI (G/AATTC) y NotI (GC/GGCCG), respectivamente. El plásmido CMV posee los sitios de restricción para EcoRI y NotI, por lo tanto, se pudo ligar a GCaMP6s dentro del vector pCMV. La ligación fue catalizada por la ligasa T4. Se utilizaron los cebadores C y D para amplificar al promotor (pCMV) junto con GCaMP6s. Estos cebadores tenían codificados los sitios de restricción para BamHI (G/GATCC). El nuevo amplicon, se encontraba debajo de la banda de 3 Kb de la escalera de pesos moleculares. Comparando la simulación por SnapGene, que generó un amplicon de 2, 776 pb (**figura 2A),** con la PCR en colonia, se clonó y aisló exitosamente a pCMV-GCaMP6s (**figura 1B**).

El plásmido de destino pDestTol2 posee

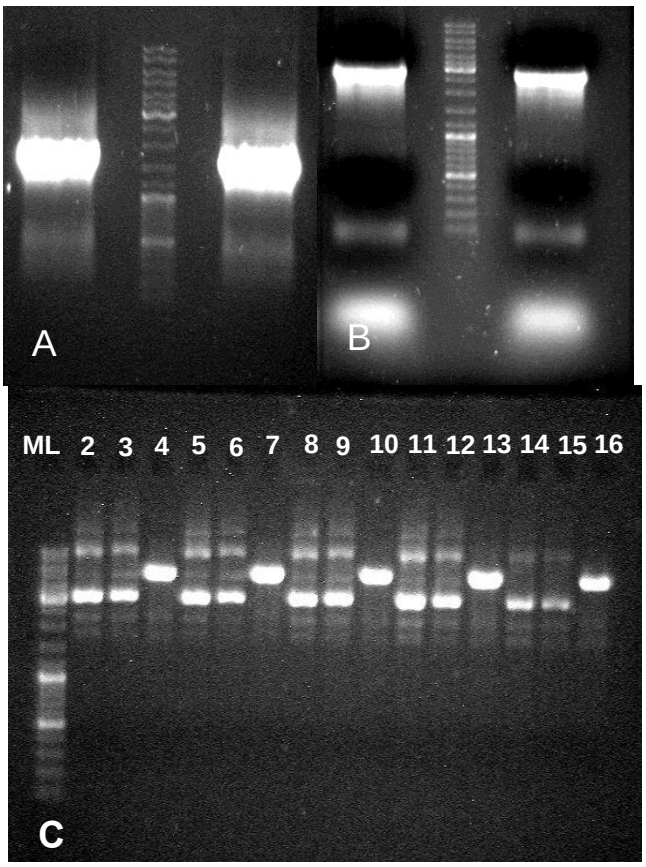


Figura 1. A) Amplicon GCaMP6s; B)Amplicon pCMV-GCaMP6s;C) Caracterización pDestTol2-pCMV-GCaM6s

dos sitios de restricción para BamHI. Esto permite la ligación del amplicon pCMV-

GCaMP6s vía clonación por restricción. Como se puede observar en la **figura 1C,** no se logró la ligación del fragmento de interés en el plásmido. En los carriles 3, 6, 9, 12 y 15 se esperaba ver una banda de 7.7 Kb, generada por la acción de NotI, pero se observan tres bandas; estas corresponden al plásmido pDestTol2 en sus formas: relajada, enrollada y súper enrollada. Cuando el pDNA se encuentra superenrollado, por la acción de topoisomerasas, éste disminuye en tamaño. Esto le permite migrar a mayor velocidad debido a una menor fricción contra la agarosa. Cuando el pDNA se encuentra relajado, o su doble cadena sufrió un corte, éste migra más lento a través de la matriz de agarosa debrido a su mayor tamaño

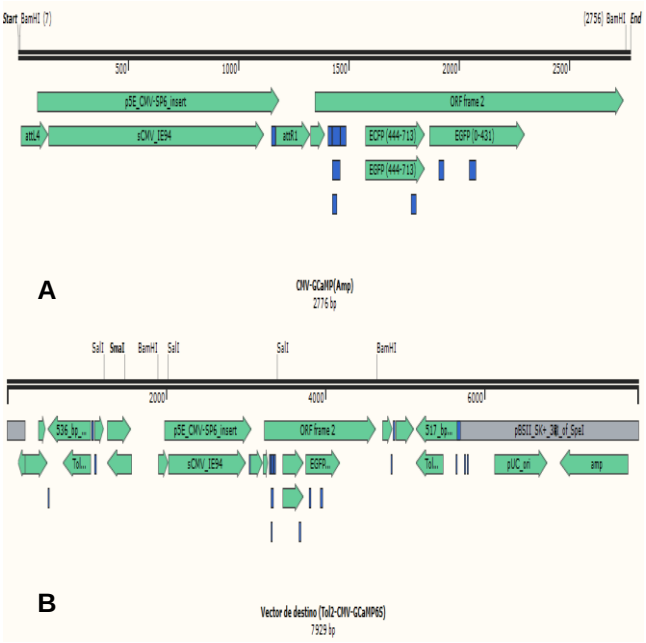


Figura 2. A) Amplicón pCMV-GCaMP6s; B) Plásmido de destino (Simulaciones por SnapGene).

y, por ende, superficie de contacto. Cuando ambas cadenas del pDNA se han roto éste se linealiza y migra a su velocidad normal (García-Milian, 2012). En las bandas 4, 7, 10, 13 y 16 se esperaría ver dos fragmentos, generados por HindIII, con longitudes de 5.6 Kb y 2 Kb, pero solo se observa una banda con una longitud aproximada a 5 Kb. Estos resultados indican que pDestTol2 se religó antes de incorporar al fragmento de interés.

El vector de destino construido puede observarse en la simulación de SnapGene de la **figura 2B.**

3.2. Larvas de pez cebra transformadas:

La fluorescencia generada por la proteína quimérica GCaMP6s sucede cuando el Ca^{2+} se une a la subunidad CaM. Esta unión provoca un cambio estructural en el complejo CaM-M13 que lo deja en cercanía con el cromóforo de cpEGFP. Esta unión bloquea el acceso de solvente a un espacio antes disponible en el lado de la GFP, lo cual restaura la desprotonación del cromóforo, lo que finalmente da lugar a la transición espectroscópica que permite la medición de los cambios en florescencia (Ding, 2014).

Como se observa en la **figura 3A**, los embriones micro inyectados con el Mix 1 no mostraron fluorescencia. Esto pudo haber sido por una tasa de transgénesis cercana a 0 y que

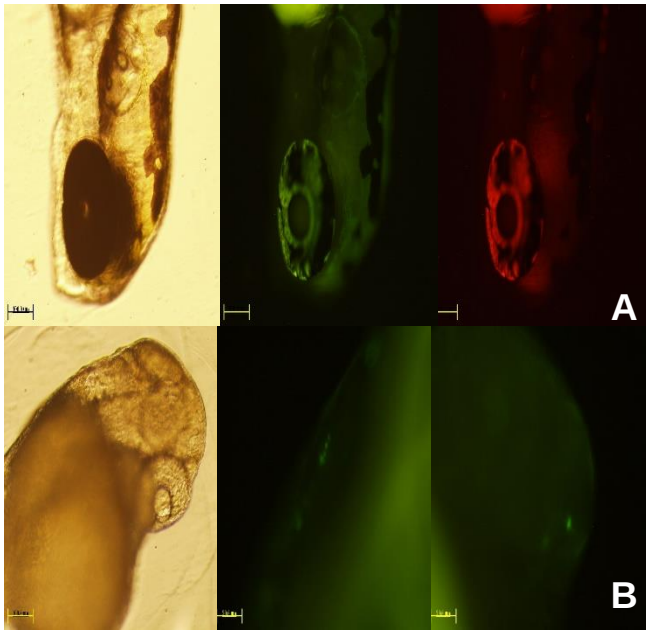


Figura 3. A)Larva de pez cebra micro inyectada con Mix 1; B) Larva de pez cebra micro inyectada con Mix 2.

todos los peces observados no se hubiesen transformado. También pudo deberse a una religación de pDestTol2 impidiendo la incorporación del fragmento ph2afx-GCaMP6s en el vector de destino. Para comprobar la construcción exitosa del vector se deberá caracterizar por sitios de restricción al plásmido generado. Al momento de mi término de la estancia (24 de julio, 2019), este paso faltaba por realizarse por mi compañera responsable de la construcción del sistema pDestTol2-ph2fx-GCaMP6s. Pero sospecho que sucedió lo mismo en este sistema como en el sistema pDestTol2-pCMV-GCaMP6s elaborado por mí.

Los embriones transformados con el Mix 2 sí expresaron fluorescencia generada por GCaMP6s. El sistema pDestTol2-pELAVL3-GCaMP6s había sido elaborado por el Dr. Luis Rodríguez previo a mi participación en el proyecto de investigación. Este promotor, a diferencia de pCMV o p5E_h2afx que se expresan de forma ubicua, es específico para neuronas (Eisen, 2012; Washbourne, 2016). Los pequeños puntos verdes observables en la **figura 3B** corresponden a la expresión de GCaMP6s únicamente en la corteza neuronal de la larva.

4. Conclusión

No se cumplió con el objetivo de generar líneas transgénicas de pez cebra que expresaran de forma ubicua el gen de GCaMP6s. El sistema construido por mí no logró incorporar a pCMV-GCaMP6s dentro de pDestTol2 por lo que no se pudo medir la fluorescencia en todo el pez. Aún así se pudo observar el efecto de este gen en el tejido neuronal y se reforzó el conocimiento de técnicas en biología molecular y bioinformática.

5. Agradecimientos

Le agradezco al Dr. Luis Rodríguez por la oportunidad de participar en su proyecto y por su disposición a asesorar y enseñar por medio del trabajo en equipo.

6. Referencias

1. Ding, J. (2014). Structural basis of the ultrasensitive calcium indicator GCaMP6. *57, 269-274.* Consultado septiembre 07, 2019 de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24390420
2. Fowler, D.K., Williams, C., Gerritsen, A.T., & Washbourne, P. (2016). Improved knockdown from artificial microRNAs in an enhanced miR-155 backbone: a designer's guide to potent multi-target RNAi. *Nucleic Acids Res. 44(5):e48*. Consultado septiembre 08, 2019 de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4797272/
3. Garcia-Milian, R. (2012). *ResearchGate.* Consultado septiembre 08, 2019 de: https://www.researchgate.net/post/Does_supercoiled_dna_migrate_faster_in_agarose_gel_electrophoresis_than_linear_form_of_dna
4. Kwan, K. (2007). The Tol2kit: A Multisite Gateway-Based Construction Kit for Tol2 Transposon Transgenesis Constructs. *Developmental Dynamics, 236*, 3088 –3099. Consultado septiembre 07, 2019 de: https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/dvdy.21343
5. Pray, L.A. (2008). Transposons: The Jumping Genes. *Nature Education 1(1):204.* Consultado septiembre 08, 2019 de: https://www.nature.com/scitable/topicpage/transposons-the-jumping-genes-518/
6. Seredick, S.D., Van Ryswyk, L., Hutchinson, S.A., & Eisen, J.S. (2012). Zebrafish Mnx proteins specify one motoneuron subtype and suppress acquisition of interneuron characteristics. *Neural Dev. 2012;7:35*. Consultado septiembre 08, 2019 de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4797272/

7. Tavares, B., & Santos-Lopes, S. (2013). The importance of Zebrafish in biomedical research. *Acta Med Port (5):583-593.* Consultado septiembre 07, 2019 de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24192099
8. Tsegay, T., Zhen, Z., Chao, R., Hongling, Z., Yalin, Y., Qianwen, D., et al. (2019). The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers, Vol. 9 (3): 68–77*. Consultado septiembre 07, 2019 de: https://doi.org/10.1093/af/vfz020
9. Wu, N. (2019). High-throughput-compatible assays using a genetically-encoded calcium indicator. *Scientific Reports (Nature Publisher Group), 9*, 1-17. Consultado septiembre 07, 2019 de: https://www.nature.com/articles/s41598-019-49070-8

Procesamiento y caracterización de un prototipo de popote de biopolímeros.

Z.I. Hernández-Rufino[1], A. Cortés-Mendoza[1], A.L. Atanacio-Gelover[1], C. Bravo-Rangel[1], M.B. Ortuño-López[1*], C.G. Flores-Hernández[1], A.L. Ramírez-Hernández[1], J.L. Rivera-Armenta[2].

Resumen

En este artículo se evaluó el desarrollo de una matriz biopolimérica compuestas de polisacáridos. Se utilizaron dos biopolímeros diferentes: almidón y quitosano. Los biomateriales compuestos fueron procesados por el método de moldeado por evaporación de solventes. Las características morfológicas, termo-mecánicas y las propiedades térmicas de los compuestos fueron estudiadas por microscopía electrónica de barrido, calorimetría diferencial de barrido, y análisis mecánico dinámico. Estos resultados demuestran que el almidón y el quitosano pueden ser utilizados para obtener nuevos eco-compuestos de mejores propiedades.

Palabras clave *— Biopolímeros, almidón, quitosano, eco-compuestos.*

Abstract

The performance a biopolymeric matrix composed of polysaccharides was evaluated in this paper. Two different biopolymers were used: starch and chitosan. The composites were processed by a casting/solvent evaporation method. The morphological characteristics, thermos-mechanical and thermal properties of composites were studied by scanning electron microscopy, differential scanning calorimetry and dynamic mechanical analysis. These results demonstrate that starch and chitosan can be useful to obtain new green composites providing better properties.

Keywords *— Biopolymer, starch, chitosan, green composites.*

Introducción

El consumo actual de plásticos es mayor a 200 millones de toneladas, con un crecimiento anual del 5%, lo que representa el mayor campo de aplicación para el uso del petróleo [Siracusa *et al*., 2008]. Las investigaciones científicas han dirigido su interés hacia un tipo especial de materiales: los biopolímeros. Estos se presentan como un complemento y, en parte, como una alternativa a los plásticos comunes, un paso lógico y necesario hacia una industria de plásticos moderna y orientada al futuro. La fabricación de un producto utilizando un 100% de recursos renovables es un área con un gran futuro y la tendencia por utilizar una mayor proporción de los recursos renovables disponibles es cada vez más trascendente. Los biopolímeros son de materias primas renovables naturales y presentan un amplio espectro de aplicación tales como bolsas para composta agrícola, láminas, hortícolas, productos infantiles, juguetes, fibras, textiles, etc. Actualmente, se obtienen este tipo de materiales de diferentes hidratos de carbono como son: azúcar, almidón, proteína, celulosa, lignina, biograsas o aceites. De esta manera existen investigaciones que se han enfocado en utilizar materiales provenientes de la naturaleza, como es el caso del almidón y el quitosano. El almidón es un polisacárido de reserva alimenticia predominante en las plantas, constituido por amilosa y amilopectina. El almidón es totalmente biodegradable en una amplia variedad de ambientes que pueden ser hidrolizados a glucosa por microorganismos o enzimas y luego metabolizados en dióxido de carbono y agua [Lu, *et al*., 2009]. Sus propiedades funcionales se mejoran cuando se combina con otros materiales [Matzinos, *et*

[1]Tecnológico Nacional de México / I. T. Querétaro.
[2]Centro de Investigación en Petroquímica; Tecnológico Nacional de México / I. T. Ciudad Madero.
*mbortuno@mail.itq.edu.mx

al., 2002; Reis, *et al*., 1996; Cerclé, *et al*., 2013]. Por otro lado, el quitosano es un polisacárido amino que se encuentra presente en la naturaleza, es biodegradable, no tóxico y biocompatible, producto de la desacetilación parcial de la quitina, aislado a partir de los exoesqueletos o caparazones de crustáceos [Bustos-Ramirez, *et al.,* 2013; Mathew, *et al.,* 2006, Tanabe, *et al*., 2002]. El quitosano es principalmente utilizado en aplicaciones biomédicas y en la industria cosmética, [Espindola-Gonzalez *et al*., 2011], algunas de sus aplicaciones incluyen actividad antimicrobiana, encapsulación del sabor, recubrimiento de semillas, liberación de fármacos y también tiene potencial como un polímero de embalaje comestible o de recubrimiento [Buortoom, *et al*., 2008]. En este trabajo se plantea a los biopolímeros quitosano y almidón, como una alternativa viable para la fabricación de un prototipo de popote comestible a base de recursos 100% renovables, donde una de las ventajas más importante, es que los componentes del prototipo son sostenibles y amigables con el medio ambiente.

Metodología

El prototipo mínimo viable de popote comestible basado en biopolímeros, fue desarrollado empleando métodos y controles en concordancia con la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009 y el Código Internacional Recomendado de Prácticas. Principios Generales de Higiene de los Alimentos. CAC/RCP-1 (1969), Rev. 4 (2003). Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. [SEGOB. DOF, 2019]

La fabricación del prototipo se logró a partir de la síntesis de películas de materiales compuestos de biomateriales, por el método de moldeado por evaporación de solventes. Alternativamente, se evalúo la posibilidad de realizar la extrusión para la obtención de popotes por un método semi-industrial. La preparación de las películas de quitosano-almidón se realizó a diferentes relaciones (80/20, 70/30, 50/50, 30/70) donde se evalúo las propiedades térmicas, termo-mecánicas y de vida de anaquel.

Las películas se realizaron de la siguiente manera: se preparó una solución de 100 mL de quitosano-ácido acético al 1% (vol/vol), y se agitó vigorosamente. Por otra parte, se preparó una solución de 100 mL de almidón-agua y se añadió 1 mL de glicerina y después se calentó hasta aproximadamente 90 – 95 ºC durante 10 minutos con agitación vigorosa. Pasado el tiempo de calentamiento, la solución se enfrió a 30 °C. Finalmente se mezclaron ambas soluciones y se agitó vigorosamente por un tiempo de 20 minutos, hasta que la solución se encontró perfectamente homogénea, después la solución se depositó en moldes de teflón, para que las películas se secaran a 30 °C (Humedad 9.4 %) por 48 horas. Se obtuvieron muestras por cuadruplicado de 115 mm de diámetro y 1.5 mm de espesor promedio.

Resultados y discusión

Se obtuvieron películas de un biopolímero a base de polisacáridos que mostraron resistencia mecánica, flexibilidad, ductilidad, conservación de dimensiones e inocuidad. Dichas propiedades evidencian la buena integración de las materias primas almidón y quitosano, dada por la compatibilidad y la unión íntima de estos componentes a través de su interface. Por lo anterior la morfología resultó adecuada para la fabricación de un prototipo mínimo viable de popote comestible de tonalidades claras y semitransparentes. Se obtienen resultados positivos de la inclusión de cacao como saborizante dados por la integración adecuada del mismo.

En la figura 1 se puede observar las películas de almidón - quitosano y el prototipo de popote elaborado a base del material compuesto. En esta imagen se comprueba la distribución homogénea de los polisacáridos y que no existe una separación de fases.

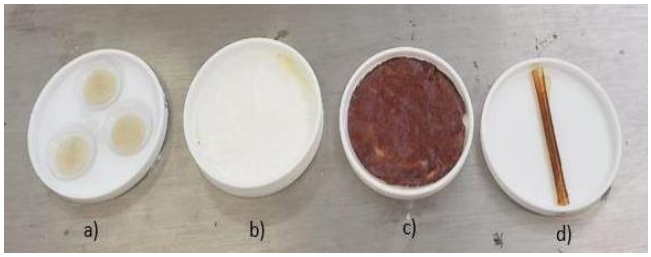


Fig.1. Evolución del prototipo de popote comestible a) Biopolímero de almidón b) Biopolímero de almidón y quitosano c) Biopolímero de almidón, quitosano y cacao d) Prototipo mínimo viable. Fuente: Propia

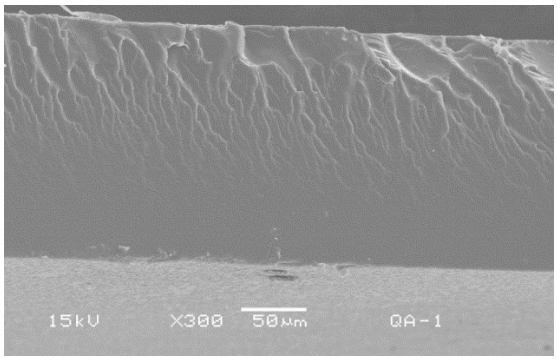


Fig. 2. Micrografía obtenida mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) para la película de 50-50 wt% de Quitosano-Almidón (QA). Fuente: Propia

Por otro lado, la imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en ingles) de la superficie fracturada de las películas de quitosano-almidón (50-50) revelaron que la superficie de toda la película es lisa y homogénea y solo se observan las estrías producto de la fractura efectuada durante la tensión ejercida en la prueba mecánica, tal como se muestra en la figura 2.

Los resultados de la figura 3, demuestran un excelente módulo de almacenamiento de los materiales compuestos a partir de biopolímeros. En el cual se comprueba que la relación de 30 – 70 de almidón – quitosano mejoran su rigidez (4160 MPa) a 30 °C, con respecto a las otras combinaciones (1590 y 920 MPa, para 70-30 y 50-50 %, respectivamente), lo que puede atribuirse a que la presencia del quitosano mejora la respuesta termo-mecánica del material. El comportamiento antes descrito, podría funcionar para su posible aplicación en envases y /o el desarrollo del prototipo del popote.

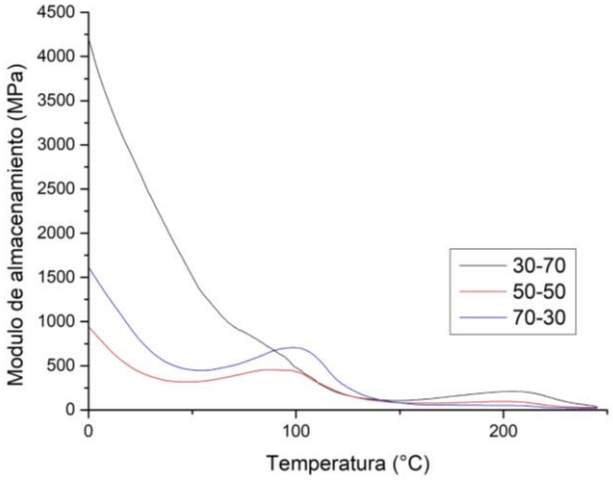


Fig.3.Curvas del módulo de almacenamiento para las películas de almidón – quitosano a diferentes porcentajes. Fuente: Propia

A partir del análisis de la curva de la figura 4, se encontró que la estabilidad térmica obtenida mediante el análisis de calorimetría de barrido (DSC) es mejor en la combinación de 30 – 70 almidón-quitosano, por lo que sigue siendo la mejor opción para su aplicación en el desarrollo del prototipo.

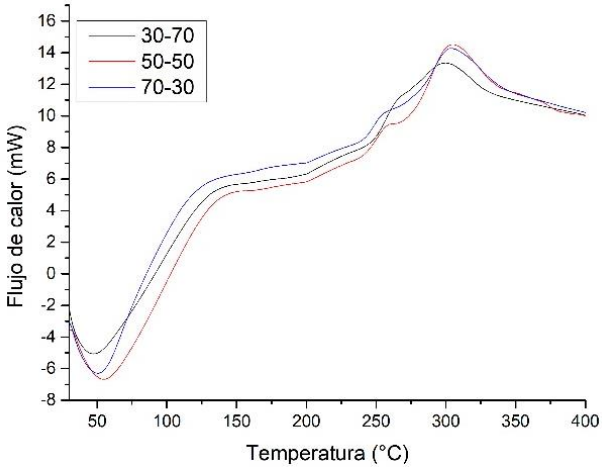


Fig. 4. Curvas de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) para las películas de almidón – quitosano a diferentes porcentajes. Fuente: Propia

Las pruebas sensoriales indican que los biomateriales no transfieren sabor a las bebidas de prueba de pH en el intervalo de 3 a 7, y que, en estas condiciones de

exposición, el prototipo de almidón/quitosano es funcional por un tiempo limitado.



Fig.5. Resultados de la exposición del biopolímero a líquidos de prueba. Fuente: Propia

En base a criterios de pérdida de humedad e inocuidad, se estima que la vida de anaquel de consumo preferente del producto es de 1 a 3 meses, siendo el más durable el biomaterial con mayor contenido de quitosano (30-70).

Conclusiones

Los materiales compuestos a partir de almidón y quitosano presentan un alto grado de transparencia y flexibilidad, las películas no presentan grumos ni disgregación de fases. Las imágenes de SEM de las películas de quitosano-almidón, muestran películas con una superficie lisa y homogénea. Finalmente, los resultados prometedores que muestran estos materiales permiten la continuidad de esta línea de investigación y, como consecuencia, se está llevando a cabo una exploración adicional del procesamiento de estos materiales en diferentes procesos semi-industriales para tener en cuenta las excelentes características de ambos componentes naturales: almidón y quitosano e importante contribución en el desarrollo de envases y productos destinados al consumo de alimentos a través del desarrollo de eco-compuestos apoyados por los recursos naturales.

Referencias

1. Barone, J.R., Schmidt, W.F., Composite Science and Technology 2005, 65, 173-181.
2. Bourtoom, T.; Chinnan M. S.; Food Science and Technology 2008, 41, 1633-1641.
3. Bustos-Ramirez, K., Martínez-Hernández, A.L., Martínez-Barrera, G., de Icaza, M., Castaño, V., Velasco-Santos, C., Materials 2013, 6, 911-926.
4. Cerclé, C., Sarazin, P., Favis, B.D., Carbohydrate Polymers 2013, 92, 138-148.
5. Espíndola-González, A.; Martínez-Hernández, A.L.; Fernández-Escobar, F.; Castaño, V.M.; Brostow, W.; Datashvili, T.; Velasco-Santos, C.; Int. J. Mol. Sci 2011, 12, 1908-1920.
6. Huda Shah, Yang Yiqi, Composites Science and Technology 2007, 68, 790-798.
7. Liu, H., Xie, F., Yu, L., Chen, L., Li, L., Progress in Polymer Science 2009, 34, 1348-1368.
8. Lu, D.R., Xiao, C. M., Xu, S. J., eXPRESS Polymer Letters 2009, 3, 366-375
9. Martínez-Hernández A. L., Santiago-Valtierra A. L., Alvarez-Ponce M. J., Materials Research Innovations 2008, 12, 184-191.
10. Martínez-Hernández, A.L., Velasco-Santos, C., de-Icaza, M., Castaño, V.M., International Journal Environmental and Pollution 2005, 23, 162-178.
11. Mathew, S.; Brahmakumar, M.; Emilia Abraham, T.; Biopolymers 2006, 82, 176-187.
12. Matzinos, P., Tserki, V., Kontoyiannis, A., Panayiotou, C., Polymer Degradation and Stability 2002, 77, 17-24.
13. Reis, R.L., Cunha, A. M., Allan, P.S., Bevis, M.J., Polymer for Advanced Technologies 1996, Vol. 7, 784-790.
14. Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M., Food Science and Technology 2008, 19, 634-643.
15. Tanabe, T., Okitsu, N., Tachibana, A., Yamauchi, K., Biomaterials 2002, 23, 817-825.
16. SEGOB. Diario Oficial de la Federación. (04 de septiembre de 2019). http://www.dof.gob.mx/. Obtenido de http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm

Caracterización de aislados microbianos como agentes de biocontrol de *Botrytis cinerea* en vid

Braulio CARRILLO-CARRILLO[1], Yara Suhan JUÁREZ-CAMPUSANO[2], Juan Ramiro PACHECO-AGUILAR[2]

[1]Facultad de Ciencias Naturales, UAQ, brauliocarrillo66@gmail.com

[2] Laboratorio de Plantas y Biotecnología Agrícola Facultad de Ciencias Químicas UAQ, juca.suhan@gmail.com juanramiro29@yahoo.com.mx

Resumen

El uso de biofungicidas representa una alternativa viable al uso de fungicidas sintéticos, por su bajo impacto ambiental y su alta eficiencia. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia de las cepas FR4B12, P24 y NB9 como agentes de biocontrol de *B. cinerea*. Para ello se realizaron ensayos *In vitro*, mediante cultivos duales, en los que la cepa FR4B12 mostró mayor capacidad de inhibición en *B. cinerea*; en pruebas *in vivo*, se observó a la cepa P24 con mayor actividad de biocontrol. Esto demuestra, en parte, la problemática que surge del enlace de pruebas a distintos niveles, así como la importancia del uso de antagonistas bajo diferentes condiciones, así como la importancia del estudio para saber cómo aplicarlos y obtener una mayor eficiencia como antagonistas.

Palabras clave: Antagonismo, Biofungicidas, uva, podredumbre gris.

Abstract The use of biofungicides show a viable alternative to the usage of synthetic fungicides, by its low impact against the environment and its high efficiency. The objective in this study was test the efficiency of the strains FR4B12, P24 and NB9 as biocontrol agents of B. cinerea. For this, in vitro assays were performed, with dual culture assays, where the strain FR4B12 show a better antagonist activity in *B. cinerea*; on the in vivo essays, the strain P24 showed the highest biocontrol activity. This shows the importance between the assays in different levels, as well as the importance of testing the antagonist in different conditions and the importance of studying how it can be applied to obtain the best efficiency as an antagonist.

Key Words: Antagonism, biofungicides, grapes, gray rot.

Introducción

La producción de uva (*Vitis vinífera* L.) en México ha crecido un 6.05% en los últimos años (SAGARPA, 2017). En el estado de Querétaro se cultiva en seis municipios, siendo Ezequiel montes el mayor productor (SIACON-SIAP, 2019). Uno de los retos que se enfrenta el cultivo de la vid, es la calidad de los frutos; Velásquez *et al.* (2013) señalan como factores, un mal manejo de los viñedos, la susceptibilidad a plagas y la incidencia de enfermedades (Citado por Borja-Bravo *et al.* 2015). Dentro de las cuales, y que comúnmente afectan la vid, se encuentran la pudrición negra, la agalla de la corona, la enfermedad de Pierce, enrollamiento de las hojas, oídio y la podredumbre gris (Kiss *et al.*, 2016).

Botrytis cinerea es el agente causal de la podredumbre gris, este hongo puede manifestarse según la planta y el órgano infectado, tiende a pudrir los tejidos y producir un característico micelio gris. La prevención de la enfermedad se dificulta por su capacidad de desarrollo, infección, dispersión y resistencia; capaz de infectar más de 200 especies de plantas, entre ellas la vid; su versatilidad le permite desarrollarse en tejidos dañados, senescentes o muertos; sus estrategias de dispersión son conidios, esporas asexuales, racimos de esporas y esclerocios, ésta última le permite soportar condiciones secas, calurosas o frías; dichas características le permiten dispersarse por aire, salpicadura de agua, herramienta y suelo que haya tenido contacto con alguna planta previamente infectada (Koike *et al.*, 2016).

Debido al excesivo uso de fungicidas sintéticos, en el intento de combatir estas afecciones a cultivos, comenzó una carrera armamentista entre patógeno-humano, en la que se deben seguir sintetizando nuevos fungicidas, o bien buscar, analizar y aplicar alternativas para la prevención o tratamiento de infecciones por *B. cinerea* en los cultivos. El biocontrol es un área que se ha explorado en los últimos años, consiste en hacer uso de características e interacciones de organismos, como bacterias u hongos, para afectar al agente patógeno (Romanazzi *et al.* 2016). Se han descrito diferentes formas de biocontrol: competencia por espacio y nutrientes, antibiosis, producción de enzimas líticas y la interferencia con la actividad y el crecimiento del patógeno, la producción de compuestos volátiles o inducción de resistencia de la planta huésped, esta actividad se da en el desarrollo del antagonista, puede ser en diferentes etapas y eficiencia. Algunos géneros bacterianos reportados con actividad antagonista en *B. cinerea,* son *Bacillus, Gluconobacter, Serratia*, *Pseudomonas, Rhanella, Streptomyces*, *Xenorhabdus, Brevibacterium, Paenibacillus*, *Burkholderia, Pantoea, Erwinia, Lactobacillus*, entre otras, reportadas en pruebas *in vivo* e *in vitro* (Haidar *et al.*, 2016; Flores-Ruíz *et al.*, 2015). Por otra parte, las levaduras también han mostrado actividad antagonista, entre ellas los géneros *Wickerhamomyces*, *Aureobasidium*, *Metschnikowia* y *Saccharomyces* en pruebas *in vivo* e *in vitro* (Parafati *et al.*, 2015).

Por lo anterior mencionado, el objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antagónica *in vivo* e *in vitro* de dos cepas de *Bacillus subtilis* (FR4B12 y P24) y una levadura, *Metschnikowia* (NB9), en diferentes cepas de *B. cinerea* aisladas de cultivos Queretanos.

Materiales y métodos

Material biológico

Los aislados de *B. cinerea* (B63, B134, B137, B145, b152 y b155) pertecen a una colección de aislados obtenidos de viñedos Queretanos. Las cepas bacterianas pertenecientes a la especie *Bacillus subtilis* (FR4B12 y P24) y la levadura *Metschnikowia pulcherrima* (NB9) son aislados de la ecología microbiana del fruto de uva y manzana

Cultivos duales

En cajas Petri con medio NYDA (8 g caldo nutritivo, 2 g de extracto de levadura, 10 g de dextrosa y 20 de agar) se inoculó un círculo de micelio activo de 7 mm de diámetro de los diferentes aislados de *B. cinerea*, en el centro de la placa y se dejó crecer durante 48 horas. Finalizado este tiempo, se inocularon los antagonistas a 1 cm del borde de la caja, y se dejaron crecer a temperatura ambiente (~ 25 °C).

Por cada cepa de *Botrytis* se colocaron tres replicas con los antagonistas y tres controles, que contenían sólo al hongo. Los ensayos finalizaron hasta que los controles se extendieron por toda la caja, posteriormente se midió el diámetro de los hongos con un Vernier y el halo de inhibición en caso de presentarse.

Ensayo *in vivo* en frutos de vid

Para los ensayos *in vivo* en fruto las bacterias fueron cultivadas en 50 ml de Caldo nutritivo (CN) y la levadura en 50 ml de medio NYDB durante 18 horas en agitación constante (180 rpm) y temperatura ambiente (~ 25 °C). Trascurrido este tiempo, se recolectaron las células por centrifugaron a 40000 rpm durante 15 min, eliminando el sobrenadante y la pastilla obtenida se resuspendió con 10 ml de tween 20 al 0.5%. Para su conteo, Se empleó un hematocímetro, ajustando a 1 X 10^7 células/mL la concentración final de cada antagonista.

Como agente patógeno se seleccionó la cepa de *Botrytis* B134. Las esporas se obtuvieron con tween 20 al 0.5% y raspando las cajas, la mezcla se filtró con gasas estériles para separar el micelio. Se empleó un hematocímetro para contar las esporas y obtener una concentración final de 1 X 10^4 esporas/mL.

Los frutos de uva se cortaron de cada racimo, dejando el pedúnculo; se realizaron lavados, 5 min con alcohol al 96%, 1 min con hipoclorito al 0.5%, 1 min con alcohol al 70%, se finalizó lavándolas con agua estéril y se dejaron secar en campana de flujo laminar. Después, con ayuda de un sacabocado se les hizo una herida de 5 mm x 5 mm x 3 mm. Y se colocaron en cámaras húmedas previamente esterilizadas bajo luz UV durante 20 minutos.

En cada herida de los frutos se colocaron 20 µL de agente de biocontrol (FR4B12, P24 y NB9), dejándose reposar una hora para aplicar 20 µL del patógeno; por cada antagonista se realizaron 24 repeticiones dos controles con el mismo número de uvas, uno inoculado solo con el hongo y el otro sin ningún microorganismo, las cajas se incubaron a temperatura ambiente y transcurridos 5 días se tomaron mediciones de daño; el porcentaje de inhibición se obtuvo restando el daño obtenido de las interacciones (patógeno-hongo) del daño de las uvas tratadas sólo con los hongos (control), de cada uva con un Vernier, se realizaron mediciones desde el punto de inoculación hasta una orilla, considerando los cuatro puntos cardinales.

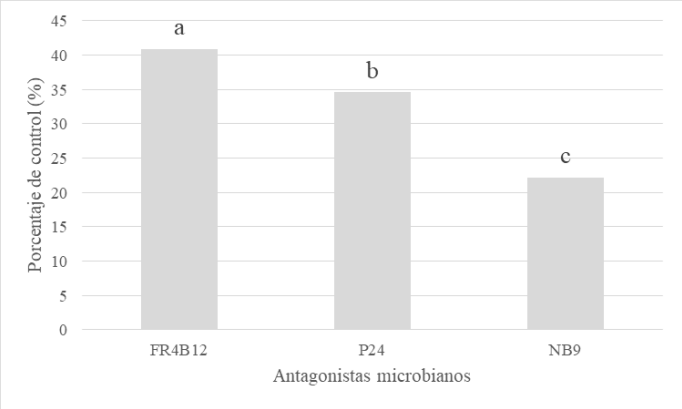
Análisis de datos

Para los ensayos duales, se calculó el porcentaje de inhibición al 100 se le restó la diferencia entre el valor obtenido (antagonismo) al control y se multiplicó por 100, los datos se transformaron a grados angulares y se les sometió a un análisis estadístico ANOVA y al obtener diferencias se aplicó la prueba de Tukey (95%) en el programa estadístico R. Se reportaron los valores de porcentajes en los resultados. Por otro lado para las pruebas *in vivo*, los datos fueron transformados a grados angulares para someterlos a un análisis de varianza (ANOVA), y una prueba de medias de Tukey (95%).

RESULTADOS

La forma de interacción entre los antagonistas y el patógeno fue muy parecida; el crecimiento radial de *B. cinerea* se veía interrumpido por los agentes, donde P24 mostró su capacidad antagónica generando un halo de inhibición (Figura 1 y 2).

Los datos obtenidos de los cultivos duales indicaron que todas las cepas presentaron actividad antagónica en *B. cinerea*, siendo FR4B12 quien presentó 40.90% de inhibición, siendo el mejor agente, sin mostrar relación entre las cepas probadas (Gráfica 1).



Gráfica 1 Porcentaje total de actividad antagonista de las cepas en *B. cinerea* y relación entre ellas en pruebas *in vitro*. Prueba de medias de Tukey 95%, letras similares no muestran diferencias significativas entre los tratamientos. MSD=4.13

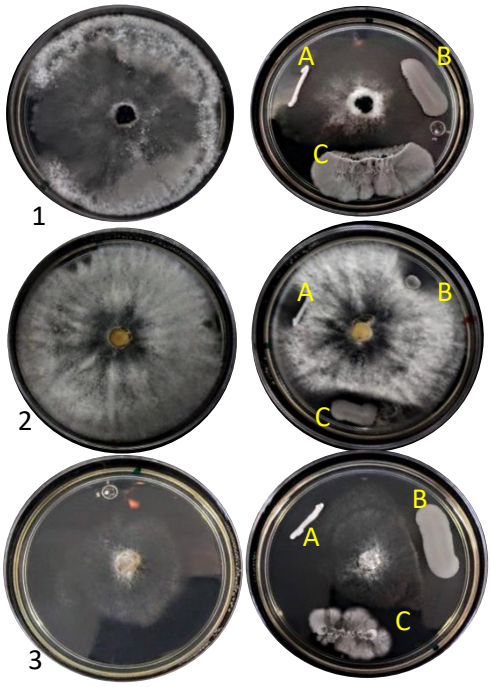


Figura 1 Cultivos duales de *B. cinerea* y antagonistas; 1) Cultivo control de cepa B63; 2) Cultivo control de cepa B134; Cultivo control de cepa B152. Derecha cultivos con antagonistas, A-NB9, B-P24 y C-FR4B12.

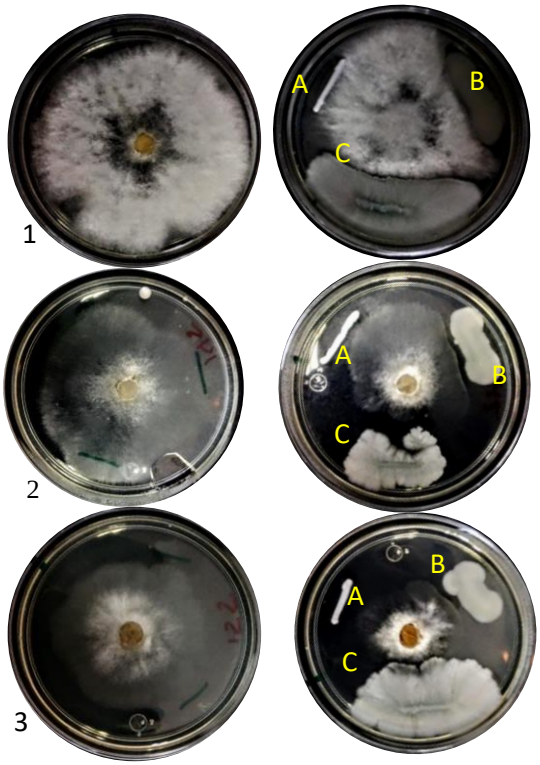
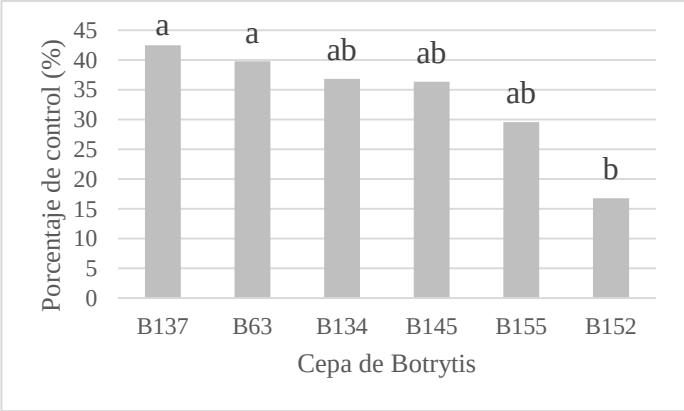


Figura 2 Cultivos duales de *B. cinerea* y antagonistas; 1) Cultivo control de cepa B137; 2) Cultivo control de cepa B145; 3) Cultivo control de cepa B155; Derecha cultivos con antagonistas, A-NB9, B-P24 y C-FR4B12.

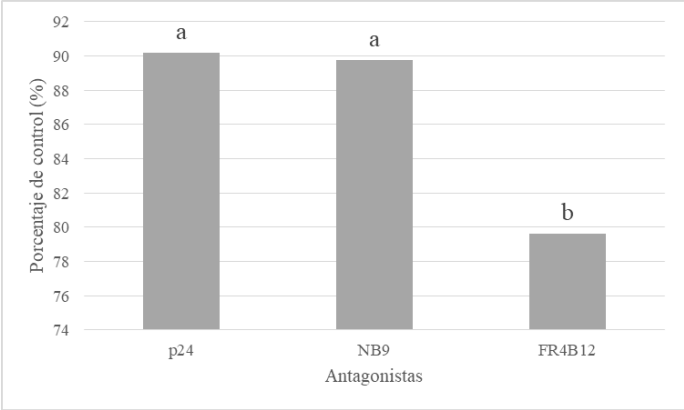
Cada cepa de *B. cinerea* probada mostró diferente capacidad de resistir a los antagonistas; con un 42.48% de inhibición de crecimiento, la cepa B137 fue la más susceptible a los agentes probados, seguido por la B63 quien presentó un 39.75% de afectación; por otro lado la cepa B152 fue quien tuvo mayor resistencia en las pruebas con un 16.77% de inhibición (Gráfica 2).

Entre las cepas probadas se observó un comportamiento similar entre su capacidad de resistencia a los antagonistas, siendo las únicas significativamente diferentes B137 y B63 en un grupo y B152 en otro (Gráfica 2).

En las pruebas *in vivo*, se observó la infección de *B. cinerea* (B137), y cierto comportamiento inhibitorio en los diferentes tratamientos (Figura 4); donde P24 mostró un mejor papel como agente de biocontrol con un 90.17% de inhibición y mostrando una significativa diferencia a FR4B12 (Gráfica 3).



Gráfica 2 Inhibición del crecimiento en pruebas *in vitro* de las cepas de *B. cinerea*, en porcentaje y la relación entre ellas. Prueba de medias de Tukey 95%, letras similares no muestran diferencias significativas entre los tratamientos. MSD=5.95



Gráfica 3 Actividad antagonista en porcentaje de las cepas y la relación entre ellas, prueba *in vivo*. Prueba de medias de Tukey 95%, letras similares no muestran diferencias significativas entre los tratamientos. MSD=3.78

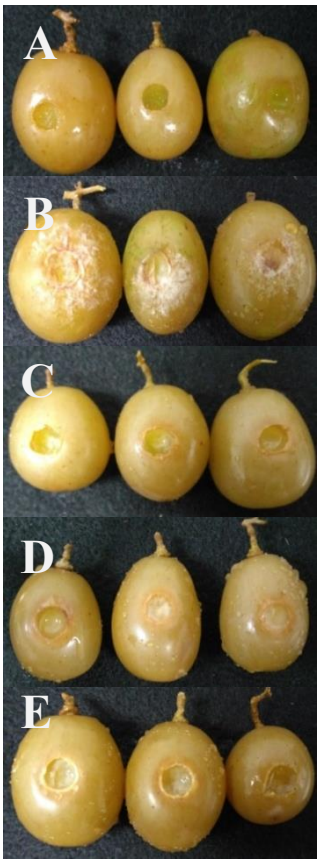


Figura 4. Ensayo *in vivo* en uvas de la variedad Green seedless infectadas con las cepa B137 de *Botrytis cinerea*. a) Uvas control, b) tratadas sólo con *Botrytis*, c) Interacción hongo-P24, d) Interacción hongo-FR4B12, e) Interacción hongo-NB9

Discusión y conclusiones

La primera estrategia para la selección de organismos de biocontrol es obtenerlos del ambiente en el que conviven con los patógenos, teniendo en cuenta que el ambiente favorece al patógeno y favorecerá al antagonista se puede esperar que se presente cierta competencia en las pruebas (Drob *et al*., 2009). Los resultados de los ensayos *in vitro* demostraron que las cepas seleccionadas pueden llevar a cabo el papel de agentes de biocontrol, en condiciones controladas; en estas pruebas la cepa FR4B12 fue la que

demostró un mejor papel como antagonista, lo cual lo hizo un buen candidato para las pruebas siguientes, sin embargo, al evaluar su eficiencia en las pruebas *in vivo* mostró menor inhibición en el crecimiento de *B. cinerea* que en las pruebas previas. En contraste P24 fue quién mostró mayor efecto. Esto habla de la falta de relación entre ensayos *in vitro* y ensayos *in vivo*, de la cuál muchos autores no encuentran mucha relación, esto puede deberse a factores ambientales e incluso la dinámica que juegan el antagonista, el agente patógeno y el hospedero (Sivasakthi *et al*., 2014). La necesidad de desarrollo para microorganismos varía según su biología, por lo que al encontrar algo de actividad antagónica, en este estudio, por las cepas dice que pueden usarse, antes, siendo estudiadas bajo diferentes condiciones según donde se quisiera aplicar el biocontrol para encontrar las condiciones en las que mejor pueda desarrollarse como agente de biocontrol. Por ejemplo, en el caso de las levaduras Parafati *et al.* (2015) reportan a *Metschnikowia pulcherrima* (NB9) con buena actividad de biocontrol contra *B. cinerea* en pruebas *in vitro* bajo diferentes pH, inhibiendo mejor con un pH de 4.5, empero, en pruebas con uvas fue la cepa con menor inhibición de *B. cinerea*; por lo tanto, la evaluación de los candidatos a agentes de biocontrol debe contener diferentes condiciones para identificar el comportamiento y la eficiencia contra el patógeno.

Haidar *et al.* (2016), por su parte comentan que es importante conocer la estrategia de competencia por parte de los agentes de biocontrol, puesto que algunos generan compuestos volátiles, enzimas, mico parasitismo, entre otros, lo cual permitirá conocer un mejor aprovechamiento de estos organismos. Esto demuestra la relevancia de continuar la evaluación de estas cepas bajo diferentes condiciones e identificar sus estrategias de competencia y poder llevarlo a campo.

Algunos autores, como Pertot *et al.* (2017) probaron aumentar la inhibición de *B. subtilis* combinándola con dos microrganismos diferentes, *Trichoderma atroviride* y *Aureobasidium pullulans* los cuales han añadido una variable más al desarrollo de agentes para biocontrol, por lo que se recomienda abarcar las más posibles variables para poder sustituir el uso de fungicidas sintéticos; por lo cual, son muchas las variables que se pueden tomar en cuenta para hacer una selección de algún agente de biocontrol.

Si bien, *B. cinerea* tiene una capacidad de infección muy amplia, se sabe que puede afectar hojas y flores además de los frutos, por lo que evaluar los agentes en diferentes órganos vegetales y a través del tiempo puede ayudar para identificar un mejor rendimiento en el uso de agentes biológicos para la conservación de productos pre y post cosecha.

Conclusiones

El estudio de los diferentes agentes de biocontrol sigue su curso, si bien es difícil encontrar en el mercado diferentes productos con las cualidades adecuadas para aplicar en campo, la búsqueda de alternativas para disminuir el uso de fungicidas no cesa. Es importante notar reconocer que, el potencial de los microrganismos es alto, pero es necesario continuar estudiando condiciones, riesgos y necesidades para explotar esta característica a beneficio y mantener las propiedades secundarias que proveen estos antagonistas, como la promoción del crecimiento vegetal.

El potencial uso de las cepas FR4B12 y P24 se ve reflejado en los datos que dieron durante las

pruebas, por lo que identificar los compuestos que actúan inhibiendo el desarrollo del patógeno es importante para su uso en el mercado. Por lo tanto la continuación de pruebas con estos organismos es relevante para una mejor conserva, uso y aplicación de los mismos en la prevención de las enfermedades que merman la producción de uva.

Bibliografía

Borja-Bravo, M., García-Salazar, J. A., Reyes-Muro L. y Arellano-Arciniega S. (2015) RENTABILIDAD DE LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE UVA (*Vitis vinífera*) PARA MESA E INDUSTRIA EN AGUASCALIENTES, MÉXICO. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). ASyD 13: 151-168.

Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., y Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? Postharvest Biology and Technology, 52(2), 137–145.

Flores-Ruíz, M. N., Oyoque-Salcedo, G., Mena-Violante, H. y Angoa-Pérez, M. V. (2015) uso de extractos bacterianos para el control de *Botrytis cinerea* in vitro. Agricultura Sostenible. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible A.C. Colegio de Postgraduados. 1(1), 185-197.

Haidar, R., Fermaud, M., Calvo-Garrido, C., Roudet, J. y Deschamps, A. (2016). Modes of action for Biological control of *Botrytis cinerea* by antagonist bacteria. Phytopathology Mediterranean. 55 (3), 301−322.

Kiss, L., Holb, I. J., Rossi, V., Candle-Davidson, L., Jeger, J. M. (2016). Foreword : Special issue on fungal grapevine diseases Foreword : Special issue on fungal grapevine diseases. Eur J Plant Pathol 144:693–694.

Koike, S. T. y Bolda M. (2016). El moho gris, o pudrición de la fresa. Comisión de la fresa de California. Guía de producción 13, 1-6.

Parafati, L., Vitale, A., Restuccia, C. y Cirvilleri, G. (2015). Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinerea* causing post-harvest bunch rot of table grape. Food Microbiology. 47, 85–92.

Pertot I., Giovannini O., Benanchi M., Caffi T., Rossi V. y Mugnai L. (2017) Combining biocontrol agents with different mechanisms of action in a strategy to control Botrytis cinerea on grapevine. Crop Protection. XXX: 1-9.

Romanazzi, G., Smilanick, J. L., Feliziani, E. y Droby S. (2016) Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. Postharvest Biol Technol 113, 69-76.

SAGARPA (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) (2017) Uva mexicana. Planeación Agrícola nacional 2017-2030. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257085/Potencial-Uva.pdf (Consultado: 14 de julio de 2019).

SIACON-SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta- Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera) (2019) Módulo Agrícola del SIACON. Disponible en: https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430 (Consultado: 14 de julio de 2019).

Sivasakthi, S., Usharani, G., Saranraj, P. 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. African Journal of Agricultura Research 9, 1265-1277.

Remoción de cationes As^{3+}, utilizando un polisacárido producido por *Ustilago maydis*

José Luis Castro Martínez
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario,
Querétaro, Qro. C.P.76010
pepinwevon@gmail.com

José Antonio Cervantes Chávez
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Carretera a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños,
Querétaro, Qro. C.P.76140
cervanteschavez@gmail.com

Resumen — En este trabajo se trató de demostrar que es posible remover residuos de arsénico que contaminan mantos acuíferos, con la ayuda de un polisacárido producido por *U. maydis*. Debido al tiempo no fue posible realizar las pruebas de remoción con el polisacárido, se hizo el análisis utilizando agentes quelantes como el EDTA y el DACT, así como nanopartículas de oro y de plata. Los dos primeros no resultaron útiles para el experimento, pero se obtuvieron resultados positivos con la utilización de las nanoparticulas de oro y plata.

Palabras clave — Cationes, polisacáridos, adsorción.

Abstract — In this work it was tried to demonstrate that it is possible to remove arsenic residues that contaminate aquifers, with the help of a polysaccharide produced by U. maydis. Due to the time it was not possible to carry out the removal tests with the polysaccharide, the analysis was done using chelating agents such as EDTA and DACT, as well as gold and silver nanoparticles. The first two were not useful for the experiment, but positive results were obtained with the use of gold and silver nanoparticles.

Keywords — Cations, polysaccharides, adsorption.

I. INTRODUCCIÓN

Dado que el agua es la sustancia más indispensable para el desarrollo y sustento de la vida en nuestro planeta, es importante que esta no contenga sustancias que perjudiquen a los organismos que la consumen. Los metales pesados son un contaminante comúnmente presente en ella debido al desecho de estos de manera indiscriminada por actividades industriales.

El arsénico es un elemento natural que se encuentra en la tierra y resulta extremadamente toxico para el ser humano, La Norma Oficial Mexicana, PROY-127-SSA1-250-2007 establece que el límite máximo permisible de arsénico en agua es de 0.01 ppm en agua para uso y consumo humano. Los componentes del arsénico se usan para preservar la madera, como plaguicidas y en ciertas industrias [1].

Con el fin de disminuir la contaminación a causa de estas sustancias, es esencial el tratamiento de los efluentes industriales antes de ser vertidos, es por ello que actualmente se utilizan diferentes tecnologías y procesos para la eliminación de estos compuestos como lo son tratamientos biológicos, químicos y físicos. Dentro de los procesos físicos, se encuentra la adsorción que puede eliminar contaminantes como los metales pesados y ofrece muchas ventajas como su bajo costo de operación.

Ejemplos de sustancias utilizadas para procesos de adsorción son los agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y el ácido (1,2-ciclohexilendinitrilo) tetraacético monohidratado (DACT). Estos llamados secuestrantes de metales

pesados pueden retener iones metálicos formando complejos cíclicos debido a sus cargas y estructura, con la ventaja de que es un efecto reversible [2].

Las nanoparticulas de oro y plata también pueden ser utilizadas para llevar a cabo procesos de adsorción debido a que los metales pueden fijarse fácilmente a estas y forman complejos que facilitan la recuperación de estas, dado que se innovan continuamente métodos para sintetizar estas partículas, se considera que se ampliara su área de aplicación.

U. maydis es un hongo fitopatógeno perteneciente al orden Ustilaginales, este crece entre los granos del maíz y es ampliamente consumido en Mexico. Este produce distintos tipos de polisacáridos potencialemente útiles para procesos de adsorción.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la producción del polisacárido se llevó a cabo la siguiente metodología:

1. Se sembraron dos cepas de U. maydis, 325 y 330 (colección del laboratorio de microbiología molecular-UAQ) en dos matraces diferentes de 50mL, con 20mL de medio completo suplementado con 40 µL de ampicilina.

2. Se incubaron alrededor de 24 horas con una agitación de 150 rpm y a 28°C.

3. Luego de las 24 horas se observaron al microscopio para descartar una posible contaminación.

4. Se midió su densidad óptica en un espectrofotómetro UV/VIS a 600nm.

5. Se calculó el volumen necesario para que el medio final tuviera una densidad óptica de 0.05.

6. Se inocularon dos matraces por cada cepa con 653.5 mL de agua destilada, 46.5 mL de solución de sales inorgánicas, 2.25 g de nitrato de potasio, 7.5 g de glucosa, 45 mL de buffer de citrato pH 7 y al final con el volumen necesario de células para obtener una densidad óptica de 0.05.

7. Se incubaron por 40 horas a 150 rpm y 28°C.

8. Todo el medio se centrifugo a 10000 rpm por 8 minutos.

9. Se recuperó el sobrenadante y se disolvió en 500 mL de etanol frio al 96%.

10. Se mezcló y se incubo a 4°C por 24 horas.

11. El polisacárido suspendido en la solución de etanol se extrajo con ayuda de una pipeta Pasteur y se depositó en un tubo Falcon diferente para cada cepa.

12. El polisacárido se depositó en charolas de aluminio y se secó por 3 días a 50°C.

13. Se determinó el peso seco de este y se guardó en bolsas herméticas.

Para el análisis con agentes quelantes se llevó a cabo la siguiente metodología:

1. Se produjo una solución de trióxido de arsénico 100 ppm disolviéndolo en 10 mL de ácido clorhídrico para un volumen final de 60 mL con agua destilada.

2. Se realizaron 10 diluciones para tener concentraciones de 100 a 5 ppm.

3. La serie de soluciones se midió en el espectrofotómetro UV/VIS en un barrido

de 200 a 900 nm para comprobar si había una señal.

4. Se hizo una solución de DACT 100 ppm disolviendo 12.1575mg de este en 5 mL de solución de hidróxido de sodio 0.1 M y se aforo a 50 mL con agua destilada.

5. Se realizaron diluciones de la misma manera que la solución de arsénico para que estas se encontrara en una relación equimolar.

6. Se meclaron 1.5 mL de las soluciones de concentración homologa de arsénico y DACT.

7. Se midieron en espectrofotómetro todas las muestras de 200 a 900 nm.

8. Para el EDTA se siguió la misma metodologia hasta el paso 7 con la excepción de que para una concentracion de 100 ppm de EDTA se agregaron 12.4 mg.

Para el análisis con nanoparticulas se llevó a cabo la siguiente metodología:

1. 2.7 mL de cada dilución de la solución de arsénico se mezcló con 0.3mL de solución de nanopariculas de oro.

2. Todas las muestras se midieron en el espectrofotómetro de 200 a 900 nm a las 0, 2, 4 y 24 horas.

3. Se repitió el mismo proceso utilizando las nanoparticulas de plata.

*Debido a la falta de tiempo no fue posible analizar la capacidad de adsorción del arsénico por el polisacárido. *

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

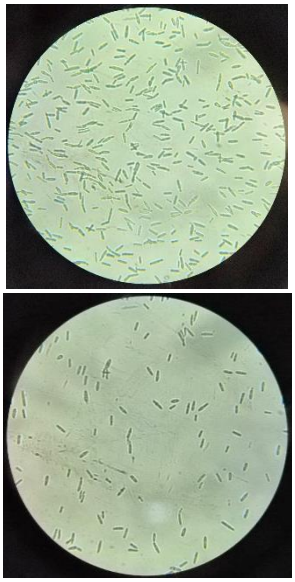


Figura 1. Cepa 330 y 325 al microscopio 40x

La contaminación se hace presente regularmente por la presencia de levaduras, que en muchos casos se puede llegar a confundir con *U. maydis*, en estos casos las diferentes cepas no se encuentran contaminadas.

El analisis con los agentes quelantes no genero resultados y esto puede deberse a que genaran complejos con mayor facilidad con cationes de carga 2+ y al trata formar complejos con cationes de carga 3+ se pueden generar impedimentos estructurales ya que ambas moleculas son muy grandes.

Otra expliacion puede ser que la solucion de trioxido de arsenico resulto con un pH muy bajo, de 1.2 lo que no resulta ideal para la actividad de los agentes quelates EDTA y DACT. Estas trabajan en un rango de pH de 3 a 6 por lo que se dificulto aun mas la posiblidad de formar complejos con el arsenico [2].

Las nanoparticulas de oro y plata si tuvieron una adsorcion significativa debido a que estas tiene un amplio espectro de compatibilidad que aumenta aun mas si a estas son fijados grupos funcionales o moleculas con caracteristicas especificas para retener cierto tipo de moleculas. La ventaja de estas es que se ha comprado que retienen las moleculas por un amplio rango de tiempo lo que permite recolectar los residuos y resutilizarlas.

IV. CONCLUSIONES

No se obtuvieron resultados positivos sobre la capacidad de remoción de cationes de arsénico presentes en el agua utilizando agentes quelantes como el EDTA y el DACT. Con las nanoparticulas se observó un mejor resultado, pero es necesario un estudio más a fondo para determinar si la implementación de nanoparticulas es viable para la remoción de cationes contaminantes del agua.

En una investigación posterior se debe determinar la capacidad de remoción del polisacárido para el catión de arsénico, ya que las otras dos alternativas no generaron información útil para determinar un estándar de adsorción.

V. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Autónoma de Querétaro, al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM (CFATA), así como a los asesores, el Dr. Jose Antonio Cervantes Chávez y el Dr. Ángel Ramón Hernández Martinez. Y al CONACyT por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

REFERENCIAS

[1] NOM-F-354-S-1980. (1980). Aceites Esenciales y Productos Aromáticos - Determinación de Metales Pesados. México, D. F.: Diario Oficial de la Federación.

[2] Krzek, J., Apola, A., Stolarczyk, M., & Rzeszutko, W. (2007). SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PB(II), FE(III) AND BI(III) IN COMPLEXES WITH 1,2 DIAMINOCYCLOHEXANE-N,N,Ní, NíTETRAACETIC ACID (DACT). Acta Poloniae Pharmaceutica .

Evaluación de coque como electrodo de CCM

Centeno Chávez David, del Angel Santiago Brenda, González Mendoza Marco Antonio, Reyes-Vidal Yolanda, Gracida Rodríguez Jorge
Contacto con el Dr Gracida Rodriguez: gracidaj@aol.com
Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n Col. Las Campanas, 76010 Querétaro, Querétaro, México
CIDETEQ, Parque Sanfandila s/n, Pedro Escobedo, 76703 Santiago de Querétaro, Qro.
lizeth_del_angel@hotmail.com, centenodavid98@gmail.com, gonzalez.mendoza.marco@gmail.com

Resumen

El desperdicio orgánico para la generación de electricidad en celdas de combustible microbiana son una alternativa parcial a la producción de electricidad basada en combustibles fósiles. Las CCM tienen un ánodo, donde se produce la bioelectricidad por microorganismos, en el cual se usa normalmente el carbono como electrodos, por sus propiedades fisicoquímicas, y un cátodo (aceptor de electrones). En este proyecto se pretende usar el nejayote como fuente de carbono para medio de cultivo de 10L y el coque como electrodo para celdas de combustible microbianas. Se variaron las condiciones iniciales con agitación en el ánodo a 60 rpm y aireación del cátodo con 1.0667 vvms, se midió el voltaje con un multímetro cerrando el circuito. Se lograron voltajes de hasta 723 mV en 250 horas siendo la aireación la mejor opción. Estos resultados fueron buenos comparados con experimentos realizados a menor escala donde no se obtuvieron valores mayores a 300 mV en 3L pero no son muy significativos comparados con la literatura. Concluyendo que por la degradación de los componentes orgánicos y el crecimiento celular el nejayote es una buena fuente de carbono para el crecimiento de microorganismos y el coque es un electrodo viable considerando su bajo costo.

Abstract

Organic waste for the generation of electricity in microbial fuel cells is a partial alternative to the production of electricity based on fossil fuels. The MCCs have an anode, where bioelectricity is produced by microorganisms, in which carbon is normally used as electrodes, because its physicochemical properties, and a cathode (electron acceptor). This project aims to use the nejayote as a carbon source for culture medium (10L) and coke as an electrode for microbial fuel cells. The initial conditions were varied with agitation in the anode at 60 rpm and aeration of the cathode with 1.0667 vvms, the voltage was measured with a multimeter closing the circuit.Voltages of up to 723 mV were achieved in 250 hours with aeration being the best option. Concluding that due to the degradation of organic components and cell growth, nejayote is a good source of carbon for microbial growth and coke is viable as an electrode considering its low cost.

Palabras clave

Coque, nejayote, bioelectricidad, CCM

Key words

Coke, nejayote, bioelectricity, MFC

Introducción

En los últimos 10-15 años, la tecnología de las celdas de combustible microbianas (CCM) ha capturado la atención de la comunidad científica debido a la posibilidad de transformar desperdicio orgánico directamente en electricidad a través de reacciones electroquímicas catódicas anódicas y microbianas / enzimáticas / abióticas catalizadas microbialmente (Santoro, Arbizzani, Erable & Ieropoulos, 2017). Las CCM son una posible vía a explorar, como una solución parcial para combatir la dependencia excesiva de la electricidad basada en combustibles fósiles. Las limitaciones han frenado el avance del desarrollo de las CCM, incluida la baja generación de energía, los costosos materiales de los electrodos y la incapacidad de

ampliar las CCM a capacidades relevantes para la industria (Slate, Whitehead, Brownson & Banks, 2019). Se han investigado con éxito varios compuestos orgánicos provenientes de diferentes tipos de aguas residuales municipales e industriales que muestran la viabilidad de CCM en la generación de energía y en la degradación simultánea de contaminantes, convirtiéndose así en una tecnología alternativa para limpiar el agua con un presupuesto de energía cero o positivo (Pandey et al., 2016). El diseño de dos cámaras de CCM o tipo H es un diseño muy utilizado, los dos compartimentos están separados por una membrana de intercambio de protones o un puente salino, las dos cámaras se denominan anódica y catódica. Los electrodos se colocan en cada una de las cámaras y estos deben de tener características como conductividad eléctrica, resistencia a la corrosión, área de superficie desarrollada, amigable con el medio ambiente y de bajo costo. Materiales basados en carbono y metálicos son los principales tipos de electrodos usados, estos materiales contienen todas las características mencionadas (Santoro et al., 2017).

El coque de petróleo es un subproducto de la refinación del petróleo y es muy abundante y de bajo costo. Es un material sólido negro generalmente compuesto de C: 91–99.5%, H: 0.035–4%, S: 0.5–8%, (N + O): 1.3–3.8% y el resto son metales. Debido a su bajo costo y gran área específica, el coque de petróleo puede considerarse como un material de cátodo de alto rendimiento y rentable. Aún hay poca información disponible sobre su aplicación en las CCM (Zhang, Liu, Li & Lu, 2015).

Se ha estimado que una planta procesadora de maíz, productora de nixtamal, con capacidad de 600 t·día-1, llega a generar entre 1,500 y 2,000 m3 de nejayote por día. Este efluente se considera contaminante debido a su pH alto (12 a 14) y su elevada carga de materia orgánica (2,540 mg·L-1). Debido a sus propiedades fisicoquímicas, rara vez se ha intentado darle alguna aplicación en concreto (). Los componentes que se encuentran presentes en el nejayote son sólidos suspendidos que oscilan entre los 2350 a 5500 mg/l, carbohidratos como glucosa, xilosa y arabinosa, así como cenizas, compuestos libres y glicosilados. El resto es material soluble formado principalmente por carbohidratos de diferentes longitud de cadena como son galactosa y manosa, compuestos fenólicos y sales de calcio (Manuela Maldonado, 2018).

El objetivo del presente estudio fue el diseño de una CCM con varias piezas de coque como electrodos, de bajo costo y fácil operación para generar voltaje a la par del aprovechamiento del nejayote como fuente de carbono.

Metodología

Medio de cultivo e inóculo

El medio utilizado en el ánodo contenía (g L^{-1}**):** NH_4Cl (3), KH_2PO_4 (6), Na_2HPO_4 (5) NaCl; además de 1 mmol L^{-1} $MgSO_4$, y 0.1 mmol L^{-1} $CaCl_2$, utilizando 20% de nejayote como fuente de carbono y se ajustó a pH 7 ± 0.5, en un volumen de 10 L. El nejayote crudo usado en este trabajo se recolectó en un molino de nixtamal “los ángeles”, municipio de Corregidora, Querétaro, México. Se almacenó en recipientes de acrílico y se mantuvo a 4 C en un congelador (Polar CHTS-25) hasta su uso. El inóculo se obtuvo de suelo fértil; de los jardines del Parque Biotecnológico de esta casa de estudios. Se cultivó en caldo nutritivo a 30 C por 24 h para el inóculo inicial, posteriormente se tomaba una muestra del experimento para la inoculación en el siguiente.

Se tomaron muestras del reactor en cada experimento para la caracterización visual de microorganismos cultivándolos en agar nutritivo a 37°C por 24 h.

Diseño del reactor H.

Para el diseño, en la cámara del cátodo se utilizó un recipiente de plástico con tapa y capacidad de 3.5 L. Para la cámara del ánodo se usó un recipiente cilíndrico abierto de acrílico sellado con silicon y capacidad de 14 L. Ambos contenedores fueron perforados a 7 cm de la base en forma circular con diámetro de 3.81cm y unidos mediante un puente salino que constaba de un tubo de Pvc sanitario de 3.81 cm de diámetro y 22 cm de

longitud. El tubo se llenó con algodón empapado de solución salina 1 M y en cada extremo una barrera de 20 mL de agar bacteriológico 20 g/L con 20 g/L de NaCl para permitir el paso de protones y evitar que se mezclara el contenido de las cámaras del ánodo y el cátodo.
En la cámara del cátodo se vertió 3 L de solución de NaCl 1M junto con 5 piezas de coque unidas por alambre de cobre de tal manera que convergieran en un solo punto. En la cámara del ánodo se vertieron 10 L de medio con el 5% de inóculo y 6 coques unidos de la misma forma que en el ánodo. Se mantuvo como un sistema abierto.

Condiciones
Se realizaron tres experimentos. El primero fue usado para tener condiciones iniciales y poder relacionar los resultados de las variaciones futura, se prepararon 7.5 L de medio, se adicionaron 2 L de nejayote y 0.5 L de inóculo, todo esto se dispuso en la cámara del ánodo y en el cátodo se colocó la solución salina. Al segundo experimento se le cambió la cantidad de inóculo en el medio de 5 a 10 % (v/v) así como agitación en la cámara del ánodo a 60 rpm. Para este experimento se reacomodaron los coques por la presencia del impulsor colocado en la parte del medio y los coques unidos en las paredes de la CCM. En el tercero se incluyó aireación (1.0667 vvm) con una bomba de aire (BOYU u9900) en la cámara del cátodo. Para la medición de resultados se utilizó un multímetro.

Resultados

Las placas que se inocularon en cada experimento del reactor contenían colonias redondas, lisas de bordes regulares y un color verdoso, además de presentar un halo verde transparente en el agar alrededor de donde se inoculó. En la figura 1 se observa como el experimento 3 a las 56 horas ha superado el máximo valor de voltaje obtenido en el experimento 2 (320.4 mV) a las 119 horas y en el experimento 1 (375 mV) a las 138 horas. La caída de generación de voltaje en los experimentos 1 y 2 aparece en un periodo de tiempo similar, a las 140 horas aproximadamente para ambos, y menor que el experimento 3 donde se observa la caída de voltaje hasta las 250 horas. La mayor cantidad de voltaje alcanzado fue de 723 mV en el experimento 3. Al término de cada experimento la cámara catòdica presentaba turbidez y coloración azul,

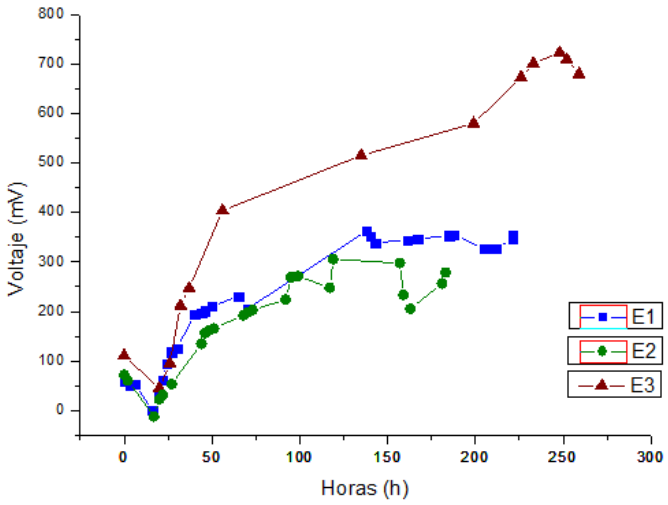


Figura 1. Voltaje obtenido a diferentes horas. El experimento 1 (E1) fueron las condiciones iniciales, el experimento 2 (E2) fueron las condiciones iniciales más la agitación en el ánodo y el experimento 3 (E3) son las condiciones iniciales más el aireado en el cátodo.

Discusión

El notable incremento en el voltaje generado en el experimento 3 se debe a la concentración del oxígeno en el cátodo que actúa como el aceptor de los electrones generados en el ánodo, es bien sabido que la reaccion de reduccion de oxigeno es la reacción limitante de las CCM, esta reacción se puede facilitar mediante el uso de enzimas, microorganismos o catalizadores abióticos (Santoro et al., 2017) pero en nuestro estudio no utilizamos ningún tipo de catalizador. Aunque los resultados obtenidos no son tan altos en comparación a otros estudios realizados con coque como electrodo, Zhang et al (2015) obtuvo voltajes parecidos (664.7 mV) con la diferencia de que la CCM era de una sola cámara, su fuente de carbono y volumen. Este es uno de los principales problemas con las CCM, es complicado lograr buenos resultados una vez que se aumenta el

volumen incluso si aumentas el área de superficie de los electrodos.
Al terminar el experimento, el medio con nejayote, de color inicial amarillo, se torna de color gris que se interpretó como la degradación por parte del consorcio de microorganismos de los compuestos orgánicos como por ejemplo el endospermo y el pericarpio que se desprenden del grano de maíz durante la nixtamalización (Tellez V. 2018) por lo que se pudo concluir que el nejayote en concentración de 20% en este medio de cultivo sirve como fuente de carbono para los microorganismo que se desarrollaron en la celda de combustible microbiana.

Se cree que parte del consorcio podría tratarse del género *Pseudomonas* (datos por confirmar) debido a que varias especies de estos microorganismos son característicos por presentar una coloración verdosa por la producción de un pigmento verde llamado pioverdina, lo cual fue el caso del reactor que conforme transcurrió el experimento pasó de un amarillo intenso, color que le confirió el nejayote, a un tono verdoso casi grisáceo al final de cada prueba, además de presentar la formación de un velo en la superficie el cual puede indicar positivo a la presencia de *Pseudomonas* (Abanto S., Terrones S., & Bardales J., 2017).

Conclusión

Fue posible alcanzar un voltaje máximo de 723 mV cuando al reactor tipo H se le agregó aireación a la cámara catódica. Además de demostrar la capacidad del coque para ser un electrodo que podría ser viable y de bajo costo pero aún falta más investigación por realizarse, todo esto con la ventaja de que el consorcio de microorganismos aprovechó los sólidos del nejayote como fuente de carbono.

Referencias bibliográficas

Abanto S., Terrones S., & Bardales J. (2017, January 2). DETERMINACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DEL LIXIVIADO DE Allium sativum L. "AJO" SOBRE Pseudomonas aeruginosa Y SU COMPARACIÓN CON SULFADIAZINA DE PLATA IN VITRO. . *PERSPECTIVA*, *17*, 453–465.

Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B. and Ieropoulos, I. (2017). Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. Journal of Power Sources, [online] 356, pp.225-244. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378775317304159 [Consultado 8 Sep. 2019].

Slate, A., Whitehead, K., Brownson, D., & Banks, C. (2019). Microbial fuel cells: An overview of current technology. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, *101*, 60. doi: 10.1016/j.rser.2018.09.044

Pandey, P., Shinde, V., Deopurkar, R., Kale, S., Patil, S., & Pant, D. (2016). Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. *Applied Energy*, *168*, 706-723. doi: 10.1016/j.apenergy.2016.01.056

Tellez, V., López, J., Aragón, A., Zayas, M., (2018). Lodos residuales de nejayote como sustratos para la germinación de semillas de maíz criollo. *Revista internacional de contaminación ambiental*

Zhang, P., Liu, X., Li, K., & Lu, Y. (2015). Heteroatom-doped highly porous carbon derived from petroleum coke as efficient cathode catalyst for microbial fuel cells. *International Journal Of Hydrogen Energy*, *40*(39), 13530-13537. doi: 10.1016/j.ijhydene.2015.08.025

Manuela Maldonado, I. (2018). Efluentes de la industria nixtamalera como sustrato en celdas electroquímicas microbianas (Licenciatura). CIDETEQ.

“Extracción y estabilidad de pigmentos de cálices de Jamaica”

Alexandro Escobar Ortiz[a1], Ricardo Andres Segovia Ochoa[a2], Rosalía Reynoso Camacho[a3].

[a] Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química

[1]alexandro.escobarortiz@outlook.com

[2] ricardo.segovia.22.08@gmail.com

[3]rrcamachomx@yahoo.com.mx

Resumen

La industria de colorantes alimentarios ha crecido de manera importante en los últimos años, especialmente en el segmento de colorantes o pigmentos naturales para alimentos. Sin embargo, una de las principales desventajas que reportan estos pigmentos es su bajo rendimiento de extracción y su baja estabilidad en el almacenamiento, por otro lado, se ha demostrado que las antocianinas pueden estabilizarse, a través de la adición de copigmentos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue extraer y caracterizar los pigmentos obtenidos de cálices de Jamaica y mejorar su estabilidad térmica mediante la adición de copigmentos. Se encontró que la extracción con una relación sólido-solvente de 1: 8, 20% de etanol, 1 hora de extracción y 2% de ácido fueron los factores más significativos para mejorar el rendimiento de la extracción. En cuanto a la extracción con 80% de etanol y 0,5% de ácido, fueron los factores de extracción fueron más importantes para reducir el porcentaje de antocianinas que se degradaban después de 5 horas de almacenamiento a 80 ° C. La adición de ácido gálico mostró un fuerte efecto hipercrómico aumentando la absorbancia máxima en un 49%, además la adición de ácido gálico disminuyó en un 50% el índice de pardeamiento y aumentó la absorbancia máxima en un 97% después de 8 horas de almacenamiento a 80 ° C. La adición de ácido gálico muestra un efecto estabilizador en los pigmentos extraídos de Jamaica.

Abstrac

The industry of food colorant has been growing in the last years, specialty the use of food natural colorant or pigments, has increased in foods and beverages in the last years. However, one of the main disadvantages that report this pigment is their low yield of extraction and their low stability in the storage, on the other hand, has been show that anthocyanin, can be stabilized, trough the addition of copigment compounds. Therefore, the objective of this work was extracted and characterized pigments obtained of calyces of roselle and improve its thermal stability trough the addition of copigments. Finding that the extraction with 1:8 solid-solvent ratio, 20 % of ethanol,1 hour of extraction and 2 % of acid was the factors more significant for improve the yield of extraction. In so far as the extraction with 80 % of ethanol and 0.5 % of acid, was the factors of extraction more important for reduce the percentage of anthocyanin that degraded after 5 hours of being stored at 80 °C. The addition of gallic acid showed a strong hyperchromic effect increasing the maximum absorbance a 49%, moreover the addition of gallic acid decreased a 50% the browning index and increased the maximum absorbance a 97% after 8 hours of being stored at 80 °C. The addition of gallic acid showing a stabilizing effect in the pigments extracted of hibiscus sabdariffa.

Palabras clave: Antocianina, Jamaica, colorantes, estabilidad, copigmentación, ácido gálico.

Key words: Anthocyanin, roselle, colorant, stability, copigmentation, gallic acid.

Introducción

El mercado mundial de los colorantes alimentarios es un mercado en constante crecimiento con un 10 a un 15% anual (IFT, 2016), de estos, el segmento de los colorantes alimentarios naturales o pigmentos ha cobrado especial importancia en los últimos años. Esta tendencia es consecuencia de los efectos negativos a los que se les ha relacionado al consumo de colorantes sintéticos, entre los que destaca la hiperactividad, efectos mutagénicos y reacciones alérgicas, aunque estos efectos sólo son causados en dosis que regularmente no alcanza un consumidor promedio (Cortez *et al.,* 2017). Por otro lado, la tendencia del consumidor es buscar productos con "etiquetas limpias", es decir libres de colorantes sintéticos, muestra de ello es que, de acuerdo a un estudio realizado por Mintel en 2017, 77% de los nuevos productos lanzados en Latinoamérica utilizan color de origen natural (Sensient food colors, 2018).

Adicionalmente, el aumento del uso de colorantes naturales está relacionado a los efectos positivos a la salud que dichos compuestos tienen; sin embargo, estos colorantes tienen limitaciones debido a su poca estabilidad comparada con los colorantes sintéticos. Por otro lado, existen muy pocas opciones de pigmentos alimentarios rojos (Rodríguez-Amaya, 2015). De acuerdo a una encuesta publicada por la empresa DDW, realizada a tecnólogos de alimentos, el color rojo es el colorante natural más difícil de aplicar, debido a las limitadas opciones disponibles en el mercado. Una de las opciones en el mercado de colorante natural rojo es el carmín o rojo de cochinilla, este se ha utilizado de manera amplia debido a su alta estabilidad al pH y temperaturas altas; sin embargo, la tendencia es sustituir su uso por otros colorantes debido a que este no puede ser certificado como Kosher, además es potencialmente alérgeno (Müller-Maatsch & Gras 2016).

Por otro lado, las antocianinas son un grupo de pigmentos rojos distribuidos ampliamente en el reino vegetal, a estos pigmentos les ha atribuido numerosos efectos biológicos positivos, como efecto antioxidante y potencial para disminuir algunas enfermedades como diabetes y obesidad (Kim *et al*., 2015). Además, existen algunos compuestos llamados copigmentadores, los cuales se han demostrado que, al adicionarlos a una solución con antocianinas, estos pueden aumentar la estabilidad de las antocianinas por algunas interacciones con el copigmentador (Cortez *et al*., 2017).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es extraer pigmentos rojos estables, a partir de Jamaica y adicionar copigmentadores para mejorar la estabilidad.

Metodología

Los pigmentos se extrajeron a partir de cálices de Jamaica, variedad "morada jersey puebla" obtenida por el INIFAP, los calices deshidratados, fueron molidos y se homogenizo su tamaño de partícula < 425 µm, pasándolos por un tamiz malla #40, posteriormente la harina de Jamaica se almaceno a -20°C hasta su utilización

Condiciones de extracción sólido- líquido (ESL) de pigmentos rojos

Tabla 1: Condiciones de extracción sólido-líquido (ESL) empleadas para obtener pigmentos de Jamaica

A	B (°C)	C	D	E (min)	F	G
ESL 1	35	Acético	0.5	15	1:8	80:20
ESL 2	75	Cítrico	2.0	15	1:8	80:20
ESL 3	35	Cítrico	0.5	60	1:8	20:80
ESL 4	75	Acético	0.5	60	1:3	80:20
ESL 5	75	Cítrico	0.5	15	1:3	20:80
ESL 6	35	Cítrico	2.0	60	1:3	80:20
ESL 7	75	Acético	2.0	60	1:8	20:80
ESL 8	35	Acético	2.0	15	1:8	20:80

A: Tratamiento, B: Temperatura, C:Ácido, D: Porcentaje de ácido, E: Tiempo de extracción, F: Proporción sólido: solvente, G: Agua: Etanol

El diseño y las condiciones de extracción se muestra en la tabla 1, donde se aplicó un diseño factorial fraccionado 2^{6-3}, el cual nos permitió evaluar 6 diferentes factores de extracción en dos niveles, realizando solo 8 tratamientos, en lugar de 64, lo anterior fue posible al fraccionar el diseño 3 veces. Los 6 factores utilizados y sus niveles fueron temperatura (35 y 75 °C), tipo de ácido (acético y

cítrico, porcentaje de ácido (0.5 y 2.0), tiempo de extracción (15 y 60 min), proporción sólido: solvente (1:8 y 1:3) y solvente Agua: Etanol (80:20) y (20:80). Los solventes y ácidos que se eligieron fueron elegidos porque son permitidos por el codex "norma general para los aditivos alimentarios" permitiendo generar pigmentos libres de solventes y ácidos no permitidos en alimentos.

Para realizar la extracción, se colocó la Jamaica molida en tubos para centrifuga de 15 mL, posteriormente se adiciono el solvente y el ácido de acuerdo al tratamiento como se especifica en la tabla 1. Las muestras posteriormente se homogenizaron en un vortex durante 15 segundos y se colocaron en un termobaño a una agitación de 120 RPM, a la temperatura y tiempos especificados en el tratamiento de acuerdo a la tabla 1, al finalizar el tiempo de extracción se centrifugaron a 10,000 RPM por 5 minutos. Se recupero el sobrenadante el cual se ajustó a una concentración de antocianinas de 22.5 mg/L en una solución amortiguadora de acetato de sodio pH 3.

Al finalizar el proceso de extracción se determinó el rendimiento de extracción de antocianinas totales monoméricas, Posteriormente se realizó un estudio de estabilidad acelerada a 80 °C durante 5 horas.

Determinación de antocianinas monoméricas.

El contenido de antocianinas totales de los pigmentos rojos se realizó con el método diferencial de pH descrito por Morales-Luna *et al*., (2019).

Estabilidad térmica y estabilidad al almacenamiento de pigmentos rojos de Jamaica.

Para determinar qué condiciones de extracción permiten obtener pigmentos rojos más estables se elaboró un modelaje, en el cual los extractos tanto de los procesos de ESL, fueron diluidos a concentraciones de antocianinas de 22.5 mg/mL en soluciones amortiguadoras a pH 3 que se elaboraron a partir de una solución 0.025 M de cloruro de potasio. El sistema fue ajustado con HCl concentrado o con NaOH al 10 % antes del ajuste del volumen final. Las concentraciones de antocianinas fueron expresadas como eq de cianidina- 3-O-sambubiosido, basado en el método de pH diferencial.

Para realizar las pruebas de estabilidad 2 mL de cada muestra se colocó en tubos eppendorf cerrados color ámbar y se almacenaron a 80 °C durante 5 horas, haciéndose un muestreo a las 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas, a todas las muestras se les determino antocianinas monoméricas e índice de pardeamiento durante el tiempo de almacenamiento.

Se elaboró un modelaje de las cinéticas de degradación de antocianinas con la ecuación (1) que presentan Guan y Zhong, (2015) basadas en cinéticas de degradación de primer orden. La vida media ($t_{1/2}$) es el tiempo necesario para disminuir la concentración de antocianinas a la mitad de la concentración inicial y será calculada con la ecuación (2).

$$Ct = Co^{-Kt} \quad (1)$$

$$t_{\frac{1}{2}} = -\ln(2)/K \quad (2)$$

Donde C_0 y C_t son las concentraciones antes y después de ser sometidas al tratamiento térmico a 80 °C para una duración a t (hora) y K es la constante de degradación a las temperaturas mencionadas.

Adición de copigmentadores.

Por último, al pigmento que mostro una mayor estabilidad, se le adiciono diferentes porcentajes de ácido gálico para evaluar su efecto como copigmentador en los pigmentos de Jamaica. Las concentraciones evaluadas fueron (0.5, 1, y 1.5 %) posteriormente se evaluó la estabilidad de los complejos pigmento-copigmento a 80 °C durante 8 horas, monitoreando la degradación de la absorbancia y el incremento del índice de pardeamiento.

Análisis estadístico.

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto de los factores de extracción y pruebas de tukey para comparar medias. Todos los análisis se realizaron en el software R.

Resultados y discusión

Eficiencia de extracción de antocianinas

La extracción sólido-líquido (ESL) es un método clásico para recuperar antocianinas de tejidos vegetales, generalmente usándose solventes polares acidificados, ya que estos permiten una mejor difusión de las antocianinas (Silva *et al.,* 2015). Se han reportado varios parámetros que afectan la eficiencia de extracción de antocianinas, siendo los más comunes el solvente y la temperatura, así como, tiempo de extracción y relación sólido: solvente (Silva *et al.,* 2015). Por lo que existe una necesidad de ajustar los protocolos de extracción de antocianinas a cada tejido vegetal.

Sipahli et al. (2017) utilizó diferentes solventes y ácidos para realizar la extracción de antocianinas de Jamaica, y reportó que diferentes solventes acidificados lograban una mejor eficiencia de extracción. Por lo tanto, todos los sistemas de extracción utilizados en este estudio fueron acidificados. Y como primera etapa se evaluó el efecto que tienen los diferentes tratamientos sobre la eficiencia de extracción de pigmentos de jamaica, determinando la concentración de antocianinas totales monoméricas. En la Figura 1 se observa que los tratamientos ESL2 y ESL7 fueron los que mostraron la mayor eficiencia de extracción, mientras que, los tratamientos ESL5 y ESL8 presentaron los valores más bajos, con una diferencia del 38% entre estos tratamientos.

El rango de eficiencia de extracción de antocianinas fue de 1.1-1.7 g/100 g de peso seco. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), para determinar el impacto que tienen los factores sobre la eficiencia de extracción, y aquellos que tuvieron un mayor efecto, por orden de importancia, fueron: sólido:solvente, solvente, tiempo de extracción y porcentaje de ácido.

Las regiones experimentales de los factores que permiten aumentar la eficiencia de extracción, se presentan en la Figura 2, en la que se muestran los 4 factores que tuvieron más relevancia en la eficiencia de extracción en sus dos respectivos niveles. En cuanto a la proporción sólido: solvente, la mayor eficiencia de extracción se obtuvo usando la relación 1:8 (jamaica:solvente).

En cuanto al solvente se obtuvo una mayor eficiencia de extracción usando un solvente con 80% agua y 20% etanol. La relación agua: disolvente orgánico también es una variable interesante a tener en cuenta, ya que varía con el disolvente y la composición del tejido de extracción.

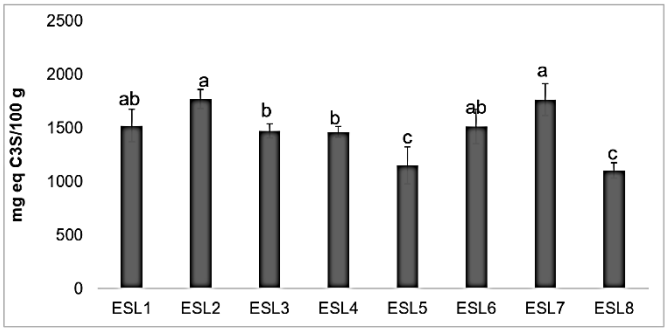


Figura 1. Efecto de las mezclas sólido líquido, sobre la eficiencia de extracción de antocianinas totales monoméricas de jamaica. C3s: Cianidina 3-O-Sambubiosido. Los datos expresados corresponden a 3 repeticiones ± desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$). Por la prueba de tukey.

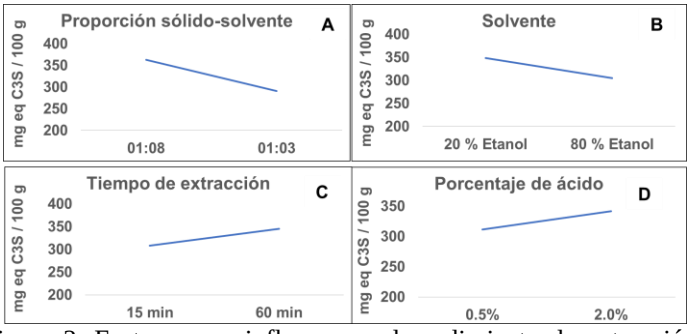


Figura 2. Factores que influyen en el rendimiento de extracción de antocianinas de jamaica. A: proporción sólido solvente. B: Solvente. C: tiempo de extracción. D: porcentaje de ácido. C3S: Cianidina 3-O-Sambubiosido.

En cuanto al tiempo de extracción, tiende a variar de acuerdo con otras condiciones de extracción, como las características del solvente y la temperatura de extracción. De acuerdo a la Figura 2C mayores eficiencias se lograron en tiempos de extracción de 60 minutos. Para el porcentaje de ácido, mayores eficiencias de extracción se obtuvieron usando un 2% (Figura 2D).

Degradación de pigmentos obtenidos de jamaica

En la mayoría de los trabajos realizados hasta el momento el principal interés es buscar las mejores condiciones para una mayor eficiencia de extracción, sin embargo, también se requiere buscar las condiciones optimas de mayor estabilidad de dichos pigmentos ya que las antocianinas son compuestos sensibles a cambios en la temperatura, pH, luz, oxígeno y metales (Gordillo *et al.*, 2018). Por otro lado, la estabilización de antocianinas sigue siendo un importante desafío para la industria de los colorantes de alimentos (Cortez *et al.*, 2018).

Para evaluar la estabilidad de los pigmentos de jamaica, los pigmentos se ajustaron a una concentración de 22.5 mg/L de antocianinas y a pH 3, y se sometieron a degradación térmica acelerada a 80 °C durante 5 horas.

La cinética de degradación de antocianinas se modelo de acuerdo a una cinética de degradación de primer orden, tal y como lo describen Chung *et al.*, *(*2016). Las curvas de degradación se muestran en la Figura 3, donde se puede apreciar que el tratamiento que muestra una línea menos pronunciada, es el tratamiento ESL3. Con las cinética de degradación se calculo K (constante de degradación) y $t_{½}$ (tiempo de degradación de las antocianinas a la mitad de su concentración inicial) datos que se muestran en la Tabla 2.

En cuanto al $t_{½}$ de las antocianinas los tratamientos que muestran un mayor valor, que significa, pigmentos mas estables, son los tratamientos ESL3, ESL5 y ESL8. Es importante mencionar que ninguno de estos tratamientos fueron los que mostraban una mayor eficiencia de extracción (Figura 1). Por otro

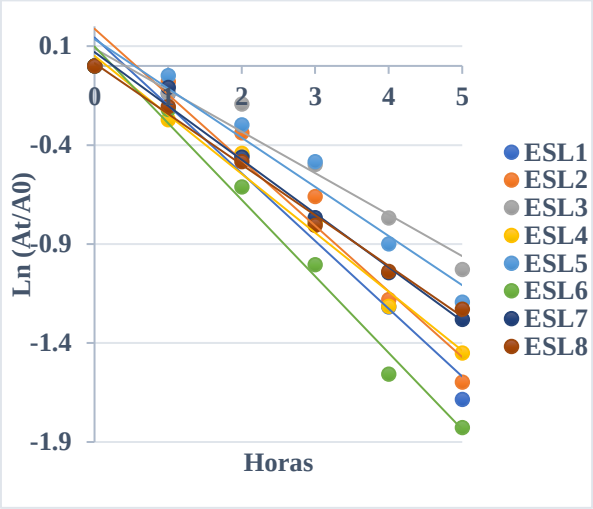


Figura 1. Curvas de degradación de primer orden, para el contenido de antocianinas (A) de pigmentos a pH 3, 5 horas a 80 °C.

lado los tratamientos que mostraron un $t_{½}$ menor fueron los tratamientos ESL6, seguidos de ESL1 y ESL2, los tratamientos como ESL2 y ESL1 mostraron una alta eficiencia de extracción (Figura 1). Por lo tanto no siempre escoger un sistema de extracción que genere altas eficiencias de extracción, va a generar los pigmentos más estables.

Se monitoreo el índice de pardeamiento que es un coeficiente entre la medición de la absorbancia a 520 nm, que representa el pico de absorbancia del color rojo y la absorbancia a 430 n que representa el pico de absorbancia del color café, por lo tanto, este índice representa la degradación de las antocianinas que en su forma de catión flavilio, predomina la coloración

roja, que mediante ataques nucleofílicos se rompe el enlace del carbono 2 del anillo C, formándose estructuras de chalconas, las cuales tienen una coloración predominantemente café.

En cuanto al índice de pardeamiento, se midió cada hora, durante 5 horas después de someter los pigmentos a 80 °C. Los resultados se muestran en la Figura 4, y los tratamientos que mostraban un mayor índice de pardeamiento fueron los tratamientos ESL6, seguido de ESL 4 y ESL 1, por otro lado los tratamientos que muestran un menor índice de

pardeamiento fueron ESL3, ESL5 y ESL8 coincidiendo con los resultados mostrados en la Tabla 2.

En cuanto al porcentaje de antocianinas que se degradaron después de ser sometidas a 80 °C los tratamientos que mostraron un mayor porcentaje de degradación fueron ESL2, ESL1 y ESL6, es importante mencionar que el tratamiento ESL2 fue el de mayor eficiencia de extracción presentó, sin embargo, fue también el tratamiento más inestable, por otro lado, el tratamiento con menor porcentaje de degradación fue ESL3, con un 40 % de disminución del porcentaje de degradación, comparado con el tratamiento que mostro una mayor degradación, ESL2 (Figura 5).

Tabla 2. Constante de degradación, y vida media de antocianinas de extractos obtenidos de jamaica a pH 3 y almacenados a 80 °C durante 5 horas

Tratamiento	k	$t_{1/2}$ (horas)	R^2
ESL1	**0.343**	**2.023**	**0.974**
ESL2	**0.332**	**2.090**	**0.952**
ESL3	**0.210**	**3.304**	**0.958**
ESL4	**0.298**	**2.328**	**0.986**
ESL5	**0.249**	**2.788**	**0.954**
ESL6	**0.387**	**1.792**	**0.987**
ESL7	**0.272**	**2.551**	**0.989**
ESL8	**0.256**	**2.708**	**0.994**

Para determinar los factores tuvieron una mayor relevancia en la estabilidad de los pigmentos se realizó un análisis de varianza (ANOVA), donde se encontró que los factores mas relevantes en la estabilidad de los pigmentos son solvente y porcentaje de ácido. También se realizó un análisis de interacciones para determinar cuales fueron los niveles de los factores que pueden incrementar la estabilidad de los pigmentos extraídos, donde de acuerdo a la Figura 6, el factor de extracción solvente, las extracciones realizadas con 80 % etanol, tuvieron un 20% de reducción de la degradación de antocianinas comparadas con las extracciones mayoritariamente acuosas, una posible explicación para este fenómeno podría se que al realizar la extracción con un solvente menos polar que el agua, como el etanol, podría acarrear compuestos menos polares los cuales, pueden generar el efecto de copigmentación intermolecular, el cual mejora la estabilidad térmica de las antocianinas (Gordillo *et al.*, 2019).

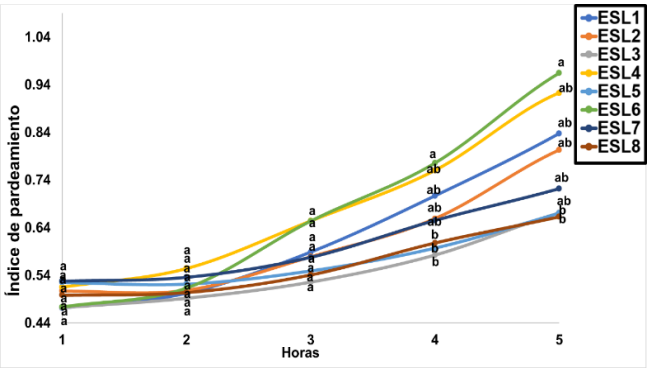


Figura 4. Índice de pardeamiento de pigmentos obtenidos de jamaica al ser sometidos a 80 °C durante 5 horas.

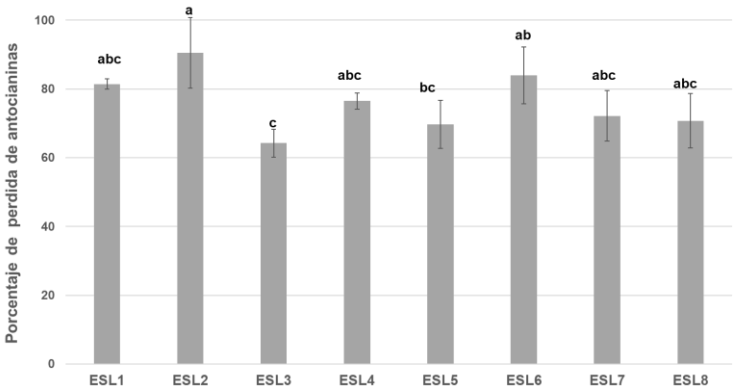


Figura 5. Efecto de los tratamientos en el porcentaje de degradación de antocianinas después de ser sometidas a 80 °C durante 5 horas. Los datos expresados corresponden a 3 repeticiones ± desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$). Por la prueba de tukey.

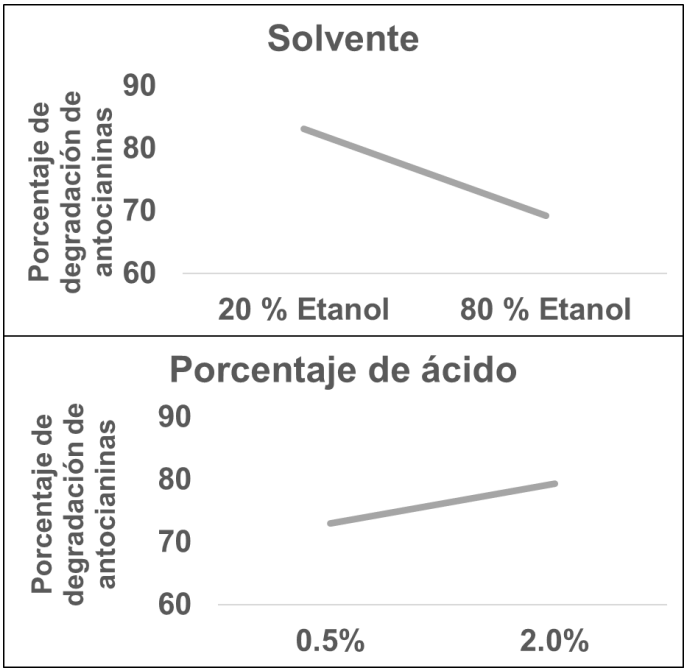


Figura 6. Factores de extracción que afectan la estabilidad térmica de antocianinas de jamaica

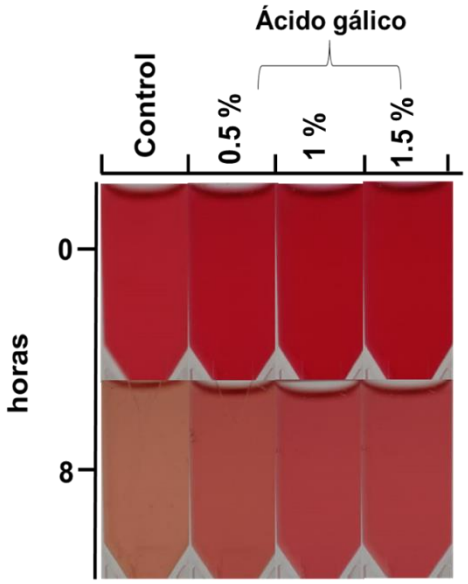


Figura 7. Efecto de la adición de ácido gálico en la estabilidad de pigmentos de jamaica sometidos a 80 °C durante 8 horas.

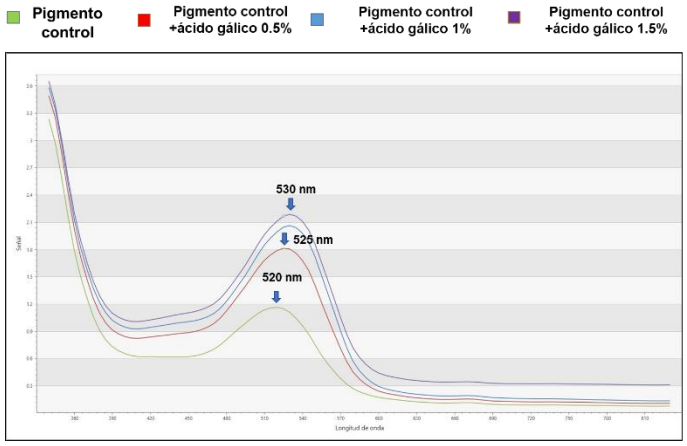


Figura 8. Efecto batocrómico e hipercrómico al adicionar ácido gálico a pigmentos de jamaica

Por otro lado, en cuanto al porcentaje de ácido, los extractos con 0.5 % de ácido se degradaron un 9.7% menos que los tratamientos realizados con 2 % de ácido, esto se puede explicar, ya que tratamientos realizados con altas concentraciones de ácido pueden hidrolizar el enlace glucosídico de las antocianinas, incrementando su degradación (Silva *et al.*, 2015).

Adición de copigmentadores para incrementar la estabilidad de pigmentos de jamaica

En otra etapa del proyecto se evaluó el efecto de copigmentadores para incrementar la estabilidad de los pigmentos obtenidos de jamaica, En la Figura 7 se muestra que diferentes concentraciones de ácido gálico disminuye la degradación de la coloración roja de las antocianinas sometida a una degradación acelerada a 80 °C, presentándose un comportamiento concentración dependiente, esto se podría explicar, ya que al adiciones un compuesto fenólico con sistemas pi deslocalizados, estos pueden tener reacciones con las antocianinas tipo apilamiento pi-pi lo cual puede proteger a las antocianinas de manera estructural, incrementando su coloración y aumentando su estabilidad (Trouillas *et al.*, 2016).

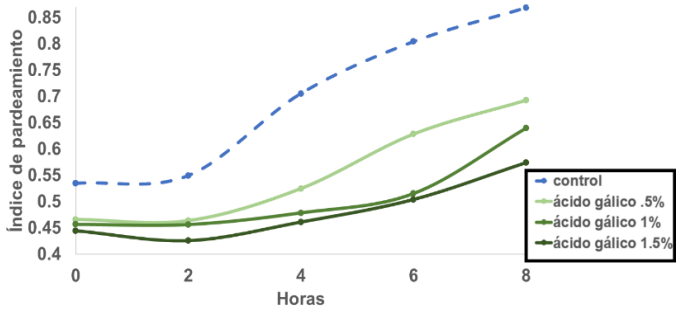


Figura 9. Índice de pardeamiento de extractos de jamaica, adicionados con ácido gálico a diferentes concentraciones sometidos a 80 °C (pH 3) durante 8 horas.

En la Figura 8 se observa que la adición de acido gálico presenta un fuerte efecto hipercrómico, ya que al adicionar este compuesto a los pigmentos de jamaica se incrementa la absorbancia máxima hasta en un 49 %, lo cual es de ventaja tecnológica, ya que significa que con menos concentración de pigmentos copigmentados pueden generar la misma intensidad de color con pigmentos sin copigmentar, además se puede apreciar un ligero efecto batocrómico, ya que con la adición de este compuesto el pico máximo de la absorbancia de 520 nm se presenta a 530 nm. Lo que indica que estos dos compuestos presentan interacciones (Trouillas *et al.*, 2016).

La adición de ácido gálico disminuye el índice de pardeamiento, hasta un 30 % indicando que la adición del copigmento estabiliza a las antocianinas (Figura 9).

Conclusiones

1. El método de extracción que genero unos mayores rendimientos no mostro una mejor estabilidad.
2. La proporción sólido solvente, es el factor que más influye en el rendimiento de extracción de antocianinas de Jamaica, mientras que para la estabilidad, el solvente tiene un mayor efecto, la mayor estabilidad se observó a mayores concentraciones de etanol.
3. La adición de ácido gálico incrementa la estabilidad de los pigmentos de Jamaica a pH 3 de manera dosis dependiente, mantiene el color y disminuye el índice de pardeamiento.
4. La adición de ácido gálico genera un efecto hipercrómico y batocromico.

Referencias

Chung C., Rojanasasithara T., Mutilangi W., & McClements, D. J. (2016). Enhancement of colour stability of anthocyanins in model beverages by gum arabic addition. Food Chemistry, 201, 14–22.

Cortez R., Luna-Vital D. A., Margulis D., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 16, 180–198.

Gordillo B., Sigurdson T., Lao F., González-Miret L., Heredia J., & Giusti M. (2018). Assessment of the color modulation and stability of naturally copigmented anthocyanin-grape colorants with different levels of purification. Food Research International, 106 791–799.

Guan Y., & Zhong Q. (2015). The improved thermal stability of anthocyanins at pH 5.0 by gum arabic. Food Science and Technology, 64, 706-712

Institute of Food Technologists. (2016). Coloring Foods & Beverages. Revisado en mayo 6 del 2018.Tomado de https://www.ift.org/

Kim J., Kim C., Lee Y., Sohn E., Jo K., & Kim J. (2015). Vaccinium myrtillus extract prevents or delays the onset of diabetes induced blood retinal barrier breakdown. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 66, 236–242.

Morales-Luna, E., Pérez-Ramírez, I. F., Salgado, L. M., Castaño-Tostado, E., Gómez-Aldapa, C. A., & Reynoso-Camacho, R. (2019).

The main beneficial effect of roselle (Hibiscus sabdariffa) on obesity is not only related to its anthocyanin content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(2), 596-605.

Rodriguez-Amaya D., (2015). Natural food pigments and colorants. Current Opinion in Food Science, 7, 20–26.

Sensient food colors (Mayo, 2018). ¿Los colores naturales son realmente menos estables que los colores artificiales? Revisado septiembre 20 del 2018, tomado de https://sensientfoodcolors.com/es-la/id/los-colores-naturales-son-realmente-menos-estables-que-los-colores-artificiales/

Silva, S., Costa, E. M., Calhau, C., Morais, R. M., & Pintado, M. E. (2015). Anthocyanin extraction from plant tissues: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57, 3072–3083.

Sipahli, S., Mohanlall, V., & Mellem, J. J. (2017). Stability and degradation kinetics of crude anthocyanin extracts from H. sabdariffa. Food Science and Technology, 37(2), 209-215.

Trouillas P., Sancho-García J., De Freitas V., Gierschner J., Otyepka M., & Dangles O. (2016). Stabilizing and Modulating Color by Copigmentation: Insights from Theory and Experiment. Chemical Reviews, 116, 4937–4982.

Müller-Maatsch, J., & Gras, C. (2016). The “Carmine Problem” and potential alternatives. In Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages (pp. 385-428). Woodhead Publishing.

Evaluación extractiva del aceite de soya para recuperar naproxeno mediante ELL

González-Cervantes D.L.[1] & Razo-Lazcano T.A.[2]

[1] Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, Santiago de Querétaro, Qro. dianagonzalezcrv@gmal.com
[2] Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química, Cerro de la Venada S/N, Colonia Pueblito de Rocha, Guanajuato, Gto. teresarazo@ugto.mx

Resumen — La presencia de fármacos en el medio ambiente es una preocupación creciente para los científicos y la población en general. Así, este trabajo propone emplear la técnica de extracción líquido-líquido, usando como fase orgánica un diluyente de origen natural (aceite de soya), para la recuperación de naproxeno presente en aguas residuales. Se estudió la influencia del valor de pH, así como las cinéticas de extracción y desextracción. Los resultados muestran que la extracción fue completa usando como fase acuosa naproxeno en solución a pH 5.2 en un tiempo de 1 minuto. Mientras que porcentajes de desextracción de alrededor del 90% fueron obtenidos a los 20 minutos de contacto de las fases, utilizando $NaHCO_3$ 0.1M como fase de desextracción.

Palabras clave — Naproxeno, Extracción líquido-líquido, Desextracción.

Abstract — The presence of drugs in the environment is a growing concern for scientists and the general population. Thus, this work proposes utilizing the liquid-liquid extraction technique for the recovery of naproxen present in wastewater, using a diluent of natural origin (soybean oil) as the organic phase. The influence of the pH value was studied, as well as the extraction and stripping kinetics. The results shown that the extraction was complete using as the aqueous phase naproxen in solution at pH 5.2 in a time of 1 minute. While stripping percentages of around 90% were obtained after 20 minutes phase contact, using 0.1M $NaHCO_3$ as the stripping phase.

Keywords — Naproxen, Liquid-Liquid Extraction, Stripping.

I. INTRODUCCIÓN

Los productos farmacéuticos son sustancias químicas sintéticas o naturales que se pueden encontrar en medicamentos recetados, de venta libre y veterinarios [1]. La presencia de estos compuestos en el medio ambiente es una preocupación creciente para los químicos analíticos y el público en general [2]. Estos compuestos se convierten en parte de los desechos humanos y se excretan en el medio ambiente como compuestos y metabolitos principales no metabolizados. Así, se tiene que una alta concentración de éstos ingresa diariamente a las plantas de tratamiento de aguas residuales, a través, de la excreción urinaria o fecal y de las instalaciones de fabricación farmacéutica [3], ocasionando que diversos suministros de agua sean expuestos a sufrir una contaminación generalizada.

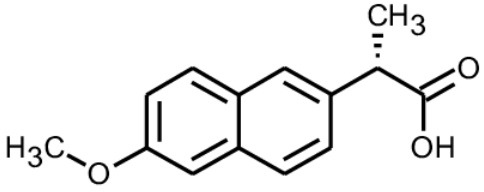


Figura 1. Estructura química del naproxeno.

El naproxeno, ácido orgánico débil perteneciente al grupo de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (ver figura 1), es uno de los fármacos más vendidos, en cantidades superiores a los 2000 kg/año y, por lo tanto, más consumidos por la población mexicana, siendo así detectado en aguas residuales en el intervalo de 4200 – 13589 $ng.L^{-1}$.

Para la remoción de estos contaminantes existen diversos métodos [4]. Dentro de estos métodos se encuentra la técnica de Extracción Líquido-Líquido (ELL). Para llevar a cabo dicho proceso es necesario utilizar diluyentes orgánicos, los cuales usualmente presentan propiedades tóxicas y contaminantes, tales como los derivados del petróleo. Por lo anterior, se propone utilizar un diluyente de origen natural (aceite de soya) y evaluar su capacidad extractiva.

Así, en el presente trabajo se evaluó la capacidad que posee el aceite de soya para llevar a cabo la recuperación de naproxeno, presente en soluciones acuosas, mediante la aplicación de esta técnica y variando diferentes parámetros, tales como: el valor de pH y el tiempo de contacto entre las fases.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Extracción

Se realizó la extracción utilizando como fase acuosa naproxeno (50 ppm) disuelto en una solución de fosfatos a pH 5.2 y 5.5 y como fase orgánica aceite de soya. Se colocaron en contacto volúmenes iguales de ambas fases y se llevaron a agitación (150 rpm) a diferentes tiempos (0.25-60 min.). Una vez terminada la agitación se recuperó la fase orgánica y la acuosa. A esta última se le determinó el valor pH y se le cuantificó la concentración de naproxeno mediante la técnica de Espectroscopía UV/VIS a una longitud de onda de 272 nm.

Los porcentajes de extracción se obtuvieron de la siguiente manera:

$$\%E = \left(\frac{[]_{inicial} - []_{final}}{[]_{inicial}}\right)(100) \qquad (1)$$

B. Desextracción

La fase orgánica que se recuperó en la extracción se utilizó para llevar a cabo la desextracción. Primero se utilizó NaOH 0.1 M como fase acuosa de desextracción, ésta se colocó en contacto con la fase orgánica a volúmenes iguales y se llevó a agitación (150 rpm) por 60 minutos. Lo anterior se repitió pero con una solución de $NaHCO_3$ 0.1M, sin embargo, con esta solución se realizó a diferentes tiempos de agitación (1-180 min.). Transcurrido el tiempo, se recuperó la fase acuosa, a la cual se le determinó el valor pH y se le cuantificó la concentración de naproxeno mediante la técnica de Espectroscopía el UV/VIS a una longitud de onda de 272 nm.

Los porcentajes de desextracción se obtuvieron de la siguiente manera:

$$\%DES = \left(\frac{[]_{fase\ orgánica}}{[]_{fase\ acuosa}}\right)(100) \qquad (2)$$

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo al comportamiento observado del naproxeno en procesos de extracción realizados en estudios anteriores, en donde se determinó que un valor de pH 5.5 sería el adecuado, ahora se evaluó el pH al cual se obtendrían mejores porcentajes de extracción usando como fase orgánica aceite de soya. Así, se utilizó como fase acuosa naproxeno disuelto en solución de fosfatos a pH 5.2 y 5.5. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de extracción obtenido a diferentes valores de pH. Fase acuosa: Npx (50 ppm) disuelto en solución de fosfatos; fase orgánica: aceite de soya; $v_{agitación}$ = 140 rpm; $t_{agitación}$ = 60 min

pH.	%Extracción.
5.2	90.6
5.5	84.7

A partir de la tabla se puede observar que conforme se aumenta el valor de pH, el porcentaje de extracción disminuye. Esto es debido a que cuando el pH se hace más básico, es decir, a valores superiores al valor de pKa del fármaco (4.2), el naproxeno va adquiriendo carga negativa, evitando de esta manera ser extraído hacia fase orgánica [5]. Por lo anterior, se determinó que un valor de pH de 5.2 sería el óptimo para realizar los estudios posteriores.

Así, establecido el valor de pH al cual se realizaría el proceso de extracción, se procedió a estudiar la naturaleza de la fase acuosa de desextracción. Se utilizaron dos soluciones, una de NaOH 0.1 M y otra de $NaHCO_3$ 0.1 M. La tabla 2 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 2. Porcentajes de desextracción en función de la naturaleza de la fase acuosa de desextracción. Fase acuosa: NaOH 0.1 M y

$NaHCO_3$ 0.1 M; fase orgánica: aceite de soya + NPX, $v_{agitación}$: 140 rpm; $t_{agitación}$: 60 min.

Fase acuosa de desextracción.	% Desextracción.
NaOH 0.1 M	-----
$NaHCO_3$ 0.1 M	92.4

Como se puede apreciar utilizando NaOH 0.1 M como fase acuosa de desextracción no se obtuvo un porcentaje de desextracción. Esto fue debido a que al recuperar la fase acuosa se observó que ésta era muy turbia, por lo cual no fue posible llevar a cabo la cuantificación del fármaco (Figura 2 (B)). Sin embargo, al utilizar $NaHCO_3$ 0.1 M como fase acuosa de desextracción, se obtuvo que ésta presentaba nula o una muy ligera turbidez al separar las fases, lo que permitió cuantificar el fármaco en la misma para obtener porcentajes de desextracción de alrededor el 92.4% (Figura 2 (A)). Así, se determinó que una solución de $NaHCO_3$ 0.1M sería la adecuada para llevar a cabo el proceso de desextracción.

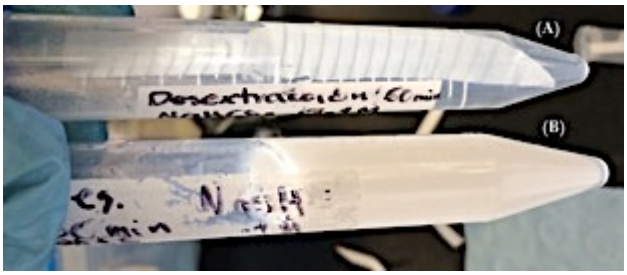


Figura 2. Desextracción con diferentes soluciones. (A) Utilizando $NaHCO_3$ 0.1 M; (B) utilizando NaOH 0.1 M.

Establecidas las condiciones de extracción y desextracción, se procedió a llevar a cabo las cinéticas de extracción y desextracción. Las figuras 3 y 4 muestran los resultados obtenidos.

Analizando las figuras, se puede apreciar que la cinética de extracción es muy rápida, mientras que la cinética de desextracción es un poco más lenta, sin embargo, no pierde eficacia. De esta manera, se observa que al minuto de contacto entre las fases se obtiene una extracción completa, indicando la alta capacidad extractiva del aceite de soya. En tanto que a los 20 minutos de contacto entre la fase acuosa de desextracción y la fase orgánica con NPX, los porcentajes de desextracción oscilaron alrededor del 90%. Lo anterior resulta favorable para el objetivo del proyecto, ya que será posible llevar a cabo la separación del fármaco presente en efluentes acuosos en tiempos cortos y con altos porcentajes de extracción y desextracción.

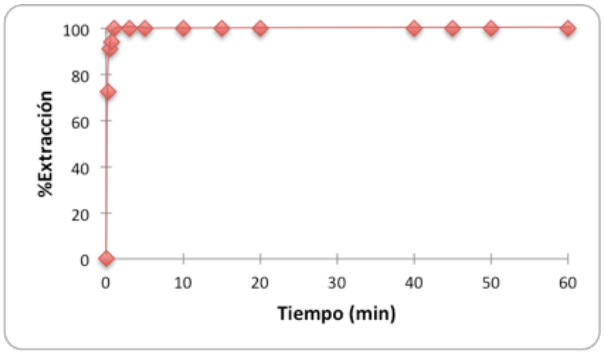


Figura 3. Cinética de extracción de NPX. Fase acuosa: NPX (50 ppm) disuelto en solución de fosfatos pH 5.2; Fase orgánica: aceite de soya; $v_{agitación}$: 150 rpm.

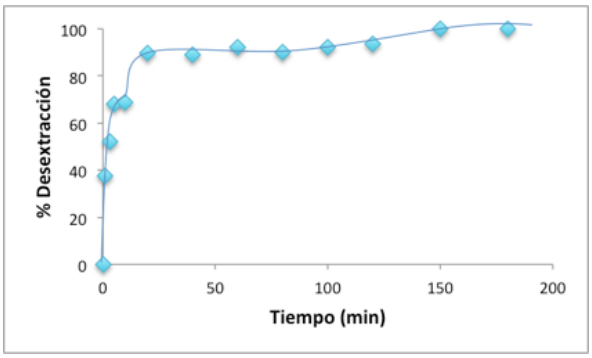


Figura 4. Cinética de desextracción de NPX. Fase acuosa de desextracción: $NHCO_3$ 0.1M; Fase orgánica: aceite de soya + NPX; $v_{agitación}$: 150 rpm.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se encontró que el aceite de soya posee una capacidad extractiva alta para llevar a cabo la recuperación de naproxeno presente en soluciones acuosas mediante la técnica de ELL, ya que se obtuvo un porcentaje de extracción del 100% desde el minuto 1 de contacto entre las fases. Además, se puede concluir que el $NaHCO_3$ 0.1M resultó ser una solución ideal para llevar a cabo el proceso de desextracción del fármaco, obteniéndose un 90% de desextracción a los 20 minutos de contacto.

Lo anterior, abre la posibilidad a que este sistema compuesto por un diluyente de origen natural se pueda utilizar en un futuro para el tratamiento de aguas residuales que reciben efluentes generados por diversas fuentes, tales como, hospitales o industrias farmacéuticas, ayudando de esta manera a que el medio ambiente sufra menos impactos negativos.

REFERENCIAS

[1] Organización Mundial de la Salud. (2019). *Productos farmacéuticos en el agua potable*. OMS. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/info_sheet_pharmaceuticals/es/

[2] Madikizela L. & Chimuka L. (2017). Simultaneous determination of naproxen, ibuprofen and diclofenac in wastewater using solid-phase extraction with high performance liquid chromatography. *Water SA* , *43* (2), p. 264. Doi: 10.4314/wsa.v43i2.10

[3] Madikizela, L. & Chimuka, L. (2017). Occurrence of naproxen, ibuprofen, and diclofenac residues in wastewater and river water of KwaZulu-Natal Province in South Africa. *Environmental Monitoring and Assessment, 189* (7), pp. 1-20. Doi: 10.1007/s10661-017-6069-1

[4] SEMARNAT. (2014). *Agua*. México: SEMARNAT Recuperado de https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_resumen14/06_agua/6_2_3.html#a1_1

[5] Ulisse K. (2014). *Microextracción de fármacos antiinflamatorios no esteroidales desde matrices acuosas usando polímero de impresión molecular inmovilizado en un sistema de disco rotatorio* [tesis de pregrado]. Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Concentración y extracción de DNA de bacterias depredadoras de agua de mar.

Dra. Grisel Fierros Romero*, Mario Ortega Garza, Samantha Lilibeth González Elizondo, Carlo César Ramírez Santos, Ingrid María Trinidad Seeldrayers.

Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, Epigmenio González 500, San Pablo, 76130 Santiago de Querétaro, México.

*gfierros@tec.mx

27 de Julio de 2019

RESUMEN

La depredación bacteriana es un modo de interacción según el cual un organismo depredador ataca y consume a una bacteria presa. Las bacterias depredadoras obligadas gram-negativas pertenecientes a *Bdellovibrio* y organismos similares (BALOs) se encuentran en casi todos los ecosistemas y su estudio permitiría una mejor evaluación de su papel en la naturaleza. Se realizó la concentración de BALOs provenientes de agua de mar de Acapulco e Ixtapa con el fin de extraer su DNA. Para esto se crearon 4 cultivos a partir del agua de Acapulco y 6 a partir del agua de Ixtapa, variando en ellos factores como la presa, la procedencia del agua de mar y el tamaño de los poros del filtro a través del cual pasó el inóculo. Se extrajo el DNA de los cultivos con mayor rendimiento y fue seleccionado el DNA del cultivo 1 de Ixtapa para su posterior secuenciación. Se obtuvo una mayor cantidad de BALOs del agua de Ixtapa, se descubrió que el tamaño de éstos se encuentra entre 0.2 y 0.45 µm y se observó que la presa *V. vulnificus* propicia en mayor medida la concentración de las bacterias depredadoras, así como el agua de mar natural como medio de cultivo.

Palabras clave: Bacterias depredadoras, BALOs, presa.

SUMMARY

Bacterial predation is an interaction mode in which a predatory organism attacks and consumes a prey bacteria. The gram-negative obligate predatory bacteria belonging to *Bdellovibrio* and like organisms (BALOs) are found in almost every ecosystem and their study would allow a better evaluation of their role in nature. A concentration of BALOs coming from Acapulco and Ixtapa seawater was done in order to extract their DNA. To accomplish this task, 4 cultures were created starting from Acapulco seawater and 6 starting from Ixtapa seawater. The factors that were varied were the pray, the nature of the seawater and the pore size of the filter through which the inoculum was passed. DNA was extracted from the cultures with more yield and the DNA from culture 1 of Ixtapa was selected for its subsequent sequencing. A higher amount of BALOs was obtained from Ixtapa seawater and it was discovered that their size is between 0.2 y 0.45 µm. It was also observed that the prey *V. vulnificus* leads to a better concentration of predatory bacteria, as well as using natural seawater as culture media.

Key words: Predatory bacteria, BALOs, prey.

INTRODUCCIÓN

La depredación es un tipo de interacción biológica en la que un individuo (el depredador) se alimenta de otro (la presa) para subsistir. Se trata de un tipo de relación interespecífica, es decir, que se da entre organismos de distintas especies, muy común en la naturaleza, incluyendo también el mundo microbiano. Dentro de este último, la depredación bacteriana es un modo de interacción según el cual un organismo depredador ataca y consume a una bacteria presa. Esta relación resulta interesante tanto desde un punto de vista ecológico como evolutivo, ya que las interacciones entre organismos han jugado un papel fundamental en la diversificación y organización de la vida. Además, los microorganismos están involucrados en todos los

ciclos biogeoquímicos, por lo que el impacto de la depredación en la estructura y función de las comunidades bacterianas, su biodiversidad y la dinámica poblacional es de vital importancia (Martínez, 2012).

Las bacterias depredadoras obligadas gram-negativas pertenecientes a *Bdellovibrio* y organismos similares (BALOs) se encuentran en el suelo, en asociación con las raíces de las plantas, en el mar, agua dulce, biopelículas y aguas residuales. Los BALOs exhiben un ciclo de vida bifásico en el que una célula en libre movimiento infecta el periplasma de una presa gram-negativa. A partir de entonces, el depredador intracelular crece en un filamento del cual, en una etapa posterior, las células de la progenie se diferencian, lisan la célula huésped e inician un nuevo ciclo (Davidov, 2004).

Aunque los BALOs fueron descubiertos hace 56 años, y trabajos anteriores han dado lugar a una importante comprensión de sus fascinantes capacidades celulares y fisiológicas, todavía sabemos poco del alcance de su diversidad, su historia evolutiva no está resuelta, y nuestro conocimiento de su taxonomía sigue siendo fragmentario. Conocimiento adquirido al estudiar estos aspectos de los BALOs ciertamente ayudaría en el desarrollo de nuevos enfoques para estudios ecológicos, fisiológicos y basados en el genoma, además de permitir una mejor evaluación de su papel en la naturaleza, que todavía es bastante poco conocida (Davidov, 2004).

El objetivo del estudio presentado fue la concentración de BALOs provenientes de agua de mar de Acapulco e Ixtapa, con el fin de extraer su DNA, para en estudios posteriores secuenciarlo y analizarlo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de medios

- Agua Artificial de Mar 70% (ASW 70%) : 1 litro de agua destilada, 25.15 g sal de mar (InstantOcean® Sea Salt).

- Medio SWYE: 1 litro ASW 70%, 10 g peptona de caseína, 3 g extracto de levadura y 17 gramos de agar bacteriológico.

- Medio pp20: 1 litro ASW 70%, 10 g peptona, 15 g agar.

Obtención de cepas de presa (*Vibrio vulnificus* y *Vibrio parahaemolyticus*)

Las cepas de presa fueron aisladas originalmente de agua de mar proveniente de Panamá y se han mantenido en el laboratorio mediante cultivos realizados a diario o cada dos días de los mismos. El medio SWYE es el que se utiliza para el cultivo de estas cepas.

Concentración de BALOs a partir de agua de Acapulco

Fueron tomados 500 ml de agua de mar de playas de Acapulco el día 23 de Junio. Dos días después, dicha agua llegó al laboratorio y comenzó su tratamiento. Para ello se crearon 4 cultivos en frascos Schott, el contenido de los cuales se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido de los cultivos utilizados para la concentración de BALOs provenientes de agua de mar de Acapulco.

Cultivo	Agua	Presa
1	200 ml agua de mar natural	*Vibrio vulnificus*
2	200 ml agua de mar natural	*Vibrio parahaemolyticus*

3	200 ml ASW 70%, 25 ml agua de mar natural	*Vibrio vulnificus*
4	200 ml ASW 70%, 25 ml agua de mar natural	*Vibrio parahaemolyticus*

Para la adición de las presas (V.V. y V.P.) a los cultivos primero se virtieron aproximadamente 15 ml de ASW 70% a cada Caja Petri con presa en medio SWYE y con un asa bacteriológica se desprendió toda la bacteria. Posteriormente, con una micropipeta, se transfirió todo el líquido resultante al frasco del cultivo. Este procedimiento fue realizado cada dos o tres días, dependiendo de la densidad óptica leída en espectrofotómetro de UV-Vis a 600 nm, con el propósito de que no se agotara el alimento para los BALOs y dichos organismos pudieran replicarse y concentrarse.

Concentración de BALOs a partir de agua de Ixtapa

Un litro de agua proveniente de las playas de Ixtapa fue colectado el día 24 de Junio y ese mismo día fue tratada para la concentración de los BALOs. La tabla 2 muestra el contenido de los dos cultivos derivados del procesamiento de dicha agua.

Tabla 2. Contenido de los cultivos utilizados para la concentración de BALOs provenientes de agua de mar de Ixtapa.

Cultivo	Agua	Presa
1	50 ml agua de mar natural	*Vibrio vulnificus*
2	50 ml agua de mar natural	*Vibrio parahaemolyticus*

Estos cultivos fueron alimentados periódicamente conforme al procedimiento descrito en la sección anterior durante 15 días al cabo de los cuales se crearon los cultivos mostrados en la Tabla 3, los cuales fueron inoculados con 10 ml de los cultivos 1 y 2 filtrados con filtros Minisart® de Sartoriusstedim de 0.2 y 0.45µm. Los cultivos 1.1 y 1.2 fueron inoculados con el cultivo 1, mientras que los cultivos 2.1 y 2.2 fueron inoculados con el cultivo 2.

Tabla 3. Contenido de los cultivos creados a partir de los mostrados en la tabla 2, con la diferencia de que el inóculo transferido fue filtrado.

Cultivo	Filtro (µm)	Agua	Presa
1.1	0.2	200 ml ASW 70%	*Vibrio vulnificus*

1.2	0.45	200 ml ASW 70%	*Vibrio vulnificus*
2.1	0.2	200 ml ASW 70%	*Vibrio parahaemo-lyticus*
2.2	0.45	200 ml ASW 70%	*Vibrio parahaemo-lyticus*

Los cultivos anteriores también fueron alimentados periódicamente conforme al procedimiento descrito en la sección anterior.

Técnica Doble Capa de Agar

Con el fin de comprobar la presencia de los BALOs dentro de los frascos se realizó la técnica de doble capa de agar al frasco 1 de Acapulco y al frasco 1.2 de Ixtapa. La técnica se llevó a cabo de la siguiente manera. Un tubo que contenía aproximadamente 5 ml de medio pp20 sólido (se almacenaba en refrigeración) fue calentado a baño maría a 55°C, pasando a un estado líquido. Se retiró el tubo del baño y rápidamente se le adicionaron 300µl del cultivo correspondiente y 300 µl de la presa con la que dicho frasco era alimentado (para obtener a la presa en medio líquido se le adicionaron 15 ml de ASW 70% a las cajas Petri con bacteria y éstas se desprendieron con un asa). Se agitó el tubo y se virtió su contenido sobre una caja Petri con medio pp20 sólido. Inmediatamente se distribuyó de manera homogénea el contenido del tubo describiendo círculos con la caja Petri hasta ver la segunda capa de agar dispersa de manera uniforme. Se esperó a que se solidificara y se incubó a temperatura ambiente durante 2 a 5 días.

Extracción de DNA de BALOs de Acapulco e Ixtapa

La extracción de DNA se realizó a los BALOs contenidos en los cultivos 2 de Acapulco así como 1 y 1.2 de Ixtapa.

Para obtener el pellet de células de BALOs, se tomaron 1.5 ml del frasco correspondiente y se filtraron con filtros Sartorius de 0.2 µm para el cultivo 1 de Acapulco y el 1 de Ixtapa y filtro de 0.45 µm para el 1.2 de Ixtapa, ya que en un principio el inóculo para dicho cultivo fue filtrado con ese mismo tamaño de poro. El filtrado fue depositado en un tubo Eppendorf estéril que fue sometido a centrifugación a 10,000 rpm durante 10 minutos. Se descartó el líquido de la parte superior del tubo con ayuda de una micropipeta hasta dejar aproximadamente 0.5 ml.

Para la extracción de DNA, se utilizó el PureLink®Genomic DNA Mini Kit de Invitrogen y se siguieron los pasos descritos en el manual para células Gram-negativas. A continuación se describe por secciones el procedimiento realizado.

<u>Lisis celular</u>

Al pellet de células se le agregaron 180 µl de PureLink® GenomicDigestion Buffer y 20 µl de Proteinasa K para lisar las células. Se mezcló brevemente con vórtex. Se incubó el tubo a 55°C durante 30 minutos con ligera agitación. Se adicionaron 20 µl de RNasa A al lisado y se mezcló con vórtex durante 5 segundos para posteriormente incubar la solución a temperatura ambiente durante 2 minutos. Se agregaron 200 µl de PureLink® GenomicLysis/Binding Buffer y se mezcló en el vórtex para obtener una solución homogénea. Se agregaron 200 µl de etanol 96% al lisado y se mezcló por 5 segundos con el vórtex.

<u>Unión del DNA</u>

Se depositó el lisado (aproximadamente 640 µl) en una PureLink® Spin Column que estaba dentro de un tubo de recogida. Se centrifugó la columna a 9,500 rpm a temperatura ambiente durante 1 minuto. Se descartó el tubo de recogida y se colocó la columna dentro de uno nuevo.

Lavado del DNA

Se agregaron 500 µl de Wash Buffer 1 a la columna que a continuación fue centrifugada a 10,000 rpm durante 1 minuto al cabo del cual se descartó el tubo de recogida y se colocó uno nuevo. Después se agregaron 500 µl de Wash Buffer 2 a la columna y se centrifugó a máxima velocidad (14,000 rpm) durante 3 minutos a temperatura ambiente. Se descartó el tubo de recogida.

Elución del DNA

Se colocó la columna en un tubo Eppendorf nuevo y se le agregaron 30 µl de PureLink® GenomicElution Buffer. Se incubó a temperatura ambiente durante un minuto y se centrifugó finalmente a máxima velocidad (14,000 rpm) durante 1 minuto. Se descartó la columna y se almacenó el tubo Eppendorf con DNA purificado a -20°C.

Cuantificación de concentración y pureza del DNA extraído.

Se utilizó el equipo NanoDropOne de Thermo Fisher Scientific para cuantificar la concentración de DNA, así como su pureza. Primero se colocó un µl de PureLink® GenomicElution Buffer como blanco en el pedestal, se realizó el blanqueo y posteriormente se colocó un µl de muestra de DNA extraído y se realizó su medición. Cabe mencionar que cada muestra fue extraída y cuantificada en días distintos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cultivos creados a partir de agua de mar de Acapulco mostraban actividad característica de BALOs, ya que el medio de dichos cultivos iba disminuyendo su turbidez y por tanto, su densidad óptica (OD) conforme pasaban los días posteriores a su alimentación, como lo muestran las tablas 4, 5 y 6. También presentaban escombros de las células presa en el fondo del frasco de cultivo, lo que confirma la presencia de BALOs. Se puede observar que los cultivos que disminuían más su OD fueron los cultivos 1 y 2, esto puede deberse a que el agua utilizada para su cultivo era en su totalidad agua de mar natural. Particularmente, el cultivo 2 fue el que mayor actividad presentó, por lo que se decidió extraer el DNA de los BALOs de dicho cultivo. La OD del cultivo 3 no aparece en las tablas 5 y 6 debido a que fue desechado el día 1 de julio debido a que no presentaba escombros ni disminución de la turbidez. A pesar de que disminuía este factor en los demáscultivos, es necesario resaltar que no fue en grandes cantidades, por lo que se infiere que no se logró obtener una cantidad considerable de BALOs, esto puede deberse a que el agua de Acapulco fue cultivada dos días después de su toma, existiendo la posibilidad del agotamiento de la presa. Ya que, como señala la literatura, en ausencia de presa, las bacterias depredadoras pueden perder su viabilidad rápidamente debido a los altos niveles de energía que utilizan para su búsqueda (Jurkevitch, 2007).

Tabla 4. Densidad óptica leída a 600 nm a cultivos de Acapulco los días 25 y 27 de junio.

Cultivo	OD 600 nm	
	25/06/19	27/06/19
1	0.203	0.168
2	0.203	0.170
3	0.152	0.138
4	0.201	0.138

Tabla 5. Densidad óptica leída a 600 nm a cultivos de Acapulco los días 3 y 4 de julio.

Cultivo	OD 600 nm	
	03/07/19	04/07/19
1	0.228	0.190
2	0.229	0.103
3	-	-
4	0.164	0.103

Tabla 6. Densidad óptica leída a 600 nm a cultivos de Acapulco los días 5 y 8 de julio.

Cultivo	OD 600 nm	
	05/07/19	08/07/19
1	0.218	0.139
2	0.220	0.056
3	-	-
4	0.207	0.129

La figura 1 muestra la caja Petri en donde se llevó a cabo la técnica de doble capa de agar para el cultivo 1 de Acapulco con tres días de incubación. Si se observa con acercamiento se pueden observar pequeños círculos, los cuales son llamados *placas* y son indicativos de la presencia de bacterias depredadoras.

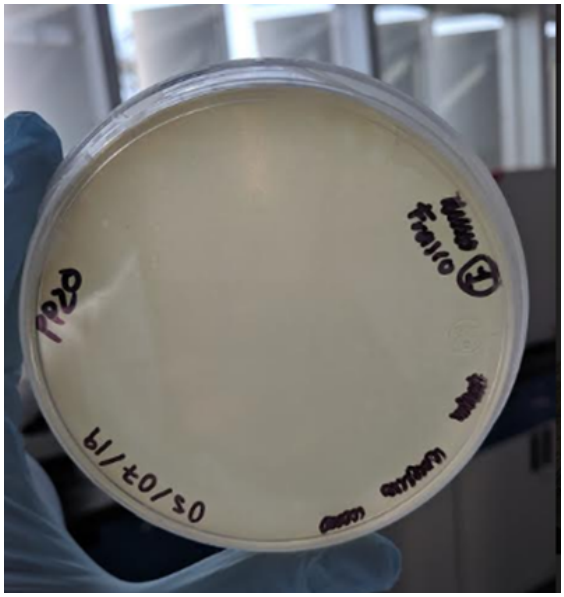


Figura 1. Cultivo en doble capa de agar del cultivo 1 de Acapulco después de tres días de incubación.

En cuanto a los cultivos de agua de Ixtapa, éstos mostraron una considerablemente mayor disminución en la densidad óptica pasados algunos días después de su alimentación, como se puede corroborar analizando las tablas 7 y 8. Esta última no presenta la OD del cultivo 2.1, ya que, al igual que el cultivo 3 de Acapulco, presentó el mismo grado de turbidez por días intermitentes y no presentó escombros considerables, por lo que fue desechado. Esto puede deberse a que la presa no era muy afín a la bacteria depredadora, lo que tambiéncomprueba el hecho de que la OD del frasco 2.2, que también era alimentado con *V. parahaemolyticus* no disminuyera su OD en gran medida a lo largo de los días. En cambio, con la

presa *V. vulnificus* fue notada una disminución mucho mayor de la OD a lo largo de los días, al igual que una mayor cantidad de escombros en el fondo de los frascos, particularmente del cultivo 2.1, como se muestra en la figura 2.

Tabla 7. Densidad óptica leída a 600 nm a cultivos de Ixtapa los días 12 y 15 de julio.

Cultivo	OD $_{600\ nm}$	
	12/07/19	15/07/19
1.1	0.315	0.115
1.2	0.317	0.086
2.1	0.152	0.096
2.2	0.201	0.104

Tabla 8. Densidad óptica leída a 600 nm a cultivos de Ixtapa los días 18 y 22 de julio.

Cultivo	OD $_{600\ nm}$	
	18/07/19	22/07/19
1.1	0.132	0.119
1.2	0.133	0.097
2.1	-	-
2.2	0.142	0.131

El cultivo 1.2 fue el que mayor actividad mostró debido a las razones antes mencionadas, por lo que dicha muestra fue seleccionada para extracción de DNA.

El hecho de que funcionara mejor filtrar la muestra con BALOs con 0.45 µm que con 0.2 µm (el cultivo 1.2 funcionó mejor que el 1.1), puede ser indicativo de que las bacterias depredadoras que extrajimos de Ixtapa tienen en su mayoría un tamaño mayor a 0.2 µm y menor a 0.45 µm.

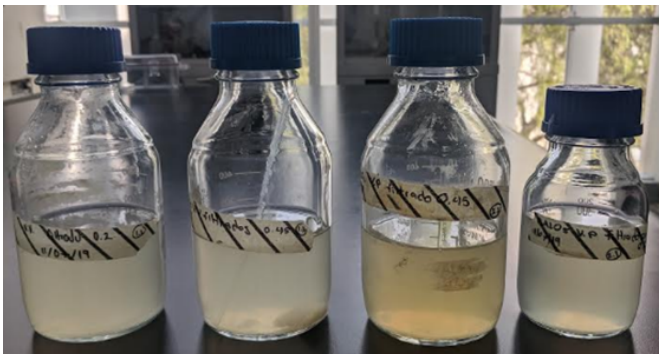


Figura 2. Cultivos 1.1, 1.2, 2.1 y 2.2 de Ixtapa, de izquierda a derecha, respectivamente.

La figura 3 muestra la caja Petri en donde se realizó la técnica de cultivo en doble capa de agar para el Cultivo 1.2 de Ixtapa. La fotografía fue tomada 5 días después del cultivo de la caja. Se comienzan a vislumbrar las *placas* características de BALOs, lo que indica que efectivamente están presentes estos microorganismos en el cultivo original.



Figura 3. Cultivo en doble capa de agar del cultivo 1.2 de Ixtapa, con cinco días de incubación.

No se midieron densidades ópticas de los cultivos 1 y 2 de Ixtapa pero el primero fue el cultivo que más clarificaba de todos y mostraba muchos escombros, como se podía notar a simple vista, por lo que también se le extrajo el DNA a las bacterias depredadoras presentes en él.

La tabla 9 presenta los resultados arrojados por el equipo NanoDropOne sobre concentración y pureza del DNA extraído. La muestra con mayor concentración y pureza fue la proveniente del frasco 1 de Ixtapa, por lo que es la que se secuenciará en un futuro para su posterior análisis.

Tabla 9. Concentración y pureza del DNA extraído.

Frasco	**Concentración (ng/µl)**	**A 260 / 280**	**A 260 / 230**
2 Acapulco	2.2	0.97	4.43
1 Ixtapa	18.5	1.53	0.59
1.2	13.6	1.5	0.98
Ixtapa			

Al obtener una concentración de DNA mayor de la muestra proveniente del cultivo 1 de Ixtapa y adicionando a ello la observación de que el medio de dicho cultivo disminuía en mayor medida su turbidez en comparación a los cultivos 1.1 y 1.2, como se notaba a simple vista, se puede suponer que esto se debe a que el cultivo 1 tenía en su totalidad agua de mar natural, mientras que los otros dos cultivos tenían agua de mar artificial. Y por ende se infiere que las bacterias depredadoras son más propicias a su concentración cuando se encuentran en su medio natural, y que con agua de mar artificial la concentración es menos efectiva.

CONCLUSIÓN

El cultivo de las bacterias depredadoras provenientes de Acapulco no fue muy favorecedor. Por el otro lado, fue extraído con éxito DNA de bacterias depredadoras provenientes de agua de mar de Ixtapa. Con el cultivo de dichas bacterias se llegó a las presunciones de que su tamaño se encuentra entre 0.2 y 0.45 µm y que *V. vulnificus*es una presa que facilita en mayor medida su concentración comparada con *V. parahaemolyticus*. Además, se observó que los BALOs en agua de mar natural son más fáciles de concentrar que en agua de mar artificial.

PERSPECTIVAS

Se espera secuenciar el genoma de las bacterias depredadoras provenientes de Ixtapa, para el posterior análisis del mismo. También se espera estudiar más a fondo los mecanismos de depredación de las bacterias para poder aplicarlas como alternativa a antibióticos.

REFERENCIAS

Davidov, Y. &Yurkevitch, E. (2004). *Diversity and evolution of Bdellovibrio- and-like organisms (BALOs), reclassification of Bacteriovoraxstarrii as Peredibacterstarrii gen. nov., comb. nov., and description of the Bacteriovorax–Peredibacter clade as Bacteriovoracaceae fam. Nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 54, 1439–1452 D

Jurkevitch, E. (2007). *Predatory Prokaryotes- Biology, Ecology and Evolution.* Germany: Springer.

Martínez, V. (2013). *Catabolismo de los polihidroxialcanoatos en la bacteria depredadora Bdellovibriobacterovorus: aplicaciones biotecnológicas y diseño de nuevos sistemas para la extracción de bioplástico en cultivos bacterianos.* Madrid: Universidad Complutense de Mad

Estudio de la fisiología del espermatozoide de humano en condiciones artificiales y semi-fisiológicas

Jaime-Ventura M.F.[1], Mata-Martínez E.[2], Arias R J. [3], De Blas G.[4]

[1]Universidad Autónoma de Querétaro
fernjaime@hotmail.com [2,3,4] Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM)
[2]espemmtz@gmail.com
[3]rodojosearias@gmail.com
[4]gerardo.deblas@gmail.com

Resumen

La manera en la que los mamíferos generan un nuevo individuo es a través de la fusión de gametos, los cuales poseen características y formas diferentes, la célula sexual femenina es inmóvil y cuenta con una envoltura protectora, mientras que el espermatozoide es una célula móvil, muy pequeña en comparación al óvulo y sintetizada mediante espermatogénesis. Los eventos indispensables que deben experimentar los espermatozoides de mamífero para que ocurra la fecundación son: hiperactivación, capacitación y reacción acrosomal (RA) por lo que los objetivos de este trabajo fueron el determinar qué condiciones promueven mejor la capacitación espermática para evaluar estos procesos, mimetizando el ambiente *in vivo* y también tomando en cuenta la viscosidad del medio. Para comenzar con los estudios fue necesario obtener muestras de semen de donadores sanos y recolectar los espermatozoides mediante la técnica de "swim up" para su posterior capacitación. Se utilizaron dos medios capacitantes para llevar acabo el trabajo. Los resultados de las pruebas de motilidad e hiperactivación fueron obtenidos con ayuda del software CEDAI, mientras que la evaluación de la RA se observó en un microscopio de fluorescencia tanto en presencia como en ausencia de progesterona. Con base en los resultados obtenidos se llegó a la conclusión que el medio M propicia un mejor ambiente de capacitación. Por otro lado, se evaluaron medios viscosos de metil-celulosa y polivinilpirrolidona (PVP) a diferentes concentraciones, se concluyó que la metil-celulosa al 4% es una alternativa potencial para seguir con estos estudios.

Palabras clave: Espermatogénesis, fecundación, hiperactivación, capacitación, reacción acrosomal, swim up.

Abstract

The way mammals generate a new individual is by the fusion of gametes, which have different forms and characteristics, the female sexual cell does not move and has a protective wrap, while the spermatozoa is a moving cell, smaller than the ovum and is synthesized by spermatogenesis. The events that mammal spermatozoons must go through in order to fertilize an oocyte are: hyperactivation, capacitation and acrosomal reaction (AR). The objectives of this work were the determination of those conditions which better contribute to the sperm capacitation in order to evaluate these processes, mimicking the *in vivo* environment and taking into account the viscosity of the medium. Before starting all the studies, it was necessary to collect semen samples from healthy donators using the "swim up" technique. Two capacitating mediums were used during this work. The results of motility and hyperactivation were obtained with the help of a software called CEDAI, while the evaluation of AR was observed using a fluorescent microscope, with both, the presence and absence of progesterone. With the help of all the results collected, it was concluded that the M medium provides a better environment for capacitation. On the other hand, viscous mediums were evaluated with different

concentrations of methyl cellulose and polyvinylpyrrolidone. It was concluded that 4% methyl cellulose is a potential alternative to continue with these studies.
Key words: spermatogenesis, fertilization, hyperactivation, capacitation, acrosomal reaction, swim up.

Introducción

La manera en la que los mamíferos generan un nuevo individuo es a través de la reproducción sexual, que consiste en la fusión de los gametos, los cuales poseen características y formas diferentes. El óvulo, la célula sexual femenina, se encuentra entre las más grandes del organismo en seres humanos, es inmóvil y está rodeada por las células del cúmulo que le brindan protección, nutrientes y además secretan sustancias que regulan el funcionamiento de los espermatozoides, una de dichas sustancias es la progesterona [1], también se encuentra la zona pelúcida (ZP), esta es la capa más próxima a la membrana plasmática del ovocito y está compuesta por 4 glicoproteínas (ZP1, ZP2, ZP3 y ZP4) [2]. Por el contrario, la célula sexual masculina, el espermatozoide, es generalmente la más pequeña [3], móvil y morfológicamente sencilla. Mientras que en las mujeres el conjunto total de ovocitos se produce antes del nacimiento, en los varones, las células germinales nuevas ingresan a la meiosis continuamente desde el momento de la maduración sexual. Estas células masculinas se originan de un proceso llamado espermatogénesis, que como su nombre lo indica, es la generación de espermatozoides haploides a partir de la transformación de células madre espermatogoniales, lo que tiene lugar dentro de los túbulos seminíferos [2]. Los espermatozoides consisten de dos regiones distintas morfológica y funcionalmente cubiertas por una sola membrana plasmática: la cola o flagelo; involucrado en la motilidad, y la cabeza, que contiene un núcleo haploide condensado [3]. En la cabeza de los espermatozoides de mamíferos, próximo al extremo anterior de la envoltura nuclear, se encuentra una vesícula secretora especializada llamada vesícula acrosomal o acrosoma. El espermatozoide es una célula altamente diferenciada y especializada por lo que no presentan organelos citoplasmáticos como ribosomas, retículo endoplásmico o aparato de Golgi, los cuales son innecesarios para su único fin: entregar su material genético al ovocito, por lo que son transcripcional y traduccionalmente inactivos, sin embargo, contienen muchas mitocondrias colocadas estratégicamente en la pieza media donde pueden proporcionar al flagelo la energía necesaria para la motildad celular y así poder alcanzar al óvulo. Para lograr dicho objetivo y fusionarse con el ovocito, los espermatozoides deben enfrentar diversos cambios bioquímicos conocidos. La fecundación es un evento altamente sincronizado e involucra una serie compleja de interacciones entre el espermatozoide y el óvulo, culminando con la fusión de estos gametos. En los organismos de fecundación interna, como los mamíferos, los espermatozoides se depositan en el tracto genital femenino y es a partir de aquí que los espermatozoides experimentan la capacitación, la cual les confiere la habilidad de llegar hasta el óvulo y fecundarlo [4].

Los eventos indispensables que deben experimentar los espermatozoides de mamífero para que ocurra la fecundación son:

Hiperactivación.

Al ser depositados en la vagina, los espermatozoides desarrollan inicialmente una motilidad activada caracterizada por un batido flagelar simétrico y de corta amplitud con un nado progresivo y en una dirección casi recta. Por otra parte, se ha demostrado que los espermatozoides recuperados del oviducto, una región cercana al sitio de la fecundación presentan una motilidad hiperactivada. Este tipo de movilidad se caracteriza por un batido flagelar vigoroso, asimétrico, con una amplitud y curvatura mayor [5].

Capacitación.

Los espermatozoides eyaculados deben permanecer en el tracto genital femenino para adquirir la capacidad de fecundar al óvulo. El conjunto de cambios moleculares, bioquímicos y

fisiológicos que se llevan a cabo en el espermatozoide durante su estancia dentro del tracto y que le permiten adquirir la habilidad de fecundar al óvulo se denomina capacitación. Algunos descubrimientos publicados indican que los cambios involucrados en la capacitación resultan de una combinación de procesos secuenciales y en algunos casos paralelos [6]. Dentro de los cambios que suceden durante la capacitación, se encuentra una hiperpolarización del potencial de membrana que se ha observado en espermatozoides bovinos y murinos (esta última especie de mamífero es en la que se han hecho los estudios clásicos sobre la fisiología del espermatozoide), la remoción de colesterol de la membrana plasmática, incrementos del pH intracelular (pHi) y la concentración intracelular de $[Ca^{2+}]i$, $[HCO_3-]i$ y [Cl-]i [6]. Por otra parte aumenta el [AMPc]i que se asocia con la activación de la proteína cinasa A (PKA) dependiente de AMPc y esto, a través de una cascada de señalización cuya secuencia de pasos se desconoce, culmina con la fosforilación de proteínas en tirosinas. Dicha fosforilación se ha considerado marcador del estado capacitado de los espermatozoides [7].

Reacción acrosomal (RA).

La RA es una exocitosis regulada calcio dependiente, en la que la membrana plasmática se fusiona con la membrana acrosomal externa en múltiples puntos, formando poros por donde se liberan las enzimas hidrolíticas responables de degradar la ZP y abrir el paso del espermatozoide a través de ella para luego fusionarse con la membrana plasmática del ovocito y fecundarlo [8,9]. Solo los espermatozoides capacitados podrán tener RA en condiciones fisiológicas (activada por ZP o progesterona).

Tanto la hiperactivación como la RA son procesos que se presentan en espermatozoides que adquirieron la habilidad de fecundar al óvulo, es decir, están capacitados, por lo que uno de los objetivos de este trabajo fue el determinar qué condiciones promueven mejor la capacitación espermática, por lo que se intentó mimetizar el ambiente del oviducto.

Por otro lado, aunque a lo largo del tiempo se han realizado investigaciones que permiten entender los mecanismos que regulan la fecundación, en estos trabajos no se ha considerado el papel de la viscosidad de las capas mucosas del tracto reproductor femenino, algunos fluidos contienen propiedades viscoelásticas. Estos incluyen el moco cervical [10], el fluido del oviducto [11] y la matriz del cumulus oophorus [12], que es considerada como una red viscoelástica inmersa en un fluido viscoso. Los espermatozoides deben nadar a través de dichos medios, por lo que desempeñan un papel importante tanto en la selección como en la modulación de su comportamiento. Por lo tanto, es crucial considerar los efectos fisiológicos de la viscosidad cuando se diseñan experimentos *in vitro*, en este sentido, la segunda meta de este trabajo fue encontrar un medio que nos permita tratar de replicar la viscosidad que existe *in vivo* para estudiar la RA en espermatozoides, para ello, las células deben de mantenerse en un campo determinado del microscopio.

Materiales y Métodos

Donadores y recolección de muestra

Las muestras de semen fueron proporcionadas por donadores que cumplían con los parámetros normales según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Tabla 1) mediante masturbación y después de 48 horas de abstinencia sexual. Cada donante que proporcionó una muestra para su análisis llenó una encuesta de salud y firmó el consentimiento informado correspondiente para la donación de la misma.

Swim up y capacitación

Las muestras de semen una vez obtenidas se incubaron en una cámara húmeda a 37º C y 5% de CO_2 durante 30 minutos, promoviendo la licuefacción de la misma. Los espermatozoides móviles se separaron del semen mediante la

Tabla 1. Parámetros seminales normales según la OMS

Características	**Valores normales según la OMS (2010)** Límite inferior de referencia (LIR)
Volumen	1.5 ml (1.4-1.7)
Color	Blanco opalescente
pH	>7.2
Concentración espermática	15 x 10^6/ml (12-15)
Concentración total	39 x 10^6 (33-46)
Motilidad total	Progresivos + no progresivos 40% (38-42)
-Progresivos rápidos	Motilidad progresiva 32% (31-34)
-Progresivos moderados	No progresivos
-Lentos	Inmóviles
Viabilidad	58% (55-63)
Formas normales	4% (3-4)
Leucocitos	< 1 x 10^6/ml

Flores-Sánchez: Espermatobioscopia. Organización Mundial de la Salud 2010 [13]

técnica de "swim-up" (del inglés, *nado hacia arriba* esta técnica recupera un porcentaje muy alto > 90% de espermatozoides morfológicamente normales mótiles [14]), para lo cual, se colocaron en un tubo de plástico, 500 µl de medio de cultivo (trabajamos con dos medios: HTF y M (Tabla 2)) y al fondo de cada tubo se colocaron 100 µl de la muestra, previamente licuada, evitando la mezcla de ambas fases. Los tubos se colocaron con una inclinación de 30° y se incubaron durante 1 hora en cámara húmeda a 37° C y 5 % de CO_2. Posteriormente las células mótiles se recuperaron tomando los ~350 µl superiores de cada medio y colocándolos en un tubo eppendorf nuevo. Finalmente, los espermatozoides se contaron en una cámara de Makler y se ajustó la concentración a 10x10^6 espermatozoides/ml. Prosiguió la incubación en una cámara húmeda a 37° C y 5 % de CO_2 para promover la capacitación durante 2, 4 y 6 horas más. Para que se produzca la capacitación *in vitro*, es preciso intentar mimetizar el ambiente del oviducto, esto se puede llevar a cabo in vitro suplementando los medios de cultivo con Ca^{2+}, HCO_3- y albúmina sérica bovina (BSA) [15].

Motilidad

Se determinó con el software CEDAI utilizando un microscopio Zeiss, se capturaron las imágenes a una frecuencia de captura de 60 Hz con el objetivo 10X. Una vez terminada la capacitación, se tomaron 10 µl del tubo que contenía la muestra y se colocaron en una cámara de Makler, este

Tabla 2. Composición de los medios de cultivo utilizados

HTF		**M**	
Compuesto	**[ ] en mM**	**Compuesto**	**[ ] en mM**
NaCl	101.6	NaCl	94
KCl	4.69	KCl	4
$MgSO_4$ $7H_2O$	0.20	CaCl2	2
K_2HPO4	0.37	MgCl2	1
$CaCl_2$ $2H_2O$	2.04	Na-piruvato	1
$NaHCO_3$	25	NaHCO3	25
Glucosa	2.78	Glucosa	5
Na-piruvato	0.33	HEPES	30
BSA	5 mg/ml	BSA	5 mg/ml
Na-lactato	21.4	Na-lactato	10
Penicilina	100 unidades/ml		
Estreptomicina	50 µg/ml	Estreptomicina	50 µg/ml
*Rejo fenol	10 mg/L		

procedimiento se realizó con cada una de las muestras en los diferentes medios, tiempos y por duplicado. La motilidad hiperactivada se calculó tomando en cuenta ciertos parámetros de motilidad, con la siguiente definición: VCL mayor a 150 µm/s, LIN menor a 50% y ALH ≥ 7 µm. Todas las pruebas se realizaron con imágenes en campo claro. El conjunto de imágenes capturadas para todas las pruebas se enviaron al servicio de

almacenamiento de datos a través de internet (servidor CEDAI, Univ. Chile) quien tiene el algoritmo matemático para realizar los análisis computarizados.

Reacción acrosomal

Una vez terminada la capacitación (en los diferentes medios utilizados y a los diferentes tiempos), se alicuotaron en tubos eppendorf (50 µl), se incubaron en ausencia (control) y en presencia de progesterona 15 µM. Ambos tubos se incubaron por 30 minutos a 37°C y 5 % de CO_2 para inducir la RA. Pasado este tiempo, se les agregó 500 µl de medio de registro humano (MRH: NaCl 120 mM, KCl 4 mM, $NaHCO_3$ 15 mM, $MgCl_2$ 1 mM, HEPES 10 mM, Glucosa 5 mM, Piruvato de sodio 1 mM, lactato de sodio 10 mM, $CaCl_2$ 2mM) y se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos, el sobrenadante se descartó y se llevó a un volumen final de 50 µl. Posteriormente se tomaron 20 µl de cada tubo, se colocaron en pozos diferentes de una laminilla como se muestra en la figura 1, y se dejaron en una plancha a 37°C hasta que estuvieron completamente secos. Luego se fijaron y permeabilizaron con metanol frío y se descartó el exceso de éste, se procedió a teñir con la lectina *Pisum sativum* conjugada con el isotiocianato de fluoresceína (FITC-PSA, 10 µl de 50 µg/ml a cada pocillo). Las laminillas se colocaron durante 1 hora en una cámara oscura y posteriormente se enjuagaron en una caja coplin de plástico con agua destilada a 4°C durante 30 minutos, posteriormente se dejaron secar en una plancha a 37°C. Finalmente se evaluó la reacción acrosomal en un microscopio de fluorescencia (Fig. 2).

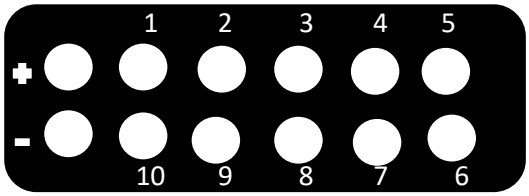


Figura 1. **Imagen ilustrativa** de las laminillas utilizadas para la evaluación de RA.

Medios viscosos

Se preparó metil-celulosa SIGMA 4 000 cP al 2, 3, 3.5 y 4 % y PVP con un peso molecular de 360 000 KDa al 10, 20, 30 y 40 %. Se disolvieron en MRH agitando a 4°C durante aproximadamente un día. Para evaluar la motilidad espermática en medios viscosos, se utilizaron dos técnicas; en la primera se marcó en un portaobjetos tres cuadrados, de aproximadamente 18 mm^2 cada uno, con vaselina colocada previamente en una jeringa, simulando pozos. Para el segundo método, se utilizaron cámaras de registro, las cuales simulaban una pequeña "alberca" para las células. En ambos procesos se colocaron 100 µl de cada medio viscoso y 10 µl de espermatozoides previamente capacitados, cada muestra se evaluó con ayuda de un microscopio Nikon invertido acoplado a un cámara Andor y el software Solis de Andor. Se adquirieron 2 imágenes por segundo durante 20 minutos. Se monitoreó la motilidad de los espermatozoides en cada uno de los medios viscosos mencionados.

Resultados

Motilidad

La movilidad hiperactivada se presenta en espermatozoides capacitados. Nosotros utilizamos 2 medios de cultivo (HTF y M) y diferentes tiempos (2, 4 y 6 horas) para definir las mejores condiciones de capacitación y por consiguiente el mayor porcentaje de espermatozoides hiperactivados (Fig. 3).

Para los dos medios utilizados y en cada una de las condiciones experimentales, se capturaron de 5 a 7 campos, dependiendo de la densidad espermática, en cada uno de éstos se obtuvieron tablas con los diferentes parámetros de motilidad que mide el software (Fig. 1B y C).

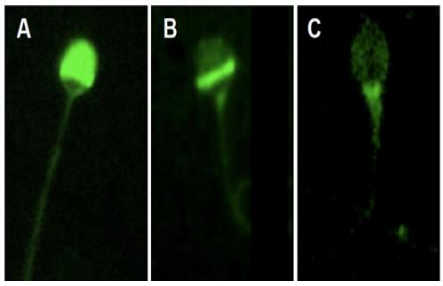
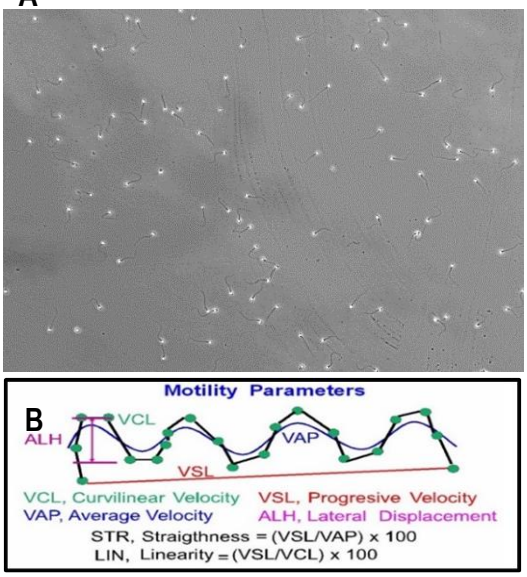


Figura 2. **Patrones de tinción con la lectina PSA-FITC A**. Espermatozoide no reaccionado. **B** y **C**. Espermatozoide reaccionado

A



C

Nº. Esp	VCL	VSL	VAP	LIN	STR	WOB	ALHmean	TypeMVars	ALHmax
1	231,75100	40,90160	73,16670	17,64890	55,90190	31,57130	3,58605	A	8,16877
2	177,20600	37,90580	73,13850	21,39090	51,82740	41,27330	2,39150	A	5,65530
3	135,95600	44,71480	52,26450	32,88920	85,55490	38,44230	2,11304	A	5,31710
4	178,01300	58,88970	72,67890	33,08160	81,02730	40,82780	2,81292	A	5,68824
5	28,17150	12,50690	20,99890	44,39570	59,55990	74,53960	0,22229	B	1,22592
6	290,70000	43,99440	99,16440	15,13390	44,36510	34,11220	2,88798	A	8,67296
7	85,56560	47,09620	59,75400	55,04100	78,81670	69,83420	1,20290	A	3,36981
8	97,89360	44,90260	49,51790	45,86880	90,67960	50,58330	1,19436	A	3,19042
9	114,67700	39,97200	63,55170	34,85620	62,89690	55,41800	1,14703	A	3,56840
10	166,18500	46,52890	63,60910	27,99820	73,14810	38,27600	2,56398	A	5,89114
11	7,82505	0,94842	2,70944	12,12030	35,00410	34,62530	0,05800	D	0,36169
12	143,56300	28,39530	54,08890	19,77890	52,49740	37,67590	2,01765	A	4,14584
13	12,02930	1,51763	5,23786	12,61610	28,97430	43,54260	0,10030	D	0,63346
14	197,29500	23,06570	78,92990	11,69100	29,22300	40,00590	2,62021	A	6,55473
15	119,45800	27,33950	49,09470	22,88630	55,68740	41,09780	1,48243	A	3,43601
16	80,74500	21,34260	48,15420	26,43210	44,32140	59,63740	1,13355	A	2,86678
17	180,27300	57,79810	62,21760	32,06140	92,89670	34,51300	2,67693	A	5,41271
18	149,32000	54,47550	73,86470	36,48240	73,75040	49,46740	1,99221	A	5,28789
19	90,99850	30,43700	40,73490	33,44780	74,71980	44,76430	0,99440	A	2,47262
20	154,70000	36,81840	69,36410	23,79990	53,07990	44,83780	2,16784	A	5,48510
21	116,78100	33,06120	48,91170	28,31050	67,59370	41,88340	1,45087	A	4,73541
22	105,23900	26,46210	62,88900	25,14480	42,07740	59,75850	1,37491	A	3,60247
23	168,66500	46,27980	54,36840	27,43880	85,12250	32,23450	2,22503	A	5,63529
24	81,49960	32,19820	36,89330	39,50720	87,27380	45,26810	1,04042	A	3,06834
25	205,02600	53,36060	58,10010	26,02630	91,84260	28,33800	3,49902	A	6,93643

Figura 3. Análisis de datos obtenidos mediante el algoritmo matemático del software CEDAI. **A**. Imagen capturada con el software CEDAI, los espermatozoides se presentan con la cabeza brillosa y la cola negra. **B**. Parámetros de motilidad medidos. En color verde se observa la velocidad curvilínea (VCL), en azul la velocidad promedio (VAP), en color rojo la velocidad en línea recta (VSL) y en magenta se muestra la amplitud lateral de cabeza (ALH). **C**. Excel representativo de cómo se extraían los datos.

A continuación mostramos resultados con la cuantificación de la motilidad progresiva, no progresiva e inmótiles de los espermatozoides incubados en los medios HTF y M y en los diferentes tiempos de incubación (2, 4 y 6 h; panel **A** y **A´**). También mostramos en le panel **B** y **B´** el total de espermatozoides analizados, la concentración espermática de cada muestra y el total de células que presentaron los 3 parámetros medidos (Fig. 4).

De los diferentes parámetros de motilidad medidos con el software CEDAI, como se observa en la tabla de la figura 3, panel C, seleccionamos y cuantificamos los espermatozoides que presentaron 2 y 3 parámetros de hiperactivación (como describimos en la sección de motilidad en Materiales y Métodos (M&M): VCL mayor a 150 µm/s, LIN menor a 50% y ALH ≥ 7 µm.). Los resultados obtenidos por duplicado con un N=3 se graficaron como se muestra en la figura 5.

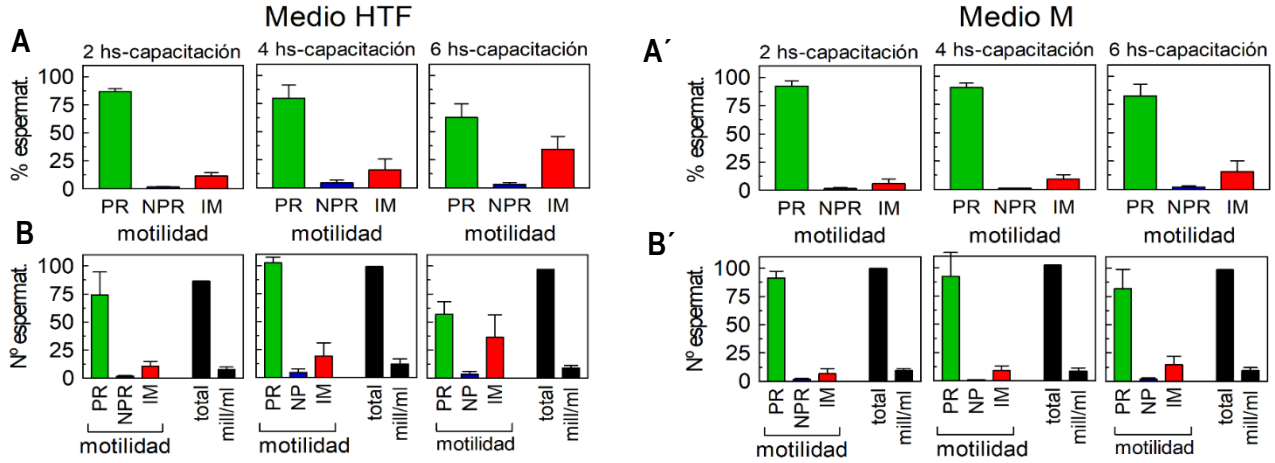


Figura 4. **Cuantificación de la motilidad.** Porcentaje de espermatozoides con diferentes parámetros de motilidad incubados en el medio HTF (panel **A**, 2, 4 y 6 h de capacitación) y medio M (panel **A´**, 2, 4 y 6 h). PR: motilidad progresiva; NPR: motilidad no progresiva; IM: inmótiles. Total de espermatozoides analizados (panel **B** y **B´**; 2, 4 y 6 horas de capacitación) PR: motilidad progresiva; NPR: motilidad no progresiva; IM: inmótiles. Barra negra: número total de esprmatozoides y concentración espermática en millones por ml (mill/ml).

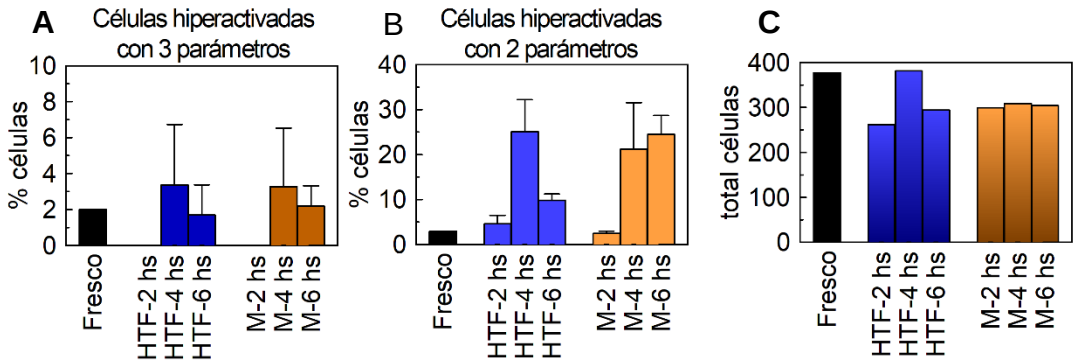


Figura 5. **Espermatozoides hiperactivados**. **A**. Porcentaje de células que presentaron los 3 parámetros de hiperactivación. Motilidad de los espermatozoides frescos o sin capacitar (barra negra), motilidad en espermatozoides capacitados en HTF a las 2, 4 y 6 h (barras azules), motilidad en espermatozoides capacitados en M a las 2, 4 y 6 h (barras naranjas). **B**. Porcentaje de células que presentaron solo 2 parámetros de hiperactivación. Motilidad de los espermatozoides frescos o sin capacitar (barra negra), motilidad en espermatozoides capacitados en HTF a las 2, 4 y 6 h (barras azules), motilidad en espermatozoides capacitados en M a las 2, 4 y 6 hs (barras naranjas). **C**. Total de espermatozides analizados.

A continuación analizamos los resultados de la figura 5 realizando la prueba estadística de t de student o t-Test (Fig. 6)

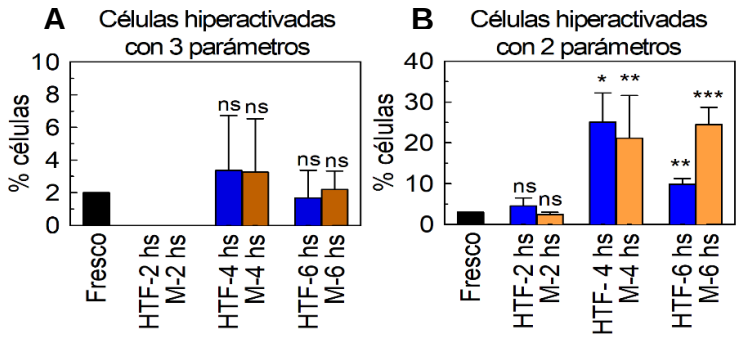


Figura 6. En los medios y tiempos de capacitación estudiados no se observaron diferencias significativas respecto del fresco en espermatozoides con 3 parámetros de hiperactivación (panel **A**), mientras que sí se observan diferencias significativas en los dos medios a las 4 y 6 h de capacitación respecto del fresco en espermatozoides con 2 parámetros de hiperactivación (panel **B**). Los datos representan las medias y errores estandar de al menos 3 experiementos independientes. Se analizaron las diferencias significativas: [*(p<=0.05); [**(p<=0.01); [***(p<=0.001)]

Nuestros resultados muestran que en los dos medios utilizados a las 2h de capacitación no se observaron espermatozoides hiperactivados con los 3 parámetros que la definen, es decir, con una VCL mayor a 150 µm/s, una LIN menor a 50% y una ALH ≥ 7 µm, sin embargo sí observamos espermatozoides hiperactivados con 2 de los 3 parámetros a partir de las 4 h de capacitación tanto en el medio HTF como en el M.

Reacción acrosomal

Una vez capacitados los espermatozoides se realizaron los ensayos de RA como se explicó en M&M. Para determinar el porcentaje de RA en espermatozoides, se hizo un conteo en placa de las células que presentaron fluorescencia en la región del acrosoma y de las que no (ver patrones en la Fig.1), los resultados obtenidos se expresan como porcentaje de RA (Fig. 7).

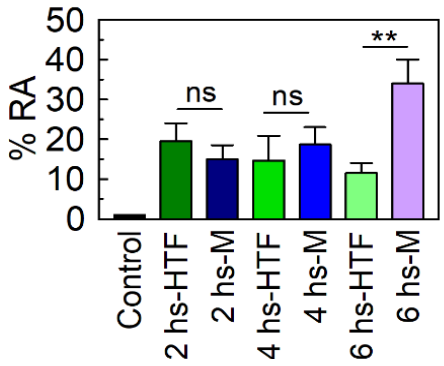


Figura 7. **Progesterona induce la reacción acrosomal en espermatozoides capacitados en el medio M durante 6 h**. Se muestran las medias y errores estándar de al menos 3 experiementos independientes. Se analizaron las diferencias significativas mediante el t-Test: [**(p<=0.01)]

Es importante destacar que progesterona solo puede estimular la RA en esperamatozoides capacitados, esto nos servirá como otra medida para evaluar el medio y el tiempo que mejor promueven la capacitación espermática.

De los resultados obtenidos podemos concluir que si bien progesterona indujo la RA en todas las condiciones experiementales probadas (2, 4 y 6 h de capacitación en los medios HTF y M), se observó un incremento mayor y significativo a las 6 h de capacitación en el medio M.

Motildad de espermatozoides en medios viscosos

Los resultados de este experimento fueron obtenidos tras capturar varias imágenes consecutivas para evaluar la motilidad de los espermatozoides en los diferentes medios viscosos estudiados. La motilidad espermática se evaluó visualmente en cada uno de los videos capturados, de esta manera se llegó a las conclusiones que se muestran en la figura 8.

Discusión

De los cuatro medios iniciales que propusimos estudiar, únicamente trabajamos con dos de ellos para presentarlos en este reporte por razones de tiempo, seleccionando los dos que pensamos podrían tener mejores resultados.

En cuanto a la motilidad, en la figura 4, mostramos que en ambos medios y a los diferentes tiempos de capacitación, el comportamiento fue similar, es decir, la mayoría de los espermatozoides presentaron una motilidad progresiva. Podemos destacar que en el medio HTF los mótiles progresivos van disminuyendo en cantidad a medida que se incrementa el tiempo de capacitación (figura 4, panel A, barra verde), sin embargo, en el medio M el porcentaje de mótiles progresivos se mantiene constante en el tiempo (figura 4, panel A´, barra verde). Además, podemos observar que en el medio HTF a medida que aumenta el tiempo de capacitación se incrementa el porcentaje de inmóviles (figura 4 A, barra roja), mientras que en el medio M no se modifica significativamente (figura 4, panel A´, barra roja).

De acuerdo a los resultados obtenidos, los medios HTF y M presentan un mayor número de espermatozoides hiperactivados a las 4 y 6 horas de capacitación esto se ve reflejado en las figuras 5 y 6, ya que, a las 4 horas, el porcentaje de células que presentan los 3 parámetros de hiperactivación es ligeramente mayor en el medio HTF, con un casi 4 %, esto es el doble del porcentaje de células que tienen los mismos parámetros pero a las 6 horas.

Fluido no viscoso	MRH	Desplazamiento rápido y se salen del campo
Metilcelulosa (4000-6000 cP)	2%	Desplazamineto mas lento que en MRH pero se salen del campo
	3%	Desplazamiento disminuido, el 60% se queda en el campo
	3,5%	Desplazamiento disminuido, el 70% se queda en el campo
	4%	Desplazamiento disminuido, el 80% permanece en el campo
Polivinilpirrolidona (360000 kDa)	10%	Desplazamiento libre y rápido, se salen del campo y se observa que nadan "
	20%	50% se mantienen en el campo y parecen "vibrar" en su lugar
	30%	Desplazamiento lento, 60% se mantiene en el campo, nadan "agrupados" y presentan movimiento "vibratorio"
	40%	Totalmente inmoviles

Figura 8. Motilidad espermática en los diferentes medios viscosos.

Sin embargo observamos diferencias significativas en los espermatozoides hiperactivados con solo dos parámetros de los tres estudiados con un total del 25 % en el medio HTF a las 4 horas, mientras que el mismo porcentaje se presentan a las 6 horas en el medio M, esto podría deberse a que en el medio M hay una mayor concentración de Na-Piruvato y glucosa, esto quiere decir que los espermatozoides pueden tener una mayor cantidad de energía para un periodo más prolongado.

En los estudios de RA se observó que la progesterona incrementó la reacción en los dos medios en todas las condiciones experimentales probadas, sin embargo se observó un incremento mayor y significativo a las 6 horas de capacitación en el medio de cultivo M (figura 7, barra lila), con un valor aproximado de 35 % de células reaccionadas, en contraste con el valor máximo alcanzado en el medio HTF del orden del 20 % en las primeras dos horas de capacitación (figura 7 barra verde).

Por último, buscando un medio viscoso que nos permita en un futuro estudiar la fisiología del espermatozoide en condiciones semi-fisiológicas o lo más parecesidas a éstas, se observa en la figura 8, donde describimos el comportamiento que tuvieron las células en los medios viscosos que se probaron, que los datos reportados tienen mucho sentido ya que al aumentar la concentración de las soluciones, las hacemos más viscosas, dificultando el movimiento de los espermatozoides a través de ellas. De las dos sustancias utilizadas para incrementar la viscosidad, podemos observar que la metil-celulosa al 4 % disminuye considerablemente la motilidad progresiva. Sin embargo cuando utilizamos PVP observamos algunas alteraciones como son las aglutinaciones, o nados agrupados, y las vibraciones en el lugar, lo que podría dificultar los estudios de nuestro interés. Cuando se llega al punto en el que las células permanecen inmóviles, como en el caso de la PVP al 40 %, se descarta este medio, de igual manera si los espermatozoides se mueven libremente porque no se mimetiza el medio genital femenino que como recordamos, uno de los objetivos es precisamente ese, intentar replicar la viscosidad que existe *in vivo* para estudiar la RA en espermatozoides, para ello, las células deben de mantenerse en un campo de registro y así poder monitorear la dinámica de la reacción, la cual se presenta en promedio durante los 15-20 minutos posteriores a la estimulación.

Conclusión

Con base en los resultados obtenidos, de los medios evaluados, el medio M propicia un mejor ambiente *in vitro* para capacitar los espermatozoides simulando la capacitación *in vivo*, que ocurre dentro del tracto genital femenino, esto debido al incremento significativo de células con motilidad hiperactivada, una motilidad progresiva elevada y un porcentaje de reacción acrosomal significativo cuando se incubaron con progesterona. En cuanto a los medios viscosos, la metil-celulosa al 4 % podría ser una buena alternativa para comenzar a mimetizar el ambiente del oviducto *in vitro* y poder estudiar distintos procesos importantes para la fecundación, por ejemplo, la dinámica de la RA en un ambiente más parecido al fisiológico.

Agradecimientos

Doy las gracias al Dr. De Blas, por permitirme trabajar en su laboratorio, agradezco a Espe y Rodo que siempre me apoyaron en cualquier cosa que necesitaba y al Instituto de Histología y Embriología, por abrirme sus puertas para la investigación.

Referencias

1. Guidobaldi, H., Hirohashi, N., Cubilla, M., Buffone, M., & Giojalas, L. 2017. An intact acrosome is required for the chemotactic response to progesterone in mouse spermatozoa. In Molecular Reproduction and Development (vol. 84).
2. Darszon, A., Nishigak, T., Beltan, C., & Treviño, C. 2011. Calcium Channels in the Development, Maturation and Function of Spermatozoa. En Physiol Rev (91 ed.).
3. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular Biology of the Cell. 4a edición.

New York: Garland Science; 2002. Sperm. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26914/

4. Darszon, A., Acevedo, J.J., Galindo, B.E., Hernandez-Gonzalez, E.O., Nishigaki, T., Trevino, C.L., Wood, C., y Beltran, C. 2006. Sperm channel diversity and functional multiplicity. Reproduction 131: 977-988.
5. Suarez, S. S. 2008. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. Int J Dev Biol 52: 455-462.
6. Gadella, B. M., Tsai, P. S., Boerke, A., and Brewis I. A. 2008. Sperm head membrane reorganisation during capacitation. Int J Dev Biol. 52: 473-480.
7. Darszon, A., Nishigaki, T., Beltran, C., & Treviño, C. 2011. Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. En Pgysiol Rev (91 ed., pp. 1305-1355). doi: 10.1152/physrev.00028.2010.
8. Yanagimachi, R. 1994. Mammalian fertilization, in the physiology of reproducction. In Press, R., (Ed), New York. pp 189-317
9. Hill, M.A. 2019. Embryology Fertilization. Recuperado el 5 Septiembre 2019, Disponible en: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Fertilization
10. Tung CK, Hu L, Fiore AG, Ardon F, Hickman DG, Gilbert RO, Suarez SS, Wu M. Microgrooves and fluid flows provide preferential passageways for sperm over pathogen Tritrichomonas foetus. Proc Natl Acad Sci USA. 2015; 112(17):5431–5436.
11. Jansen RP, Bajpai VK. Oviduct acid mucus glycoproteins in the estrous rabbit: ultrastructure and histochemistry. Biol Reprod. 1982; 26(1):155–168.
12. Dunn PF, Picologlou BF. Viscoelastic properties of cumulus oöphorus. Biorheology. 1976; 13(6):379–384.
13. Flores-Sánchez, I. 2018. Espermatobioscopia. Organización Mundial de la Salud 2010. Revista De Especialidades Médico-Quirúrgicas, (ISSSTE), 101-102. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/quirurgicas/rmq-2018/rmq182d.pdf
14. Jameel, T. 2008. Sperm swim-up: a simple and effective technique of semen processing for intrauterine insemination. In Journal of the Pakistan Medical Association (Vol. 58).
15. Leese HJ, Hugentobler SA, Gray SM, Morris DG, Sturmey RG, Whitear SL, Sreenan JM. 2008. Female reproductive tract fluids: composition, mechanism of formation and potential role in the developmental origins of health and disease. Reprod Fertil Dev. 20:1–8.

Identificación de kafirinas en heces de conejos en engorda.

Andrea Monserrat Jurado Rangel*; José Guadalupe Gómez Soto*.

*Área Cunícola (ARCUN-UAQ), Universidad Autónoma de Querétaro

(amjruaq@gmail.com; jose.gomez@uaq.mx)

Resumen

Las kafirinas son proteínas asociadas con la baja digestibilidad proteica del sorgo. Se determinó la presencia de kafirinas γ, α_1, α_2, β y δ en las heces blandas (cecotrofos) y duras de conejos en engorda alimentados con dietas elaboradas con sorgo y diferentes concentraciones de fibra detergente neutro (FDN), con el objetivo de determinar el efecto que tiene la cecotrofia y el nivel de FDN sobre la presencia de estas proteínas en las heces. Se emplearon 24 conejos en engorda y a través de la técnica de *Western blot* y geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) teñidos con azul de Coomassie R-250 se observó que a pesar del nivel de FDN y del proceso de cecotrofia, las kafirinas siguen estando presentes en las heces blandas y duras, por lo que no son digeridas y absorbidas en el tracto gastrointestinal totalmente.

Summary

Kafirins are proteins associated with low protein digestibility of sorghum. It was determinated the presence of γ, α1, α2, β and δ kafirins in the soft feces (caecotrophes) and hard feces of fattening rabbits fed with diets elaborated with sorghum and different concentrations of neutral detergent fiber (FDN), with the objective of determinate the effect cecotrophy and the level of the FDN on the presence of these proteins on the feces. 24 fattening rabbits were used and through *Western blot* method and polyacrylamide gels (SDS-PAGE) stained with Coomassie Brilliant Blue R-250 it was observed in spite of the level of FDN and the process of caecotrophy the kafirins were still present in the hard and soft feces, so that they were not digested and fully absorbed in the gastrointestinal tract.

Palabras clave

Cecotrofos, heces duras, kafirinas, cunicultura.

Key words

Caecotrophes, hard feces, kafirins, cuniculture.

Introducción

En la actualidad hay 7´700 millones de habitantes en el planeta (Wordometers, 2019), de los cuales 134 millones viven en México (Countrymeters, 2019), y esta población necesita comer proteína de origen animal de calidad. Desafortunadamente no todos ellos tienen acceso a alimentos inocuos y de calidad nutrimental. La cunicultura surge como una solución para la inseguridad alimentaria en México, con la posibilidad de obtener carne con bajo contenido de grasa y alto contenido proteico de excelente calidad.

Un tema prioritario en las producciones ganaderas es la alimentación, ya que hasta 60% de los gastos totales de producción son destinados a este rubro. El sorgo (*Sorghum bicolor*) es el cereal más utilizado en México para la alimentación animal debido a que es cultivado en áreas secas y de baja humedad (Rakshit *et al*., 2014), en promedio algunas de sus características químicas son: proteína cruda: 8.9%, extracto etéreo: 3%, fibra cruda: 2.3%, fibra detergente neutra: 8.8%, fibra detergente ácida: 4.5%, almidón: 64.2% (FEDNA, 2016).

Dentro de las proteínas que contiene en el endospermo podemos encontrar las kafirinas, que se compone de una fracción soluble en alcohol y otra soluble en condiciones no reductoras; además de las kafirinas, otro componente importante son los taninos, pues fijan las proteínas del grano e inhiben

la acción de la amilasa, disminuyendo la eficiencia alimentaria entre el 10 y el 30% (Chessa, 2007).

En el caso específico del conejo se lleva a cabo un proceso llamado cecotrofia, que consiste en la auto ingesta de heces blandas. Los cecotrofos, o heces blandas, son el resultado de la primera digestión del alimento; estas heces son ingeridas por el mismo conejo directamente de su ano y se repite el proceso de digestión para aprovechar los nutrientes provenientes de la fermentación en el ciego del animal.

Sin embargo, para llevar a cabo correctamente esta fermentación el conejo necesita un porcentaje considerable de fibra en su dieta, ésta favorece la motilidad intestinal y evita la proliferación de microorganismos patógenos en el ciego durante la fermentación del alimento (Martínez, 2004).

El sorgo es el cereal más empleado en México para la alimentación animal. Existen pocos trabajos en conejos en México sobre alimentación y de igual manera sobre el aprovechamiento digestivo de las kafirinas en esta especie no hay información encontrada, por lo que es importante conocer qué ventajas digestivas tiene el conejo al realizar la cecotrofia sobre el aprovechamiento de las proteínas más abundantes del grano de sorgo y su relación con el nivel de FDN de la dieta.

Objetivo

Determinar el efecto de la cecotrofia y la cantidad de fibra detergente neutro ingerida sobre la presencia de kafirinas en cecotrofos y heces duras en conejos en engorda.

Metodología

Se emplearon 24 gazapos recién destetados (28 días de edad) de raza Nueva Zelanda, los cuáles fueron distribuidos aleatoriamente en 12 unidades experimentales (UE; 2 gazapos por UE). 4 UE se asignaron a cada una de las 3 dietas experimentales (Cuadro 1) con diferente nivel de FDN (28, 33 y 38 %, dietas o tratamientos experimentales 1, 2 y 3 respectivamente) y durante 42 días los conejos tuvieron libre acceso a dichas dietas. Semanalmente se colectaron heces duras (semanas 1, 2, 3 y 6 de engorda) por la mañana poniendo una malla metálica debajo de las jaulas y el mismo día de la colecta de estas heces se les colocó a los conejos en el cuello, por la tarde, un collarín tipo Isabelino para evitar la cecotrofia y al día siguiente se colectaron las heces blandas defecadas que estaban en la malla.

Cuadro 1. Composición química de las dietas experimentales.

Ingredientes (%)	Dietas experimentales		
	Tx1	Tx2	Tx3
Sorgo	18.5	19.0	18.4
Harina de alfalfa	21.0	24.9	6.7
Rastrojo de maíz	20.6	12.8	32.8
Pasta de soya	14.7	20.4	2.7
Pasta de canola	19.6	13.2	32.9
Melaza	5.0	7.0	5.0
Sal	0.5	0.5	0.5
Vitaminas[1]	0.2	0.2	0.2
Minerales[2]	0.1	0.1	0.1
Fosfato bicálcico	---	2.0	---
Carbonato cálcico	---	---	0.7
Energía digestible (MJ/kg MS)	11.7	11.7	11.7
Energía metabolizable (MJ/kg MS)	10.5	10.2	10.8
Fibra Detergente Neutro	28.0	33.0	38.0
Proteína cruda	16.0	16.0	16.0
Lisina	0.1	1.0	0.8
Treonina	0.7	0.8	0.7
Arginina	1.1	1.1	0.9
Calcio	0.7	1.2	0.7
Fósforo total	0.4	0.8	0.5
Sodio	0.2	0.2	0.2

[1]Cada kg de producto contiene: vitamina A 10.20 unidades internacionales (UI), vitamina D 1.98 UI, vitamina E 0.06 UI, vitamina K 1.20 mg, riboflavina (B2) 7.20 mg, vitamina B12 (cianocobalamina) 0.04 mg, colina 968.58 mg, niacina 36 mg, ácido pantoténico 16.55 mg, tiamina (B1) 0.30 mg, piridoxina (B6) 0.31 mg, biotina 0.08 mg, ácido fólico 0.75 mg.[2]Cada kg de producto contiene: sulfuro 0.02 %, cobalto 0.72 mg, cobre 14.4 mg, hierro 120 mg, manganeso 36 mg, selenio 0.30 mg, yodo 0.96 mg, zinc 144 mg, cloro 0.03%.

Las muestras colectadas se congelaron a -4º C hasta que fueron liofilizadas y posteriormente analizadas químicamente para colocar el mismo nivel de proteína cruda por carril al correr los geles; además las muestras se adicionaron con un agente reductor (Duodu et al., 2002) para ser utilizadas en el proceso de electroforesis.

Para el trabajo se utilizaron en total 24 geles (3 por semana y sus duplicados) de 1.5 mm de grosor

preparados con acrilamida al 15%. 12 geles fueron usados para electroforesis y teñidos con azul de Coomasie, éstos contenía en el primer carril 8 µl de marcador de peso molecular (Broad-Range SDS-PAGE Standards, Bio-Rad), en el segundo 12.5 µg de sorgo y en los restantes 8 pozos se colocaron 50 µg de proteína cruda por muestra, 2 por UE (cecotrofos y heces duras). Otros 12 geles fueron usados para el *Western blot*, en el primer carril se colocaron 12.6 µl de marcador de peso molecular (Kaleidoscope Prestained Standards, Bio-Rad), en el segundo carril 12.5 µg de sorgo y 8 pozos con 50 µg de muestra de heces cada uno.

La electroforesis se llevó a cabo a 110 voltios en un cuarto refrigerado para posteriormente teñir los primeros 12 geles con azul de Coomassie R-250 (Xiao et al., 2015). Los otros 12 geles fueron utilizados para llevar a cabo una transferencia húmeda de proteínas a una membrana de nitrocelulosa (Cat. 162-0115, Bio-Rad), activada previamente con solución de transferencia a 1x. La transferencia se llevó a cabo a 75 voltios por una hora. Posteriormente se sumergieron las membranas en *buffer* de bloqueo con leche descremada al 5% (Le Gall *et al*., 2005). Después del bloqueo se incubaron por 12 h con el primer anticuerpo policlonal anti kafirinas a una concentración de 1:600 (Gómez *et al*., 2017). Se prosiguió con 3 lavados con PBS-Tween previos a la incubación del segundo anticuerpo (anticuerpos anti IgG de burro contra conejo) a una concentración de 1:2000 (Gómez *et al*., 2017). Una vez realizados los últimos 3 lavados con PBS-Tween fueron revelados con el kit Vector-Novaret (SK-4800, Vector-Lab).

Resultados

En la Ilustración 1 se muestra un gel de electroforesis representativo de los 12 geles teñidos con azul de Coomassie; se observan proteínas que sugieren ser kafirinas debido a su peso molecular: α_1 (23- 25 kDa)[3] en las muestras de cecotrofos y β (18 kDa)[4] en las muestras de heces duras.

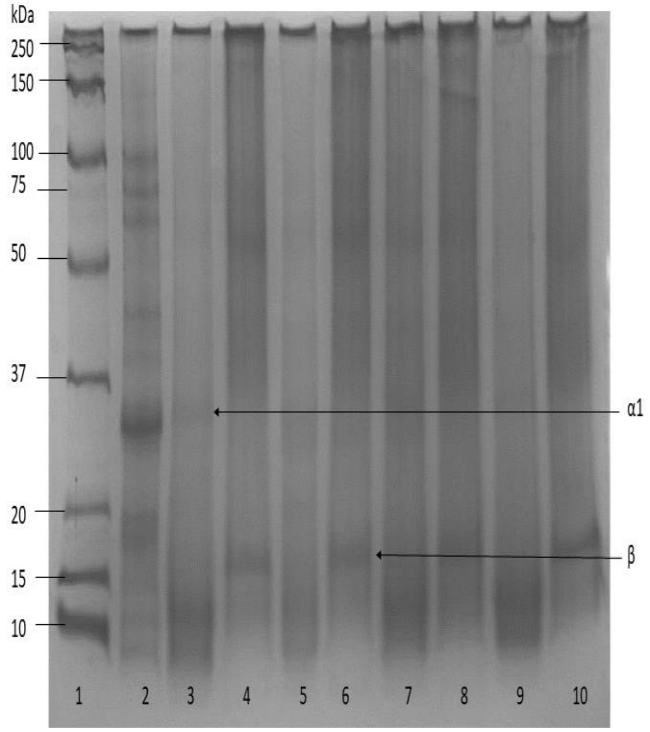


Ilustración 1. Gel de electroforesis con azul de Coomassie con proteínas no digeridas y absorbidas por los conejos alimentados con diferentes concentraciones de FDN, se observan proteínas que sugieren ser kafirinas. 1: Marcador de peso molecular; 2: Sorgo; 3, 5, 7, 9: Heces duras; 4, 6, 8, 10: Cecotrofos.

La Ilustración 2 muestra un *Western blot* representativo de los 12 geles realizados; en él se observa las fracciones de kafirinas detectadas por los anticuerpos.

Discusión

El sorgo es el cereal más utilizado para alimentar ganado en México (Mariscal-Landín et al., 2004) pero su fracción proteica no logra ser aprovechada en su totalidad debido a la precipitación de proteínas, producto de la interacción mediante puentes de hidrógeno y asociaciones no polares hidrofóbicas entre los taninos y las proteínas (Butler et al., 1984), por un lado, y por otro debido a las kafirinas.

En los geles teñidos con azul de Coomassie no se logran apreciar con claridad las distintas fracciones de kafirinas (γ, α_1 y α_2) lo que podría sugerirnos que fueron digeridas, sin embargo hay dos razones por las cuales esto se descarta, la primera es la limitada

capacidad de detección de proteínas que tiene el azul de Coomassie (Wester-meier, 2011); y la segunda es la unión del primer anticuerpo a las proteínas en Western blot pues nos confirma la presencia de las kafirinas en esa sección de peso molecular.

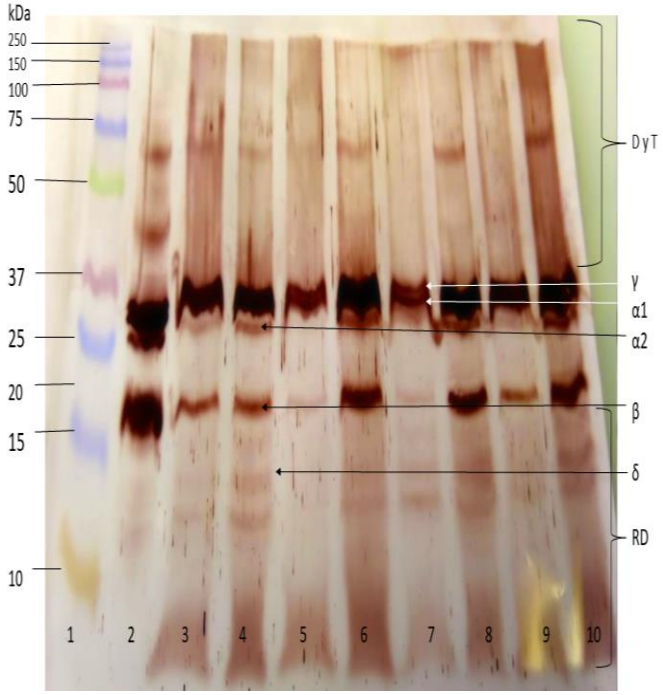


Ilustración 2. Western blot con fracciones de kafirinas no digeridas por los conejos alimentados con diferentes concentraciones de FDN en sus dietas. D y T: Dimeros y Trimeros de kafirinas; RD: Residuos de la digestión de kafirinas; 1: Kaleidoscope Prestained Standards; 2: Sorgo; 3, 5, 7, 9: Cecotrofos; 4, 6, 8, 10: Heces duras.

La presencia de dímeros y trímeros de kafirinas en el *Western blot* indica el entremado complejo en el que se encuentran estas proteínas, lo que dificulta su digestión y absorción. La fracción γ kafirina fue detectada tanto en cecotrofos como en heces duras, estas proteínas tienen la capacidad de formar enlaces disulfuro y complejos resistentes a proteasas (Wong *et al*., 2010) lo que explica por qué ni siquiera la fermentación en el ciego y la segunda ingesta logró volverla absorbible.

Un dato interesante en los *Western blots* es la mayor presencia de residuos de digestión en las muestras de heces duras a comparación de las muestras de cecotrofos, esto nos sugiere que la primera digestión a la que se ve expuesto el alimento no logra romper los enlaces proteicos de las kafirinas, sin embargo el segundo paso por el tracto gastrointestinal es más intenso y efectivo como lo menciona Martínez (2004), dejando en las heces mayores concentraciones de residuos de su digestión y menores concentraciones de proteínas intactas.

El Western blot también detectó la fracción δ kafirina cuyo peso molecular es de 13 kDa (De Mesa-Stonestreet *et al*., 2010) y cuya supresión en sorgo modificado resulta en un incremento de digestibilidad (Da Silva *et al*., 2011). Esta kafirina tampoco parece ser correctamente aprovechada puesto que se encontró en prácticamente todas las muestras.

Conclusión

El proceso de cecotrofia es pieza clave para la completa digestión de kafirinas, permitiendo al animal aprovechar parte de estas proteínas una vez realizada la segunda fermentación en el ciego a pesar de los efectos causados por los taninos y las mismas proteínas. El sorgo puede ser utilizado en las dietas para conejos siempre y cuando sea acompañado con un porcentaje correcto de fibra detergente neutro, no obstante, no se logró determinar si el porcentaje de FDN interfiere con el aprovechamiento de las kafirinas por lo que se debe continuar haciendo estudios para evaluar, según las condiciones de la cunicultura en el país, el contenido ideal de nutrientes que deben consumir los conejos en engorda. Las kafirinas a pesar de la cecotrofia siguen siendo indigestibles y absorbibles del todo en los conejos, independientemente del nivel de FDN de la dieta consumida.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Querétaro por esta inigualable experiencia; a los miembros del área Cunícola (ARCUN-UAQ) por recibirme con las puertas y los brazos abiertos; a Rolando Ramos por permitirme ser parte de su gran proyecto y a los Dres. José Guadalupe Gómez Soto y Ulisses Moreno Celis por su paciencia, consejos e invaluable guía.

Bibliografía

A. Chessa Fuente, “La calidad del sorgo como alimento animal”, Producción animal, 17(169):65-68, 2007. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/suplementacion/82-sorgo_taninos.pdf [Consultado en 2019].

Countrymeters, Población en México, Countrymeters, 2019. Disponible en: https://countrymeters.info/es/Mexico [Consultado en 2019].

FEDNA, “Sorgo blanco”, Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 2016. Disponible en: http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/sorgo-blanco-bajo-en-taninos [Consultado en 2019]

G. Mariscal-Landín, J. H. Avellaneda, S. T. C. Reis, B. A. Aguilera, G. A. Borbolla, B. Mar, Effect of tannins in sorghum on amino acid ileal digestibility and on trypsin (E.C.2.4.21.4) and chymotrypsin (E.C.2.4.21.1) activity of growing pigs. Anim Feed Sci Technol, 2004.

J. G. Gómez Soto, T. C. Reis de Souza, G. Mariscal-Landin, A. Aguilera Barreyro, M. G. Bernal Santos, K. Escobar García, Gastrointestinal morphophysiology and presence of kafirins in ileal digesta ingrowing pigs fed sorghum-based diets, Journal of Applied Animal Research, 46:1, 618-625, DOI: 10.1080/09712119.2017.1371607. Disponible en: https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1371607 ,2017-2018 [Consultado en 2019].

J. H. Wong, D. B. Marx, J. D. Wilson, B. B. Buchanan, P. G. Lemaux, J. F. Pedersen, “Principal component analysis and biochemical characterization of protein and starch reveal primary targets for improving sorghum grain”, Plant Science. 179: 598-611. 2010.

K. G. Duodu, A. Nunes, I. Delgadillo, M. L. Parker, E. N. C. Mills, P. S, Belton, R. N. Taylor, “Effect of grain structure and cooking on sorghum and maizein vitroprotein digestibility”, Journal of Cereal Science. 35:161–174, 2002.

L. G. Butler, D. J. Riedl, D. G. Lebryk, H. J. Blytt, Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specifity and significance. J Am Oil Chem Soc. 61: 916-920. 1984.

J. N. De Mesa-Stonestreet, S. Alavi, S. R. Bean, Sorghum proteins: the concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. Journal Food Science, 2010.

L. S .da Silva, R. Jung; Z. Zhao, K. Glassman, J. Taylor, J. R. N. Taylor, “Effect of suppressing the synthesis of different kafirin sub-classes on grain endosperm texture, protein body structure and protein nutritional quality in improved sorghum lines”, Journal of Cereal Science, Vol. 54, Issue 1, Pages 160-167, July 2011. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521011000932 [Consultado en 2019].

J. Xiao, Y. Li, J. Li, A. P. Gonzalez, Q. Xia, Q. Huang, “Structure, morphology,and assembly of kafirin. J Agric Food Chem”, JOURNAL OF APPLIED ANIMAL RESEARCH 625, 63:216–224, 2015.

M. Le Gallet, L. Quillien, J. Guéguen, H. Rogniaux, B. Sève, Identification ofdietary and endogenous ileal protein losses in pigs by inmunoblottingand mass spectrometry. J Nutr. 135:1215–1222, 2005.

M. A. Martínez Castillo, Cunicultura, Segunda edición. Universidad Nacional Autónoma de México, 2004.

R. Westermeier, Electrophoresis in gel, Janson JC, editor. Proteinpurification. Principles, high resolution methods, and applications. Tercera edición. Hoboken, New Jersey, USA: Wiley, 2011.

S. Rakshit, K. Hariprasanna, S. Gomashe, K. N. Ganapathy, I. K. Das, O. V. Ramana, A. Dhandapani, J. V. Patil, “Changes in area, yield gains, and yield stab-ility of sorghum in mayor sorghum-producing countries”, 1970 to 2009.Crop Science. 54:1571–1584, 2014.

Worldometers. Población mundial. Worldometers, 2019. Disponible en:

https://www.worldometers.info/es/ [Consultado en 2019].

Bacterias antagonistas a *Botrytis cinerea* aisladas de flor del manzano

Rocío Crystabel López González, Ramón Álvar Martínez Peniche y *Juan Ramiro Pacheco Aguilar

Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, Colonia Las Campanas, C.P: 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro.
*juanramiro29@yahoo.com.mx

Resumen

Las enfermedades fúngicas que afectan a los frutos en la etapa poscosecha son una grave amenaza para la comercialización de alimentos. Usualmente estas enfermedades son controladas mediante la aplicación de antifúngicos químicos, sin embargo, se ha observado un aumento en la resistencia de algunos hongos, como *Botrytis cinerea,* causante de la pudrición gris en uva. Por lo que la implementación de otras medidas, como los microorganismos agentes de biocontrol constituye una alternativa prometedora. En el presente trabajo se aislaron y caracterizaron bacterias asociadas a flores de dos variedades de manzano (‘Joya’ y ‘Royal Gala’) durante dos años de cultivo; con la finalidad de encontrar poblaciones antagonistas a *Botrytis cinerea*. Los resultados mostraron bacterias del genero *Bacillus* género asociadas a las flores de ambas variedades en ambos años; en los ensayos antagonistas en fruto de uva, se observó que la bacteria *Bacillus velezensis*, aislada en ambos años presentó la mayor inhibición del crecimiento de *B. cinerea* (>75 %). Al analizar la producción de compuestos antifúngicos de *Bacillus velezensis*, se observó que tiene capacidad hemolítica y de producir sinderóforos, lo cual puede estar involucrado en su capacidad antagonista. Estos resultados muestran que los microorganismos asociados a la flor del manzano, contiene poblaciones de bacterias con potencial de biocontrol de hongos fitopatógenos.

Palabras clave: Pudrición gris, Vid, 16S ribosomal, Ecología microbiana.

Abstract

Fungal diseases that affect fruits in the post-harvest stage are a serious threat to the commercialization of food. Usually these diseases are controlled by the application of chemical antifungals, however, an increase in the resistance of some fungi, such as *Botrytis cinerea,* causal agent of gray rot in grapes, to these chemical treatments has been observed. Therefore, the implementation of other type of treatments, such as biocontrol agents, is a promising alternative for the control of these diseases. In this work, bacteria associated with flowers of two apple tree varieties (‘Joya’ and ‘Royal Gala’) were isolated and characterized during two years of cultivation; in order to find antagonistic populations of *Botrytis cinerea*, one of the main post-harvest phytopathogens. The results showed bacteria of the genus Bacillus genus associated with the flowers of both varieties in both years. In the grapefruit antagonist assay, it was observed that *Bacillus velezensis*, isolated in both years, showed the greatest inhibition of the growth of *B. cinerea* (> 75%). When analyzing the production of antifungal compounds of *Bacillus velezensis*, it was observed that it has hemolytic capacity and of producing syndophores, which may be involved in its antagonistic capacity. These results show that the microorganisms associated with the apple blossom contain populations of bacteria with biocontrol potential of phytopathogenic fungi.

Keywords: Gray rot, Grapevine, 16S ribosomal, Microbial ecology.

Introducción

Los hongos fitopatógenos se consideran la principal causa de pérdidas de frutas y verduras frescas en los niveles de poscosecha, distribución y consumo.

Uno de los principales enfoques para evitar el daño por estos fitopatógenos es el control químico, aplicado durante todo el cultivo hasta la cosecha. Sin embargo, las consecuencias del uso de estos fungicidas químicos como, el residuo de éstos en la fruta y el desarrollo de cepas de hongos resistentes, han llevado a la búsqueda de estrategias alternativas seguras y efectivas, como el control biológico basado en microorganismos (Spadaro y Droby, 2016).

Botrytis cinerea es uno de los fitopatógenos que ha presentado un aumento a la resistencia a múltiples fungicidas químicos como Piraclostrobin, Boscalida, Ciprodinil y Fenhexamida, los cuales son diferentes en su mecanismo de acción (Fernández-Ortuño *et al*., 2017). *B. cinerea*, es el agente causal del moho gris, principalmente en las uvas, y por cual es responsable de daños económicos significativos en viñedos en todo el mundo, además, que es un problema general en otros frutos como fresa, manzana, pera, kiwi, tomate, durazno y calabaza; siendo de igual manera para algunas hortalizas como brócoli, lechuga y coliflor (Singh y Sharma, 2018). Todo esto hace que *B. cinerea* sea considerado como un fitopatógeno de alto riesgo y uno de los principales blancos para el uso de agentes de biocontrol.

La búsqueda de los microorganismos de biocontrol, se ha centrado en el estudio de aquellos que están asociados a las plantas, debido a que éstas están constantemente colonizadas por una comunidad muy diversa de microorganismos. Por lo que han sido fuente de la mayoría de los agentes de biocontrol contra fitopatógenos. Esto se debe a que dentro de las interacciones que desarrollan para permanecer y colonizar a la planta se encuentran la producción de moléculas antimicrobianas como sideróforos y lipopeptidos (Usall, 2016). Actualmente, la hoja, es uno de los órganos más utilizado para la obtención de agentes de biocontrol, sin embargo, se conoce que otros órganos como las flores, cuentan con una amplia diversidad de bacterias y levaduras, de las cuales poco se conoce sobre su potencial antagonista contra hongos fitopatógenos (Shade, 2013). Por lo tanto el objetivo del presente trabajo fue aislar y caracterizar bacterias asociados a la flor en dos variedades de manzano (‘Joya’ y ‘Royal Gala’) durante dos ciclos de cultivo (año 2017 y 2018) en Amealco Qro, con el propósito de conocer la población de bacterias antagonistas de *B. cinerea*.

Metodología

Sitio de muestreo

El muestreo se realizó en una huerta experimental del municipio de Amealco, Querétaro (20°09´LN, 100°07 LO y 2279 msnm) durante el mes de Febrero en los años 2017 y 2018, donde de tres árboles de la variedad ‘Joya’ y ‘Royal Gala’ se tomó un corimbo de flor de manzano de cada árbol (Fig.1).

Aislamiento, clasificación e identificación de bacterias

Los corimbos se colocaron en bolsas de polietileno estériles a las cuales se agregaron 10 ml de buffer para remover los microorganismos epífitos (1 L de agua destilada contiene 6.75 g KH_2PO_4 and 8.75 g K_2HPO_4). Las muestras fueron sonicadas (Branson 5510, 135 W, 42 KHz) durante 5 minutos y agitadas a 600 rpm por 10 minutos. Posteriormente, el buffer de lavado obtenido se centrifugó a 5000 rpm por 10 minutos para recuperar la pastilla microbiana. Se adicionó 1 mL de solución salina (0.85 % de NaCl) para resuspender la pastilla (Desgarennes *et al*., 2014 and Burch *et al*., 2016). Se inocularon 100 µL de la solución en placas Petri con agar nutritivo (AN, Dibico, México) con antibiótico (50 mg/L Fluconazol (PiSA, Mexico) para limitar el crecimiento de hongos y levaduras, las placas se incubaron a temperatura ambiente (aproximadamente 28°C) por una semana. Las diferentes colonias observadas se transfirieron a una nueva caja con AN, hasta obtener cepas puras. Las cepas puras fueron clasificadas en morfotipos en base a la morfología colonial (forma, color, borde y elevación) morfología celular y pruebas bioquímicas (Agar Lisina Hierro, Agar Triple Azúcar Hierro y Citraro de Simons).

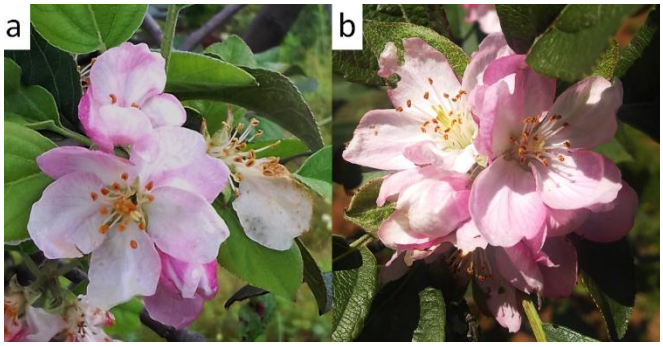


Figura 1. Corimbos de flores de las variedades 'Joya' (a) y 'Royal Gala' (b), colectadas en Amealco, Qro.

De cada morfotipo se seleccionó una cepa característica para la identificación molecular mediante la amplificación del 16S ribosomal. El ADN se obtuvo mediante el kit Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep (Zymo Research, EUA). El 16S fue amplificado mediante PCR en una reacción de 25 µL que contenía: 1X REDian™ 2X PCR Master Mix, 5 ng/µL de DNA y 10 mM de los cebadores 27F (5'- AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3') and 1492R (5'- TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T -3') (Fredriksson *et al*., 2013). El programa de PCR tuvo una desnaturalización inicial de 6 minutos a 95 °C, 40 ciclos de desnaturalización por 30 segundos a 95 °C, 30 segundos de alineamiento a 50 °C, 60 segundos de extensión a 72 °C; seguido de una extensión final por 10 minutos a 72 °C. Los amplicones de PCR obtenidos fueron purificados mediante el kit DNA Clean and Concentrator™ (Zymo Research, EUA) y secuenciados mediante la tecnología Sanger en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO, México). Las secuencias obtenidas fueron comparadas en la base de datos de secuencias genéticas GenBank (EUA). Todas las cepas identificadas en este estudio están preservadas en el Laboratorio de Biotecnología Agrícola de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Pruebas de antagonismo contra *Botrytis cinerea*

Para determinar la actividad antagonista en fruto, se analizó su actividad en uva blanca sin semilla de la variedad 'Great Green™'. El inóculo de las bacterias se obtuvo mediante la inoculación de una colonia en medio Caldo Nutritivo (CN) y se incubó a temperatura ambiente (aproximadamente 28°C) en agitación constante a 400 rpm durante 24 horas. Las esporas para el inoculo de *B. cinerea* 134 se obtuvo del crecimiento del hongos en medio NYDA hasta lograr la esporulación (10 días). Las concentraciones final a utilizar del hongo fue $1x10^4$ esporas/mL y de las bacterias, $1x10^7$ células/mL. Los frutos fueron desinfectados mediante lavados consecutivos de 5 minutos en etanol al 90 %, 1 minuto en hipoclorito de sodio al 1 %, 1 minuto en etanol al 70 % y finalmente tres lavado con agua estéril. Posteriormente se hizo una perforación (5 mm x 3 mm) mediante un sacabocado en la zona ecuatorial de los frutos. 20 µL de la solución de levadura fueron colocados en la perforación y se dejaron reposar por 30 minutos, consecuentemente se colocaron 20 µL del hongo. Los frutos se colocaron en una cámara húmeda y se incubaron a temperatura ambiente (28°C) por una semana. Cada ensayo se realizó por quintuplicado, así como, el testigo del hongo sin la presencia de bacteria. La actividad antagonista se expresó como porcentaje de reducción de la lesión en fruto (PRL) en relación con el control positivo. PRL (%) = [(D1-D2) / D1] x 100, donde D1 es el diámetro de la lesión de control positivo (*B. cinerea*) y D2 es el diámetro de la lesión producida por la co-inoculación de la bacteria y el hongo.

Evaluación de producción de compuestos antifungicos

Se determinó la capacidad de producir sideróforos y compuestos hemolíticos de las bacterias que mostraron disminuir el daño en fruto por *B. cinerea*. La producción de sideróforos se determinó usando el ensayo Chrome azuril S (CAS) (Schwyn y Neilands, 1987). Se inoculó por estriado a partir de un cultivo activo, las bacterias que causaron un cambio de coloración del medio de azul a amarillo después de 3 días de incubación a temperatura ambiente, se consideraron positivos para la producción de sideróforos. La actividad hemolítica se evaluó en placas de agar sangre (MCD LAB, México). Se tomó un inóculo de las cepas de bacterias de un cultivo activo y se estrió en el

medio, las placas se incubaron a 30 ° C durante tres días. Las bacterias que producían halos traslucidos alrededor del crecimiento de la colonia, fueron considerados como positivos para actividad hemolítica.

Análisis estadísticos

Se estimó la abundancia relativa de cada especie de bacteria aislada, del corimbo de flor de cada variedad en estudio, en ambos años. Los porcentajes de inhibición obtenidos en el ensayo de antagonismo, se transformaron a grados angulares para su análisis mediante una prueba de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey. Todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico de R (R Core Team 2013).

Resultados

Identificación y distribución de las bacterias asociadas a la flor del manzano

De las muestras colectadas por año y en base a la caracterización realizada, se lograron clasificar los aislados del año 2017 en 6 morfotipos y en el año 2018, se observó un aumento en el número de morfotipos, clasificando en 10 morfotipos los diferentes aislados obtenidos. En la población de bacterias del año 2017 se clasificaron en 5 géneros; *Plantibacter*, *Leucobacter*, *Bacillus*, *Psychrobacillus* y *Paenarthrobacter*, siendo la especie *Plantibacter flavus* M3, la más abundante en las flores de ambas variedades para este año (Fig. 2). Para el año 2018, la población de bacterias se clasificó en 9 géneros; *Rahnell*a, *Brachybacterium*, *Arthrobacter*, *Paenibacillus*, *Massilia*, *Curtobacterium*, *Microbacterium*, *Staphylococcus* y *Bacillus*. Se encontró en este año, que a diferencia del año 2017, las bacteria dominante fue diferente en cada variedad, siendo *Brachybacterium faecium* M3 la cepa para la variedad 'Joya' y *Staphylococcus saprophyticus* M12 para 'Royal Gala'. También se observó que el género *Bacillus* fue el único que se encontró constante para ambos años y en ambas variedades; encontrando que la bacteria *Bacillus velezensis* fue la única especie encontrada en ambos años, siendo menor la abundancia para el año 2018 (Fig. 2).

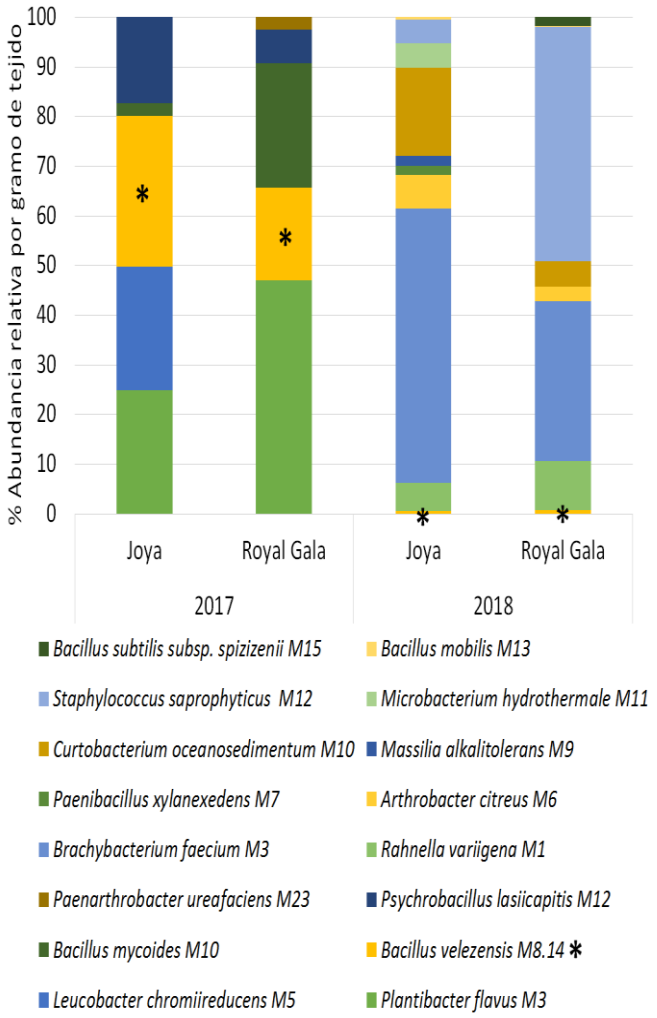


Figura 2. Abundancias relativas de las especies de bacterias asociadas a la flor de la variedad 'Joya' y 'Royal Gala' en dos años de cultivo. Se señala con asterisco la bacteria *Bacillus velezensis* con mayor actividad antagonista.

Potencial antagonista de bacterias contra *Botrytis cinerea*

Los resultados de las bacterias que mostraron capacidad de disminuir el daño causado por *B. cinerea* 134 en fruto, por arriba del 5 % se muestran en la tabla 1 y figura 3. Se encontró que un 33.3 % de las bacterias del año 2017 lograron actividad de disminuir a *B. cinerea* en comparación al crecimiento obtenido en el control (Fig. 3, A). En comparación, para el año 2018, fue mayor el

porcentaje de bacterias de la población caracterizada, encontrando que un 90 % logró disminuir el daño en fruto.

Para ambos años, la cepa identificada como *Bacillus velezensis* (Fig.2, barras con asterisco), fue la cepa con mayor capacidad de disminuir el daño, dentro de la población de bacterias, encontrando valores por arriba del 75 % (Tabla 1, Fig. 3, D y E).

Tabla 1. Actividad antagonista en uva, de bacterias aisladas de flor durante dos ciclos de cultivo, contra *B. cinerea* 134.

BACTERIA	AÑO	INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO EN FRUTO (PRL %)
P. flavus M3	2017	9.1±2.6[a]
B. velezensis M8		75.2±2.3[b]
R. variigena M1	2018	7.8±4.4[a]
B. velezensis M14		75.6±2.6[b]
A. citreus M6		6.3±4.4[a]
P. xylanexedens M7		15.1±10.7[a]
C. oceanosedimentum M10		10.1±4.4[a]
M. hydrothermale M11		12.4±6.0[a]
S. saprophyticus M12		10.0±5.2[a]
B. mobilis M13		12.9±8.6[a]
B. subtilis subsp. spizizenii M15		5.1±3.7[a]

[ab] Letras diferentes por columna indican diferencias significativas (Prueba de Tukey-Kramer al 95%).

Al realizar la caracterización de compuestos antifúngicos, como se moléculas hemolíticas y sideróforos, se observó que la cepa de *Bacillus velezensis* fue la que mostró tener mayor producción de compuestos con capacidad hemolítica (Fig. 4, A), los cuales podrían ser de naturaleza lipopéptica. En la evaluación del crecimiento en medio CAS, se observó de igual manera que esta cepa produce sideróforos quelantes del hierro (Fig. 4, B).



Figura 3. Ensayos de antagonismo en fruto contra *B. cinerea* 134. A) Control Positivo (*B. cinerea 134*); B) Control Negativo (agua); C) *Leucobacter chromiireducens* M5; D) *Bacillus velezensis*, año 2017; E) *Bacillus velezensis*, año 2018.

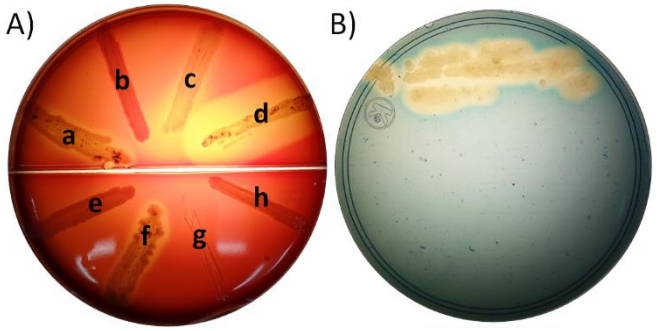


Figura 4. Producción de compuestos con actividad antifúngica evaluados. A) Actividad hemolítica en agar sangre; a: *B. mycoides*; b: *L. chromiireducen*; c: *B. subtilis*; d: *B. velezensis*; e: *P. xylanexedens*; f: *P. flavus*; g: *C. oceanosedimentum* y h: *M. hydrothermale*. B) Formación de halo en medio CAS por sideróforos bacterianos de *B. velezensis*.

Discusión y conclusiones

La comunidad de bacterias cultivables asociadas a las flores de las dos variedades de la manzana (*Malus domestica*) estuvo compuesto de 15 géneros; siendo *Plantibacter flavus* la especie dominante en la población del 2017, y hasta el momento esta especie no ha sido reportada como bacteria presente en flores; lo más cercano que se ha encontrado es la especie *Plantibacter cousiniae* en flores de la planta herbácea *Pulmonaria officinalis* (Jacquemyn *et al*., 2013). En el año 2018, la especie dominante fue diferente en cada variedad de manzano, encontrando que para en la variedad 'Joya' fue *Brachybacterium faecium*, al igual que *Plantibacter flavus*, esta especie no ha sido reportada como parte de la población de bacterias en flores, sin embargo, el géneros de *Brachybacterium* se ha encontrado asociado a flores de tomate, cuyo género es dominante y se mantiene hasta la formación de fruto (Ottesen *et al*., 2013). En la variedad 'Royal Gala', *Staphylococcus saprophyticus* fue la especie dominante, la cual no ha sido reportada en la microbiología floral u otros órganos de plantas, sin embargo el género de *Staphylococcus* es un género descrito como parte del microbioma del néctar de flores como la toronja y el almendro (Aizenberg-Gershtein *et al*., 2013).

Dentro de esta diversidad de géneros bacterianos asociados a las flores del manzano cultivado en Querétaro, fue *Bacillus*, el único que se encontró constantemente asociado a este órgano durante los dos ciclos de cultivo. La constante permanencia de este género en comparación a los otros, puede deberse a dos posibles razones: en primer lugar, *Bacillus* es también uno de los géneros dominantes y constantes en el suelo (Vasudevan *et al*., 2015), el cual ha sido reportado como uno de los principales géneros de la comunidad presente en los órganos aéreos de las plantas (Carvalh *et al*., 2018). En segundo lugar, se ha observado que las cepas de *Bacillus*, una vez presente en la superficie de las plantas, puede colonizar y permanecer asociado de una manera más efectiva que otros géneros de bacterias, debido a la formación de biofilm y a su capacidad de producir esporas (Zeriouh et al., 2014). Debido a esto, el género de *Bacillus,* es uno de los más encontrados en asociación con las plantas (Orozco-Mosqueda et al., 2018), sin embargo, no existen muchos reportes sobre la presencia de este género en flores, esto puede deberse principalmente a los pocos trabajos sobre microbiomas en flor. Un ejemplo es el estudio donde se estudió la composición bacteriana de las las flores de la planta herbácea *Asphodelus aestivus* (Samuni-Blank et al., 2014), donde se encontraron 16 especies del género *Bacillus*. En flores de manzana de la variedad 'Gala', se encontró que el género *Lactobacillus* fue el más abundante, no encontrándose el género *Bacillus*, a diferencia de las variedades del presente estudio.

Las especies de *Bacillus* se han utilizado ampliamente como agentes de control biológico en campos agrícolas debido a su capacidad para limitar el daño por hongos fitopatógenos en las plantas (Sang et al., 2017). Lo cual confirma lo encontrado dentro de la población de bacterias asociadas a las flores del manzano en estudio, ya que se observó que la mayor actividad antagonista contra *B. cinerea*, la obtuvo una cepa de este género, *Bacillus velezensis*, la cual se encontró ambos años. Esta bacteria no ha sido reportada como parte de alguna población bacteriana de flores, pero si como parte de la población de bacterias de algodón y de la suculenta *Echeveria laui* (Sang et al., 2017; Wang et al., 2017). *Bacillus velezensis* ha sido caracterizada como agente de biocontrol para diversos hongos fitopatógenos como *B. cinerea*, *Ralstonia solanacearum* y *Fusarium oxysporum* (Cao *et al*., 2018; Chun-Hao *et al*., 2018). Parte de su capacidad antagonista se ha ligado a la producción de compuestos con capacidad hemolítica como son los lipopéptidos (Adetomiwa et al., 2018); lo cual posiblemente también esté involucrado con la cepa de *Bacillus velezensis* aislada en el presente trabajo de las flores del manzano, ya que dio positivo para la actividad hemolítica. Además de esta capacidad hemolítica, también se observó la producción de sideróforos, los cuales también se han identificado en otras

cepas de *Bacillus velezensis*, por lo que además de ser utilizada como agente de biocontrol, también se ha probado como bacteria promotora del crecimiento, obteniendo resultados positivos en plantas como rábano, remolacha, pepino, calabaza y nabo (Melg *et al*., 2016).

En conclusión, las flores de las variedades de manzano 'Joya' y 'Royal Gala', están colonizadas por diversas bacterias, las cuales cambian en abundancia y tipo de bacteria dependiente de la variedad y año de cultivo. Encontrando dentro de estas poblaciones bacterias como *Bacillus velezensis*, que limitan el daño en fruto ocasionado por *B. cinerea*, uno de los principales hongos fitopatógenos poscosecha. Dentro de los posibles mecanismos involucrados en esta actividad antagonista se encuentran la producción de moléculas hemolíticas, como lipopeptidos; y quelantes como sideróforos.

Agradecimientos

JRPA agradece por la beca de RCLG proporcionado por CONACyT y al proyecto PROBLEMAS NACIONALES CONACYT PDCPN-2016 "Control Biológico de *Botrytis sp*. mediante levaduras con potencial enológico en Vid" Ref 3930. También agradecemos el apoyo del Dr. Juan Campos Guillén por las facilidades proporcionadas por su laboratorio.

Referencias bibliográficas

Adetomiwa, A., Oluwole, S., Olubukola, B. (2018). Selecting lipopeptide-producing, *Fusarium*-suppressing *Bacillus* spp.: Metabolomic and genomic probing of *Bacillus velezensis* NWUMFkBS10.5. *Microbiology Open*, 8, 1-21.

Aizenberg-Gershtein, Y., Izhaki, I., Halpern, M. (2013). Do Honeybees Shape the Bacterial Community Composition in Floral Nectar? *PLoS ONE*, 8, 1-9.

Carvalho, S.D., Castillo, J.A. (2018) Influence of Light on Plant–Phyllosphere Interaction. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1-16.

Cao, Y., Hualiang, Pi., Chandrangsu, Y., Yongtao, Li., Yuqi, Wang., Zhou, H., Xiong, H., Helmann, J., Cai, Y. (2018). Antagonism of Two Plant-Growth Promoting *Bacillus velezensis* Isolates Against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. *Scientific Reports*, 8, 1-14.

Chun-Hao, J., Meng-Jie, L., Hong-Kai, W., Ming-Zi, Z., Jian-Jun, X., Jian-Hua, G. (2018). *Bacillus velezensis*, a potential and efficient biocontrol agent in control of pepper gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 126, 147-157.

Fernández-Ortuño, D., Pérez-García, A., Torés, J., De Vicente, D. (2017). Resistencia a múltiples fungicidas en *Botrytis cinerea* en fresa. *Agricola Vergel*, 405, 327-330.

Fredriksson, N., Hermansson, M., Britt-Marie, W. (2013). The Choice of PCR Primers Has Great Impact on Assessments of Bacterial Community Diversity and Dynamics in a Wastewater Treatment Plant. *PLoS ONE*, 8, 1-20.

Jacquemyn, H., Lenaerts, M., Brys, R., Willems, K., Honnay, O. (2013) Among-Population Variation in Microbial Community Structure in the Floral Nectar of the Bee-Pollinated Forest Herb *Pulmonaria officinalis* L. *PLoS ONE*, 8, 1-12.

Meng, Q., He, J., Jianjun, J. (2016). Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biological Control*, 98, 18-26.

Ottesen, A. R., Peña, A. G., White, J. R., Pettengill, J. B., Li, C., Allard, S. Rideout, S., Allard, M., Hill, T., Evans, P., Strain, E., Musser, S., Knight, R. and Brown, E. (2013). Baseline survey of the anatomical microbial ecology of an important food plant: *Solanum lycopersicum* (tomato). *BMC Microbiology*. 13, 1-11.

Orozco-Mosquedaa, O., Rocha-Granados, M., Glickc, B., Santoyo, G. (2018). Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiological Research*, 208, 25-

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Samuni-Blank, M., Izhaki, I., Laviad, S., Bar-Massada, A., Gerchman, Y. (2014) The Role of Abiotic Environmental Conditions and Herbivory in Shaping Bacterial Community Composition in Floral Nectar, *PLoS ONE* 9, 1-12.

Sang, Y, Sang Y., Hang-Yeon, Weon., Mee, S., Jaekyeong, S. (2017). Complete genome sequence of *Bacillus velezensis* M75, a biocontrol agent against fungal plant pathogens, isolated from cotton waste. *Journal of Biotechnology*, 241, 112-115.

Schwyn, B., Neilands, J.B. (1987). Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160, 47-56.

Shade, D., McManus, P., Handelsman, J. (2013). Unexpected Diversity during Community Succession in the Apple Flower Microbiome. *mBio*, 4, 1-12.

Singh, D., Sharma, R. (2018). Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables and Their Management. *Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables*, 1, 1-52.

Spadaro, D., Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: The importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 39-49.

Usall, J., Torres, R., Teixido, N. (2016). Biological control of postharvest diseases on fruit: a suitable alternative? *Current Opinion in Food Science*, 11, 51-55.

Vasudevan, G., Siddarthan, V., Ramatchandirane, P.S. (2015). Predominance of *Bacillus* sp. in soil samples of the southern regions of Western Ghats, India. Annals of Microbiology, 65, 431-441.

Wang, B., Liu, H., Ma, H., Wang, C., Liu, K., Li, Y., Hou, Q., Ge, R., Zhang, T., Liu, F., Ma, J., Wang, Y., Wang, H., Xu, B., Yao, G., Xu, W., Fan, L., Ding, Y., Du, B. (2017). Complete genome sequence of biocontroller *Bacillus velezensis* strain JTYP2, isolated from leaves of *Echeveria laui*. *Genome Announcements*, 5, 1-2.

Zeriouh, H., De Vicente, A, Pérez-García, A., Romero, D. (2014). Surfactin triggers biofilm formation of *Bacillus subtilis* in melon phylloplane and contributes to the biocontrol activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 16, 2196-2211.

Evaluación de la promoción del crecimiento de sorgo en asociación con *Metarhizium*

Mendoza Cervantes María Guadalupe[1] Padilla Guerrero Israel Enrique[2]

[1]Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas S/N, C. P. 76010, Querétaro, Qro. gpe.mendoza.c@gmail.com

[2]Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de biología, Noria Alta S/N, Col. Noria Alta, C.P. 36050, Guanajuato, Gto. ie.padillaguerrero@ugto.mx

Resumen

Metarhizium es un hongo entomopatógeno del cuál recientemente se ha reportado su asociación simbiótica con raíces de plantas y capacidad de producir compuestos relacionados con la promoción del crecimiento vegetal. En el presente trabajo se evaluó la capacidad de 8 cepas de *Metarhizium brunneum* para promover el crecimiento de *Sorghum bicolor*. Semillas de sorgo fueron inoculadas con conidios de *M. brunneum*, sembradas y mantenidas en invernadero durante 21 días para después determinar longitud total, de raíz, de tallo y peso seco. Las plantas tratadas con la cepa AT3 presentaron diferencias significativas en longitud de tallo con respecto al control, siendo las tratadas con ésta cepa 37.67% más altas. Para los otros parámetros no se encontraron diferencias significativas.

Palabras clave *Metharizium brunneum*, promoción del crecimiento, *Sorghum bicolor*.

Abstract

Metarhizium is an entomopathogenic fungus of which its symbiotic association with plant roots and ability to produce compounds related to plant growth promotion has recently been reported. In the present work the capacity of 8 strains of *Metarhizium brunneum* to promote the growth of *Sorghum bicolor* was evaluated. Sorghum seeds were inoculated with conidia of *M. brunneum,* sown and kept in greenhouse for 21 days and then total length, root, stem and dry weight were determined. Plants treated with strain AT3 showed significant differences in stem length with respect to control, those treated with this strain were 37.67% higher. For the other parameters no significant differences were found.

Keywords

Metharizium brunneum, plant growth promotion, *Sorghum bicolor.*

Introducción.

Dentro de la aparición de nuevas tecnologías para mejorar los rendimientos de los cultivos y disminuir el impacto negativo al medio ambiente se encuentra el uso de productos biológicos como lo son los microorganismos promotores del crecimiento vegetal.

Las especies del género *Metarhizium* (Hypocreales: Clavicipitaceae) son hongos entomopatógenos, ampliamente reconocidos por su potencial de control biológico, pudiendo infectar a más de 200 especies, incluyendo por lo menos siete órdenes de insectos (Kepler et al., 2015). Sin embargo, también ha sido demostrado que el estilo de vida de *Metarhizium* no solo incluye parasito de insectos, sino que también coloniza la rizósfera de las plantas sobreviviedo como hongo saprofito y endófito vegetal (Liao et al., 2014; Jaber y Enkerli, 2017; Kepler et al.2015), agregados así a una lista de hongos que tienen estilos de vida bifuncionales como promotor del crecimiento de las plantas y entomopatógeno

Metarhizium es capaz de promoever el crecimiento de plantas de interés agrícola durante el crecimiento vegetativo temprano al permitir que se establezcan antes y, por lo tanto, superen potencialmente a los estresores bióticos y abióticos ambientales (Liao et al., 2014). Además, este hongo es capaz de traslocar a la planta nitrógeno proveniente de insectos que parasita (Behie et al., 2012) y produce ácido 3-indolacético (Liao et al., 2017) el cual es una

fitohormona tipo auxina, que ayuda al crecimiento y proliferación de las raíces de las plantas.

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de siete cepas de *M. brunneum* y una cepa de *M. pingshaense* nativas del estado de Guanajuato para promover el crecimiento de sorgo en invernadero.

Metodología

A. Obtención de conidios de las cepas de *M. brunneum*

Para el ensayo se utilizaron siete cepas de *M. brunneum* y una cepa de *M. pingshaense* nativas del estado de Guanajuato y pertenecientes a la Colección de Hongos Entomopatógenos del Laboratorio de Genética Molecular de Hongos, Universidad de Guanajuato. Las cepas se crecieron en medio M-100 2N a 26 °C por 12 días. Para colectar los conidios se utilizó una solución de Tritón X-100 al 0,1 % (Sigma-Aldrich®) se tomaron los conidios crecidos en caja Petri con una pipeta Pasteur estéril, se filtró con malla de fibra sintética para eliminar micelio y se realizaron 3 lavados con 30 mL de Tritón X-100 al 0.01%, finalmente se determinó la concentración de conidios/mL mediante la cuenta con hemocitómetro (Hausser Scientific®).

B. Ensayo en invernadero de la interacción *M. brunneum--Sorghum bicolor*

Para inocular las semillas de sorgo se preparó por triplicado una solución de conidios de cada una de las 8 cepas de concentración $1x10^8$ conidios mL^{-1} en Tritón X-100 al 0,01 %, esta solución se centrifugó para recuperar la pastilla celular, a la que se le adicionaron 250 µL de una solución de carboximetilcelulosa al 0.5 %; la suspensión resultante se agregó a un tubo que contenía 20 semillas de sorgo y se mezcló en vortex durante 1 minuto, para adherir $1x10^6$ conidios en cada una de las semillas.

Para la siembra se usó como sustrato Peat Moss esterilizado tres veces en autoclave 20 minutos, 121°C a 2 atm de presión, con el cual se llenaron macetas de plástico de 15x8 cm; en cada una se sembraron 16 semillas de sorgo, previamente tratadas con la solución de conidios y el adherente (solución saturada de carboximetilcelulosa), a 1 cm de profundidad. Después de la siembra cada maceta se regó con 100 mL de agua destilada y se incubaron en invernadero por 21 días manteniéndose un riego de 100 mL de agua destilada cada 48 horas.

Transcurridos los 21 días se analizaron las plantas que germinaron en las 3 macetas sembradas para cada cepa; las plantas se retiraron de las macetas y se lavaron con agua hasta la disgregación del suelo de las raíces para finalmente ser medidas y secadas a 50°C por 72 h determinándose así de cada planta: longitud total, longitud de raíz, longitud de tallo y peso seco.

C. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se consideró cada cepa como un tratamiento. Primero se hizo una comprobación de la distribución normal de los datos mediante la prueba de D'Agostino & Pearson y posteriormente un ANOVA de una vía y una prueba de Tukey de comparación múltiple a un nivel de significancia de 0.05 con el programa GraphPad Prism 8.2.0

Resultados

Mediante la prueba de D' Agostino & Pearson se comprobó que los datos cumplían con una distribución normal para todos los parámetros, por lo que se procedió a hacer la prueba de ANOVA para cada uno. Mediante dicha prueba se determinó diferencias significativas únicamente en Longitud de tallo (Tabla 1) y mediante una prueba de Tukey de comparaciones múltiples ($p=0.05$) se determinó que para este parámetro las plantas tratadas con la cepa AT3 son significativamente diferentes al control siendo las tratadas con AT3 37.67% más altas que las del control (Figura 1 y 2).

Tabla 1. Resultados de la prueba de ANOVA para los distintos parámetros.

Parámetro	F	P	R^2
Longitud total	1.293	0.2513	0.0653
Longitud de raíz	0.899	0.5191	0.0463
Longitud de tallo	2.681	0.0088	0.1266
Peso seco	0.4960	0.8576	0.0261

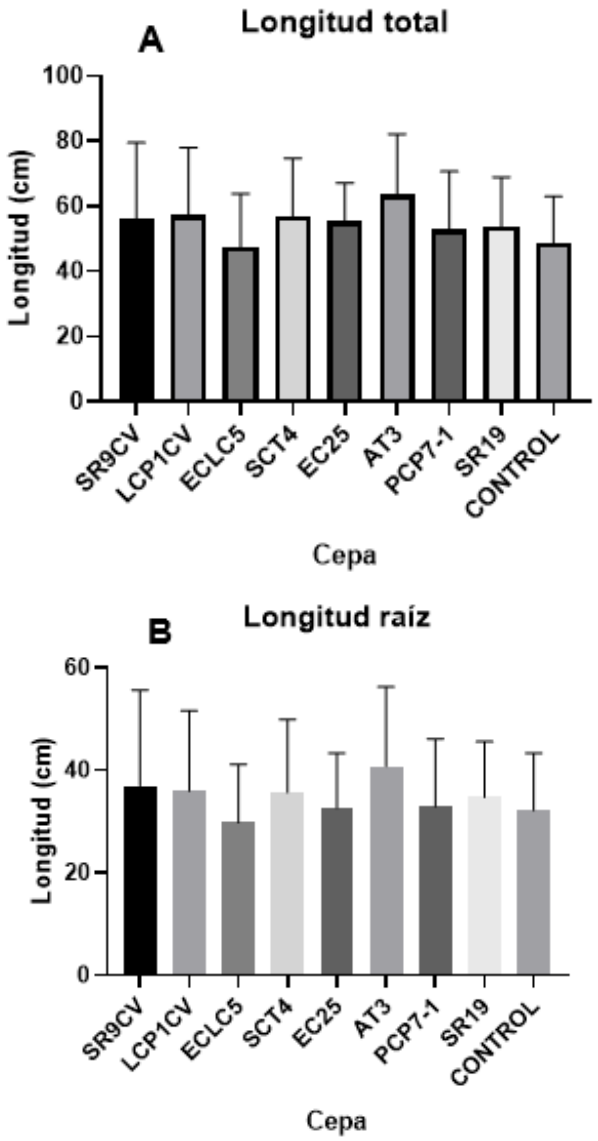


Figura 1. Comparación de los distintos tratamientos para: A) longitud total B) longitud de raíz.

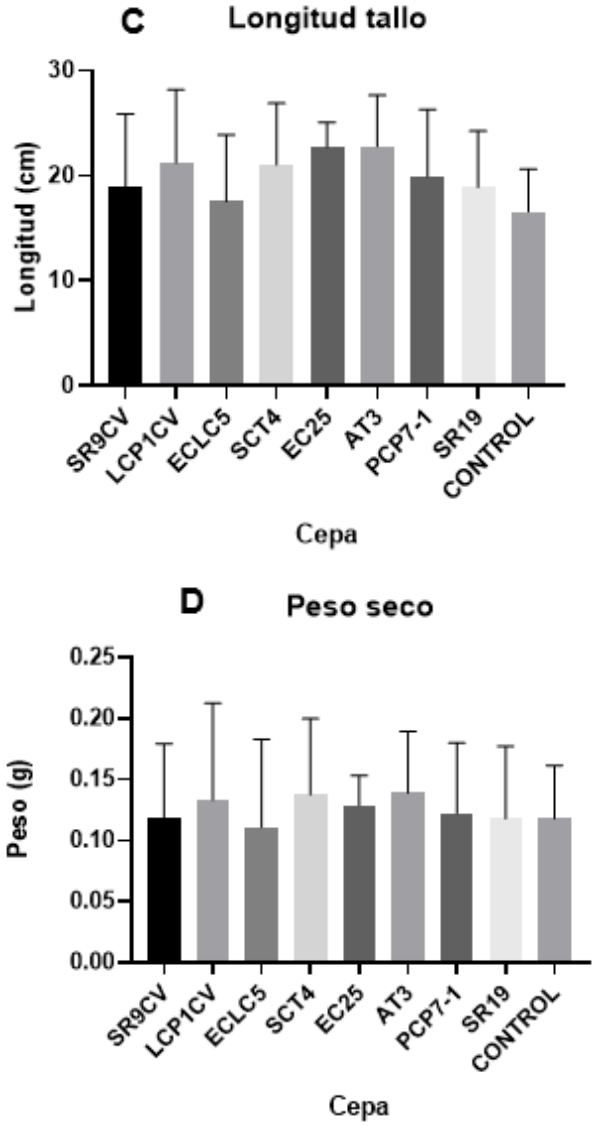


Figura 2. Comparación de los distintos tratamientos para: C) longitud de tallo D) Peso seco.

Discusión y Conclusiones.

La única cepa que tuvo efecto significativo en el crecimiento de sorgo fue la AT3 (*M. brunneum*) al promover la elongación del tallo, generándose plantas con una longitud de tallo 37.67% mayor a las plantas control. Estos datos sugieren que esta cepa podría estar secretando fitohormonas implicadas en la elongación del tallo como giberelinas (Miransari y Smith, 2014), lo que concuerda con los reportes de un aumento en el porcentaje de germinación de las semillas de sorgo cuando están en interacción

indirecta con cepas de *Metarhizium* ya que la principal fitohormona encargada de la germinación en plantas es el ácido giberélico (Hernandez-Gutierrez, 2016).

Para la longitud total, longitud de la raíz y peso seco no se encontraron diferencias significativas.

Sería conveniente evaluar si la cepa AT3 sí está produciendo fitohormonas al estar en interacción con las raíces de sorgo. Además, el estudio también debería realizarse dejándose más tiempo en interacción las plantas de sorgo con *M*. para evaluar el efecto en todo el ciclo fenológico del cultivo, así como en el rendimiento del grano.

Estudiar el efecto en el crecimiento vegetal de distintas cepas nos permite avanzar en la búsqueda de las mejores para ser aplicadas en campo como una alternativa al uso de agroquímicos y que ofrezcan al productor beneficios competentes al manejo convencional.

Referencias

Behie, S.W., Zelisko, P.M., y Bidochka, M.J. (2012). Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants *Science, 336*(6088), 1576-1577. doi: 10.1126/science.1222289.

Herrera-Gutiérrez, L. J. (2016). *Evaluación de la interacción de cepas de Metarhizium con Sorghum vulgare* (Tesis de licenciatura). Universidad de Guanajuato, Guanajuato.

Jaber, L.R., y Enkerli, J. (2017). Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? *Biocontrol science and technology 27*(1), 28-41. doi: 0.1080/09583157.2016.1243227

Kepler, R.M, Ugine, T.A., Maul, J.E., Cavigelli, M.A., y Rehner, S.A. (2015). Community composition and population genetics of insect pathogenic fungi in the genus *Metarhizium* from soils of a long-term agricultural research system. *Environmental microbiology, 17*(8), 2791-2804. doi: 10.1111/1462-2920.12778.

Liao, X., Lovett, B., Fang, W., y St Leger, R. J. (2017). *Metarhizium robertsii* produces indole-3 acetic acid, which promotes root growth in Arabidopsis and enhances virulence to insects. *Microbiology (Reading, England), 163*(7), 980. doi: 10.1099/mic.0.000494.

Liao, X., O'brien, T.R., Fang, W., y Leger, R.J.S. (2014). The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. *Applied microbiology and biotechnology 98*(16), 7089-7096. doi: 10.1007/s00253-014-5788-2.

Miransari, M., y Smith, D.L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany 99*, 110-121. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005

Evaluación de aguas residuales en jacaranda empleando sistemas acuapónicos.

Luis Alberto Montes Flores[1] correo: luis.m_97@hotmail.com
José Luis Vargas Ríos[1] correo: joshvargasm3@hotmail.com
Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez [1]
feregrino.angge@hotmail.com

[1] Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

La acuaponía es una estrategia en donde se busca aprovechar al máximo la energía en forma de nutrientes. En esta estrategia de integran dos diferentes métodos de cultivo: la acuicultura y la hidroponía. En estos sistemas se crea una especie de relación simbiótica entre los organismos acuáticos, las plantas y las bacterias. Las raíces de las plantas y las bacterias presentes contribuyen a remover los nutrientes del agua producidos por los peces. El objetivo de este proyecto es observar los efectos al usar como riego el agua residual de los sistemas de acuaponía en la *Jacaranda sp.* y como ésta se vería afectada en su crecimiento y desarrollo. El armado de dos sistemas distintos fue llevado a cabo dentro de un invernadero. Los sistemas consisten de tubos de PVC que conectan un tanque de agua al sistema de hidroponía creando un ciclo para recircular el fluido. Al finalizar el armado se realizaron pruebas en donde se detectaron goteras las cuales se espera que sean obstruidas por las sales del agua. Por lo tanto se espera que estos sistemas sean puestos en marcha próximamente.

Palabras clave: acuaponía, sistemas de riego, *Jacaranda sp.*

Abstract

Aquaponics is a strategy that aims to exploit the energy in nutrient form as much as possible. This technique seeks the integration of two different cultivation methods: aquaculture and hydroponics. In this systems a symbiotic relationship is created between the aquatic organisms, the plants and the bacteria. Plant roots and the present bacteria, help to remove the nutrients from water, which are made up by fish. The water that is used in this systems is rich in nutrients that are used by plants. The objective of this project is to view the effects of the aquaponic system residual water when is used to water *Jacaranda sp*. And the affectation in its growth and development. The assembly of two systems were made inside a greenhouse. The systems consist of PVC pipes that connect a water tank with the hydroponic system creating a cycle in which the fluid recycles. At the end of the assembly, proofs were made and water leaks were detected which we expect are going to be blocked by water salts. These systems are expected to be launched.

Key words: aquaponics, irrigation system, *Jacaranda sp.*

Introducción.

La acuaponía se puede definir como un sistema en el que se combina la acuicultura, el cultivo de animales acuáticos en ambientes controlados, con la hidroponía, el cultivo de plantas en soluciones nutrientes (Ramírez, 2017). En este sistema se busca aprovechar al máximo la energía mediante una relación simbiótica entre sus participantes (peces, plantas y bacterias). En estos el agua enriquecida por los peces con nutrientes se utiliza para fertilizar las plantas. Al mismo tiempo, las plantas actúan como biofiltro mejorando la calidad del agua al remover, con ayuda de bacterias, los nutrientes que pueden alcanzar niveles tóxicos para los peces. (Gutiérrez, 2012). Los nutrientes provienen principalmente de los desechos producidos por los peces. Los compuestos presentes en estos desechos son principalmente nitrógeno y fósforo ya que son constituyen gran parte del alimento (Dauda, 2018). Estos compuestos pueden son aprovechados por las plantas y utilizados para su desarrollo.

La jacaranda (*Jacaranda sp.*) es un grupo de plantas florales de la familia *Bignoniaceae* con un uso

enfocado principalmente para el ornamento. La jacaranda es nativa de regiones tropicales y subtropicales. Las flores aparecen dos veces por año siendo estas de un color azul violáceo. Algunas de las especies son utilizadas con fines medicinales en distintos países y estudios han revelado que posee características antimicrobianas, antipalúdicas, entre otras. Además previamente se han reportado el aislamiento de compuestos bioactivos de esta planta con actividad anticancerígena (Khamsan, 2012).

Los compuestos bioactivos son sustancias esenciales y no esenciales que se pueden encontrar en la naturaleza o pueden crearse por el procesamiento de alimentos o plantas. Éstas son capaces de ejercer beneficios para la salud entre ellos efectos antinflamatorio, antioxidante, antihipertensivos (Martín-Ortega, 2019). Los principales compuestos producidos por plantas son: saponinas, taninos, flavonoides, alkaloides, entre otros. Estos (Bernhoft, 2010).

Objetivos.

Objetivos Generales

- Establecer un sistema de recirculación acuapónico como sistema para el riego de jacarandas.

Objetivos particulares

- Diseño de un sistema acuapónico acoplado al riego de árboles.
- Construcción de un sistema acuapónico.
- Puesta en marcha del sistema acuapónico.

Metodología.

Se diseñaron los esquemas para la construcción de los sistemas acuapónicos en base al material proporcionado por el laboratorio de Bioingeniería del campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro. En base a estos diseños se construyeron dos tipos de sistemas de riego diferentes, un sistema de cama de tubos y un sistema piramidal de tubos.

Para la construcción de estos sistemas utilizaron materiales de PVC en general:

- Tubo de PVC de 4”
- Tubo de PVC de 2”
- Codos de 2”
- Conexiones “T” de 2”
- Conexiones de cruz 2”
- Llaves de paso de 2”
- Adaptadores de 4” a 2”
- Canastillas de plástico
- Tanques de agua (volumen varios)
- Filtro de agua
- Bomba sumergible de agua 450W
- Segueta
- Taladro
- Martillo
- Metro

Sistema de cama de tubos.

El sistema consiste en una serie de 10 tubos de 4” de PVC de aproximadamente 3.5 m de largo colocados horizontalmente sobre una estructura de metal. Estos tubos tenían orificios equidistantes hechos con un taladro en donde se ubicarán las plántulas. Los materiales necesarios para la construcción de este sistema fueron:

- 10 tubos de PVC de 4”
- 20 adaptadores de 4” a 2”
- 32 codos de 2”
- 12 conexiones “T” de 2”
- 2 Conexiones de cruz de 2”
- 1 llave de paso de PVC 2”
- 1 adaptador de 2” a 1 ½”
- Tubo de PVC de 2”
- Tubo de PVC de 1 ½”
- 1 codo de 1 ½”
- 1 llave de paso de PVC de 1 ½”
- Canastillas
- Filtro y soportes

El sistema conecta un filtro y un tanque de agua mediante tubos y conexiones de PVC como se muestra en la **Figura 1.**

Reporte de actividades Verano de la Ciencia UAQ

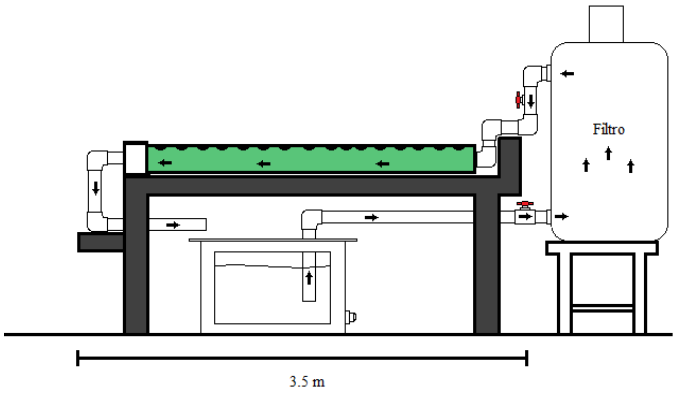


Fig.1 Diagrama de sistema de cama de tubos.

El tanque de agua utilizado era de aproximadamente 300 litros de agua en donde se pueden colocar distinto tipos de peces. El tanque utilizado se muestra en la **Figura 2.**



Fig.2 Tanque de agua del sistema de cama de tubos.

El filtro utilizado fue uno proporcionado, está compuesto por distintos materiales en su interior. Estos materiales están ordenados por niveles para, eliminar algunos desechos del agua que sale del tanque de peces. En el fondo se tenía pedazos de tubos de PVC, en seguida se tenía un nivel de esponjas y mayas, por último se tenía un nivel con piedras. El tanque se muestra en la **Figura 3.**



Fig.3 Filtro de agua. El agua del tanque de agua en donde se encuentran los peces entra por la parte inferior y posteriormente sale a los tubos con las plantas por la parte superior.

Sistema piramidal de tubos

Es un sistema de 11 tubos de 4” de PVC colocados a lo largo de un soporte piramidal. Se conectan mediante tubos de 2” al tanque de agua. Los materiales necesarios para la construcción de este sistema fueron:

- 11 tubos de PVC de 4”
- 22 adaptadores de 4” a 2”
- 25 codos de 2”
- 6 conexiones “T”
- 1 llave de paso de 2”
- Canastillas
- Soporte
-

El agua circula a través del sistema como se muestra en la **Figura 4 y 5.**

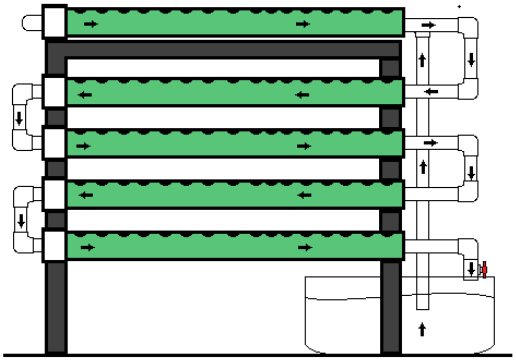


Fig.4 Diagrama de sistema de piramidal de tubos, vista frontal.

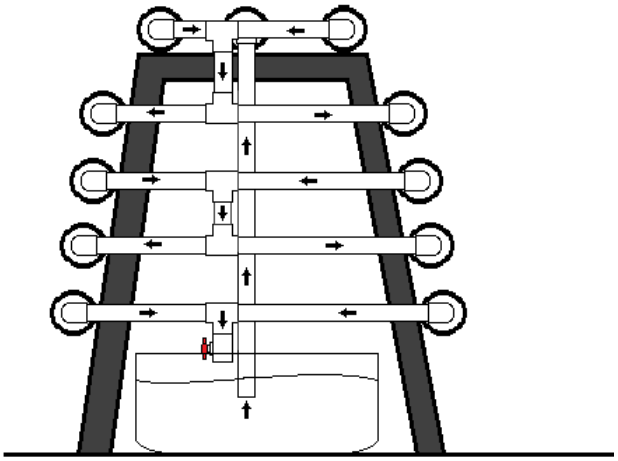


Fig.5 Diagrama de sistema de piramidal de tubos, vista lateral.

Pruebas de alimentación con agua
Posterior al armado, los sistemas fueron probados corriendo agua dentro de ellos utilizando una bomba sumergible de 450W. El objetivo de esto es observar e identificar posibles puntos en donde las piezas no hayan embonado bien y la pieza deba ser ajustada o sustituida.

En ambos sistemas el agua corre a través de los tubos que se muestran de color verde, la diferencia entre los dos sistemas radica en el recorrido que realiza el agua en el sistema antes de volver al tanque de agua.
En el sistema de cama de tubos una sola entrada de agua alimenta los diez tubos sin embargo el agua solo pasa a través de un tubo antes de regresar al tanque de agua. Por otro lado, aunque el sistema posee también una única entrada de agua, ésta tiene que recorrer al menos seis tubos antes de volver al tanque.

Resultados.

Por cuestiones de tiempo no se llegó a obtener resultados para presentar, sin embargo, se logró terminar la construcción del sistema de cama de tubos **Figura 6 y 7** y el sistema piramidal **Figura 8 y 9.**



Fig.6 Sistema de cama de tubos. Se puede observar los diez tubos y sus orificios con canastillas para las plantas.

.

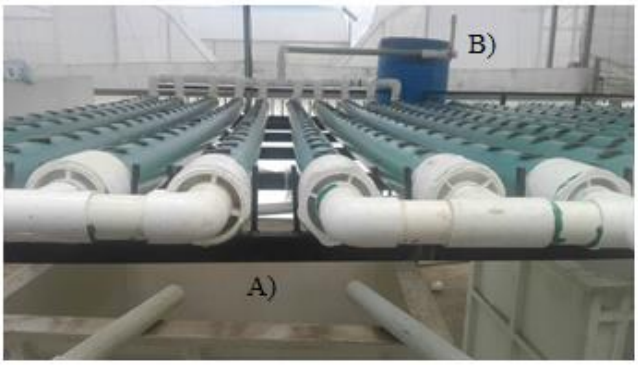


Fig.7 Sistema de cama de tubos. A) Tanque de agua para peces. B) Filtro de agua.



Fig.8 Sistema piramidal de tubos...



Fig.9 Sistema piramidal de tubos. Se muestran las conexiones entre los distintos niveles de tubos por donde corre el agua.

Posterior al armado, los sistemas se probaron haciendo correr agua por ellos con una bomba sumergible. Durante las pruebas se observó que uno de los sistemas presentaba fugas de agua, sin embargo, estas goteras no son un problema de mucha importancia, se espera que con el paso del tiempo las sales presentes en el agua del sistema se irán acumulando eliminando el goteo.

Discusión y conclusiones.

Los acuaponía es un método sostenible que ofrece un gran número de ventajas en áreas como agricultura, acuacultura produciendo tanto plantas como peces aptos para consumo, ambiental al ser amigable con el ambiente reciclando los desechos generados por peces, incluso en el área económica. Al construir estos sistemas acuapónicos se busca generar agua con los nutrientes generados por los peces. Esta agua además de servir como fuente de nutrientes a las plantas presentes en el sistema puede ser aplicada a plantas ajenas al sistema. De esta manera se buscaba observar los efectos que se presentaban en la jacaranda y en sus componentes al ser regada con agua de los sistemas. Sin embargo por la disposición del tiempo solo se logró concluir con dos sistemas acuapónicos distintos.

Agradecimientos.

Agradezco a la Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez por la oportunidad de contribuir en el proyecto, al Dr. Juan Fernando García Trejo y al equipo del laboratorio de Bioingeniería por el apoyo y su hospitalidad.

Referencias bibliográfica

Bernhoft, A. (2010). A brief review on bioactive compounds in plants. A. Bernhoft, 11-17.

Dauda, A. B., Ajadi, A., Tola-Fabunmi, A. S., & Akinwole, A. O. (2018). Waste production in aquaculture: Sources, components and managements in different culture systems. Aquaculture and Fisheries.

Gutiérrez, M. E. M. (2012). Sistemas de recirculación acuapónicos. Informador técnico, (76), 123-129.

Khamsan, S., Liawruangrath, S., Teerawutkulrag, A., Pyne, S., Garson, M., & Liawruangrath, B. (2012). The isolation of bioactive flavonoids from Jacaranda obtusifolia HBK ssp. rhombifolia (GFW Meijer) Gentry. Acta Pharmaceutica, 62(2), 181-190.

Martín Ortega, A. and Segura Campos, M. (2019). Bioactive Compounds as Therapeutic Alternatives. Bioactive Compounds, pp.247-264.

Ramirez, D., Sabogal, D., Jiménez, P., & Giraldo, H. H. (2017). La acuaponía: una alternativa orientada al desarrollo sostenible. Revista Facultad de Ciencias Básicas, 4(1-2), 32-51.

Caracterización patogénica de hongos epífitos aislados del fruto de manzana cv. 'Golden Delicious'

[1] Juan Pablo Orozco Martínez, [1] Rocío Crystabel López González y [1]*Juan Ramiro Pacheco Aguilar

[1]Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, Colonia Las Campanas, C.P: 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro.
*juanramiro29@yahoo.com.mx

Resumen

Las enfermedades fúngicas que afectan los cultivos de frutales han incrementado su tasa de infección y rango hacía nuevos hospederos. Esto puede deberse entre otros factores al uso intensivo de plaguicidas que generan resistencia en los hongos fitopatógenos. Por lo que es de suma importancia, la caracterización de las poblaciones fúngicas asociadas naturalmente a los frutos. De esta manera se podría evitar la propagación de agentes patógenos que puedan tener un efecto sinérgico (aumentar el daño) cuando están en presencia con el fitopatógeno principal. Por lo tanto el presente estudio, tuvo como objetivo, aislar y caracterizar el potencial fitopatógeno de la población de hongos epífitos, asociados de manera natural al fruto maduro de manzana durante su cultivo. Se lograron aislar11 morfotipos de hongos de la superficie de manzana de la variedad 'Golden Delicious', cultivada en el estado de Querétaro; los cuales fueron identificados mediante claves taxonómicas como pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*. Mediante los ensayos de infección en fruto, se observó que los aislados pertenecientes al género de *Penicillium* fueron los que causaron mayor diámetro de lesión (21> mm). Estos resultados muestran, que existen diversos géneros de hongos asociados de forma natural al fruto de la manzana, sin embargo, el género de *Penicillium* fue el más fitopatógeno, reiterando el riesgo que este representa para el cultivo de la manzana en la etapa poscosecha.

Palabras clave: *Penicillium*, *Aspergillus*, identificación taxonómica, hospedero.

Abstract

Fungal diseases that affect fruit crops have increased their infection rate and range to new hosts. This may be due, among other factors, to the intensive use of pesticides that generate resistance in phytopathogenic fungi. For what is of utmost importance, the characterization of the fungal populations naturally associated with the fruits. This could prevent the spread of pathogens that may have a synergistic effect (increase damage) when they are present with the main phytopathogen. Therefore, this study aimed to isolate and characterize the phytopathogenic potential of the population of epiphytic fungi, naturally associated with the ripe apple fruit during its cultivation. Were able to isolate 11 morphotypes of fungi from the apple surface of the 'Golden Delicious' variety, grown in the state of Querétaro; which were identified by taxonomic codes as belonging to the genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium*. Through the fruit infection tests, it was observed that the isolates belonging to the genus of *Penicillium* were the ones that caused the greatest diameter of the lesion (21> mm). These results show that there are various genera of fungi naturally associated with the fruit of the apple, however, the genus of *Penicillium* was the most phytopathogenic, reiterating the risk that this represents for the cultivation of the apple in the post-harvest stage.

Key words: *Penicillium*, *Aspergillus*, taxonomic identification, host.

Introducción

Los órganos de las plantas están en constante interacción con los microorganismos de su ambiente, los cuales ejercen relaciones benéficas, neutrales o patogénicas (Imam, Singh, y Shukla 2016). Dentro de los fitopatógenos de plantas, los hongos son los principales microorganismos que causan daño durante el cultivo y en etapa poscosecha, representando pérdidas económicas importantes de hasta un 13 % de las cosechas globales para la agricultura (Moore, Robson y Trinci, 2019).

Uno de los cultivos que puede verse afectado por hongos fitopatógenos es el manzano (*Malus domestica* Borkh), el cual, es un cultivo de clima templado y de importancia debido a su extenso consumo. La variedad 'Golden Delicious' es una de las variedades más populares de manzana y susceptible a *P. expansum*; fitopatógeno de poscosecha (Hermosillo, Quezada, Moreno, Pascual, Trejo, 2015). México es el decimotercer productor de manzana en el mundo, alcanzando la cifra de 716, 930 toneladas en 2016, representando el 0.68 % del PIB agrícola nacional, en donde Querétaro, forma parte de la Región 8 productora de manzana, la cual genera el 0.23 % de la producción nacional junto con los estados de Hidalgo, Tlaxcala y Estado de México (SAGARPA, 2016). Sin embargo, al igual que en las demás zonas productoras, los frutos en cosechados se ven afectados por hongos fitopatógenos, los cuales pueden estar presentes de forma natural desde el cultivo, causando pérdidas en poscosecha.

El presente estudio tuvo como objetivo identificar las poblaciones fúngicas obtenidas de la superficie de manzana de la variedad 'Golden Delicious' cultivada en Amealco, Querétaro, en la etapa de fruto maduro y determinar su posible capacidad patogénica en fruto.

Metodología

Material biológico

Se emplearon 11 hongos del cepario del Laboratorio de Biotecnología Agrícola de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. Los hongos fueron obtenidos del fruto maduro de la variedad de manzano 'Golden Delicious' cultivada en una huerta experimental del municipio de Amealco, Querétaro (20°09´LN, 100°07 LO y 2279 msnm) (Fig. 1). Los aislados de hongos fueron obtenidos mediante dilución y siembra en placa en medio Agar Papa Dextrosa (PDA, Dibico, México) con eritromicina (PiSA, Mexico) para limitar el crecimiento de bacterias. Las diferentes colonias observadas se transfirieron a una nueva caja con PDA, hasta obtener cepas puras. Las cepas puras fueron clasificadas en morfotipos en base a la morfología colonial (forma, color y borde).

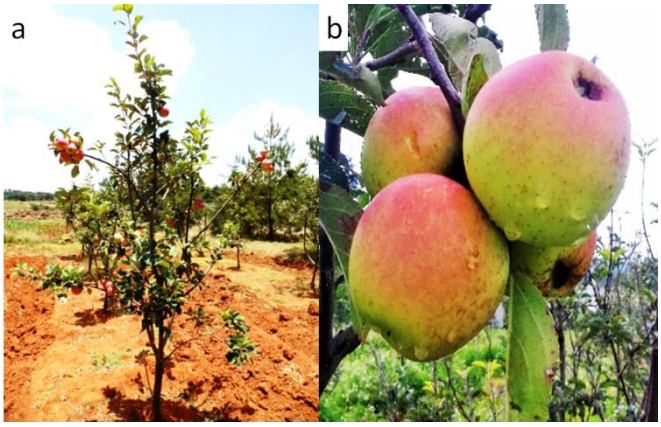


Figura 1. Sitio de muestreo en Amealco, Qro. a)Manzanos de 10 años de edad; b) Fruto de la variedad 'Golden Delicious' colectadas.

Identificación de hongos filamentosos

Con el objetivo de obtener un cultivo fúngico con esporas y así lograr identificara los hongos, los aislados fúngicos se inocularon en medios específicos para esporulación: agar nutritivo de levadura glucosa (NYDA g/L: caldo nutritivo 8.0, extracto de levadura 5.0, glucosa 10.0, agar 20.0); agar levadura-peptona-dextrosa 10 % (YPD g/L: Extracto de levadura 1.0, peptona de caseína 2.0,

glucosa 2.0, agar 15.0) y agar V8 (jugo V8 200 mL/L, carbonato de calcio 3 g/L, agar 15 g/L). Las cajas inoculadas se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días.

Posteriormente, para lograr observar la presencia de esporas en el cultivo, se hicieron frotis en ác. láctico. Las preparaciones se observaron a microscopio con aumento de 40X y se identificó la presencia de micelio y esporas, las cuales, se compararon con claves taxonómicas en base al posible género observado (Tabla 1) Para aquellos hongos en los cuales no fue posible la apreciación de estructuras en microscopio, se realizaron microcultivos, en medio PDA, incubándolos a temperatura ambiente durante 7 días. Posterior al tiempo de incubación, las muestras se observaron a microscopio con aumento de 40X y se compararon con claves taxonómicas descritas previamente.

Determinación de capacidad patogénica de hongos en fruto

Los frutos empleados para el ensayo de patogenicidad se desinfectaron en base al siguiente protocolo de lavado: se lavaron 5 min en etanol al 90 % v/v, 60 s en hipoclorito de sodio al 5% v/v, 60 s en etanol al 70% v/v y por último se enjuagaron con agua estéril. Con un horadador se realizaron 4 orificios (5 mm x 3 mm) en cada fruto en el diámetro ecuatorial, donde posteriormente se realizó la inoculación de cada hongo, utilizando micelio activo, de 5 días de crecimiento en placas de agar PDA. Como control positivo se inoculó *Penicillium expansum* (previamente caracterizado como fitopatógeno de manzana) y como control negativo se inoculó agua estéril. Los frutos se colocaron en una cámara húmeda, incubándolas durante diez días. Posterior al tiempo de incubación, se evaluó el diámetro del daño provocado por el hongo en milímetros (mm).

Resultados

Como puede observarse en la Tabla 1, de un total de once hongos aislados del fruto maduro de la variedad de 'Golden Delicious', fue posible identificar diez a nivel de género. Solo no logrando identificar el aislado H12GDE3 2018 debido a la ausencia de esporas en los cultivos. El medio de cultivo que mejor funcionó en la activación de los hongos fue el medio NYDA. De los diez hongos identificados, cuatro correspondieron al género *Aspergillus*; tres al género *Cladosporium*; dos al género *Penicillium* y uno al género *Alternaria* (Tabla 1, Fig. 2).

Tabla 1. Clasificación por género de los morfotipos de hongos aislados del fruto maduro de 'Golden Delicious'

Género	Morfotipo	Literatura de identificación
Alternaria	H8GDE3 2018	Ellis, 1993
Aspergillus	H4GDE3 2018; H9GDE3 2018; H10GDE3 2018; H11GDE3 2018	Klich, 1988.
Cladosporium	H2GDE3 2018; H5GDE3 2018; H7GDE3 2018	Mercado et al., 1997;
Penicillium	H3GDE3 2018, H6GDE3 2018	Pitt, 1991.

Los resultados de los ensayos de patogenicidad en fruto pueden observarse en la Tabla 2. El diámetro de daño en fruto por los hongos va desde 3 mm hasta 37.3 mm, siendo este último el encontrado para el morfotipo H6GDE3 2018, clasificado como *Penicillium*, y siendo aún mayor que el de la cepa control.

Cuatro de los once hongos fueron identificados como *Aspergilus*, los cuales generaron diámetros de daño entre 8.3 a 17.7 mm. Los tres hongos

identificados como *Cladosporium* provocaron diámetros de daño entre 3.0 y 10.0 mm.

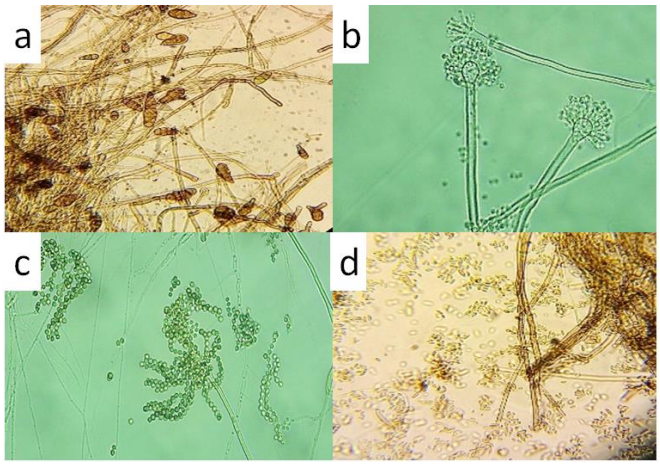


Figura 2. Micrografías a 40X, de los géneros que conforman la población de hongos en el fruto de 'Golden Delicious', a) *Alternaria*; b) *Aspergillus*; *Penicillium* y d) *Cladosporium*.

Por su parte, los dos hongos del género *Penicillium* fueron los que causaron mayor daño, alcanzando valores de daño del 21.8 al 37.3 mm. Por último, el único aislado identificado como *Alternaria* generó un daño de 16.7 mm.

Discusión y conclusiones

Actualmente se conoce que existen diversos hongos asociados al fruto de la manzana en la etapa madura, y los cuales pueden variar en base a la variedad, la forma de cultivo y el tipo de almacenamiento del fruto (Abdelfattah et al., 2016).

Los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* presentes en la variedad 'Golden Delicious', en este trabajo, han sido reportados como los hongos más comúnmente encontrados en manzana cuando se utilizan técnicas basadas en medios de cultivo (Shen et al., 2018). Sin embargo, debe tomarse en cuenta que dichas técnicas únicamente permiten identificar grupos taxonómicos cultivables, es decir, hongos que tienen la capacidad de crecer en medios de cultivo fuera del entorno en que se encontraban originalmente. Otras técnicas, como la secuenciación, permiten identificar la mayoría de especies incluyendo aquellas que no tienen la capacidad de crecer en cultivos fuera de su medio.

Tabla 2. Lesiones en frutos producidos por los morfotipos de hongos epífitos aislados de manzana.

Género	Morfotipo	Diámetro del daño en fruto (mm)
Penicillium expansum	Control	37
Alternaria	H8GDE3 2018	16.7
Aspergillus	H4GDE3 2018	10.8
	H9GDE3 2018	8.8
	H10GDE3 2018	17.7
	H11GDE3 2018	8.3
Cladosporium	H2GDE3 2018;	5.6
	H5GDE3 2018	3.0
	H7GDE3 2018	15.0
Penicillium	H3GDE3 2018¸	21.8
	H6GDE3 2018	37.3

El género *Penicillium*, es uno de los géneros más cosmopolita en frutos, y el cual, al igual que las cepas encontradas en este estudio, causan la pudrición de los frutos en la etapa poscosecha, lo cual concuerda con los reportes donde *Penicillium spp.* es un patógeno típico de la manzana, destacándose *Penicillium expansum*, responsable de provocar la podredumbre de almacén conocida como "moho azul" (Hermosillo et al., 2015).

El único aislado identificado como *Alternaria* provocó un daño relativamente alto (16.7 mm), se ha observado en este género que puede provocar pudrición en corazón, cáliz y alrededor de heridas

de manzana, además de que se le ha atribuido una considerable resistencia a fungicidas de uso común (Grantina, 2015).

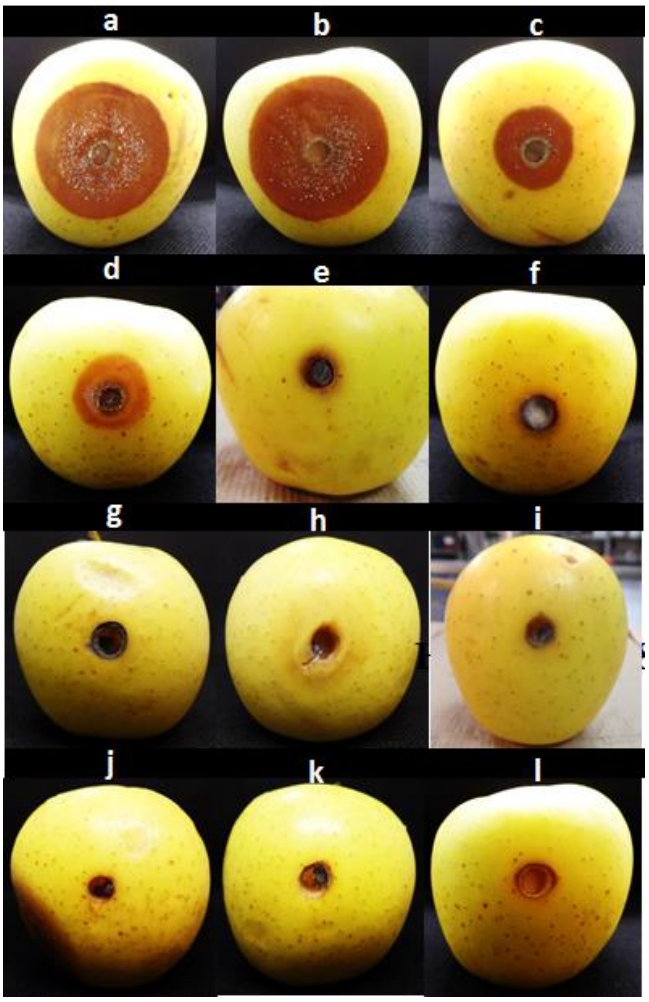


Figura 3. Ensayos de patogenicidad de hongos epífitos aislados de manzana, en frutos de 'Golden Delicious'. a) *P. expansum*; b) H6GDE3 2018; c) H3GDE3 2018; d) H10GDE3 2018; e) H5GDE3 2018; f) H4GDE3 2018; g) H7GDE3 2018; h) H8GDE3 2018; i) H2GDE3 2018; j) H11GDE3 2018; k) H9GDE3 2018 y l) Manzana inoculada con agua.

El género *Cladosporium* provocó daño relativamente bajo, lo que coincide con su descripción como un fitopatógeno débil y como agente secundario de infección en manzana (Grantina, 2015).

Por último, *Aspergillus* fue el género más abundante pero también el que alcanzó menores diámetros de daño comparado a los otros géneros encontrados, lo cual podría diferir con su descripción como uno de los principales agentes causales de enfermedades en frutos, sobre todo cuando los tiempos de almacenamiento con largos y la humedad es alta (Qais, Ahmed y Amira, 2016).

En conclusión, los frutos de la variedad de manzano 'Golden Delicious', cultivado en Querétaro, están colonizados naturalmente por hongos; los cuales pueden causar pudrición si se presenta una herida del fruto en la etapa poscosecha. Por lo cual, pueden volverse fitopatógenos sinérgicos o emergentes de este frutal.

Agradecimientos

Al Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar por su entusiasmo, orientación y disponibilidad. A la Mtra. Rocío Crystabel por su asesoría y su gran calidad como profesora e investigadora. Sin ellos, este trabajo no hubiera sido posible.

Referencias bibliográficas

Abdelfattah, A., Wisniewski, M., Droby, S. and Schena, L. 2016. Spatial and compositional variation in the fungal communities of organic and conventionally grown apple fruit at the consumer point-of-purchase. Horticulture Research. 3, 1-12.

Ellis, M. B. (1993). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Londres, UK: CAB International Commonwealth Mycological Institute.

Grantina, L. (2015). Fungi Causing Storage Rot of Apple Fruit in Integrated Pest Management System and their Sensitivity to Fungicides. *Rural Sustainability Research, 34*(329), 2-11.

Hermosillo, G., Quezada, M., Moreno, J., Pascual, S., y Trejo, M. (2015). Detección de patulina en manzana 'Golden Delicious' y en productos derivados elaborados industrial y artesanalmente elaborados en México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 16*(2), 281-286.

Imam, J., Singh, P. K., y Shukla, P. (2016). Plant Microbe Interactions in Post Genomic Era: Perspectives and Applications. *Frontiers in microbiology, 7*, 1488. doi:10.3389/fmicb.2016.01488

Klich, M. (1988*). A laboratory guide to common Aspergillus species and their teleomorphs*. Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.

Mercado, A., Holubová-Jechová, V., y Mena, J. (1997). *Hifomicetes demaciáceos de Cuba*. Cuba: Museo Regionale Di scienze Naturali.

Moore, D., Robson, G., y Trinci, A. (2019). 21st Century Guidebook to Fungi: Fungal diseases and loss of world agricultural production.

Recuperado de http://www.davidmoore.org.uk/21st_Century_Guidebook_to_Fungi_PLATINUM/

Pitt, J. I. (1991). *A laboratory guide to common Penicillium species*. Australia: CSIRO Divition of Food Science.

Qais, A., Ahmed, M., y Amira, A. (2016). Isolation and identification of fungal post-harvest rot of some fruits in Yemen. *PSM Microbiology, 1(1)*, 36-44.

SAGARPA. (2016). *Planeación nacional: Manzana Mexicana*. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256430/B_sico-Manzana.pdf

Shen, Y., Nie, J., Li, Z., Li, H., Wu, Y., Dong, Y., y Zhang, J. (2018). Differentiated surface fungal communities at point of harvest on apple fruits from rural and peri-urban orchards. *Nature: Scientific reports, 8*. doi: 10.1038/s41598-017-17436-5.

Sorgo y niveles de fibra detergente neutro para alimentar conejos

[a]Rocha-Solache M. (*mrocha02@alumnos.uaq.mx*)., [ab]Gómez-Soto J.G. (*jggs580@hotmail.com*)., [a]Ramos-Olvera E.R., [a]Gudiño-Lozano C.J., [a]Narváez-Briones C.I., [ab]Reis-de Souza T.C., [a]Escobar-García K.

[a]Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Área Cunícola (ARCUN-UAQ), Laboratorio de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Naturales. [b]Centro de Transferencia de Tecnología e Innovación Agropecuaria (CETTIA), Universidad Autónoma de Querétaro.

Resumen

Cuando se elabora una dieta para conejos debe considerarse el cereal que será empleado, así como su composición química. El objetivo fue evaluar la ganancia diaria de peso (GDP) y el peso vivo en conejos alimentados con dietas a base de grano de sorgo con diferentes niveles de fibra detergente neutro (FDN) y compararlo con una dieta control de maíz. Se emplearon 30 conejos raza Nueva Zelanda, recién destetados con un peso vivo de 647±110 g, asignados aleatoriamente a 4 dietas experimentales: dieta a base de maíz con 33% de FDN (Tx1) y 3 dietas a base de sorgo con 28% (Tx2), 33% (Tx3) y 38% (Tx4) de FDN. El experimento tuvo una duración de seis semanas. El registro de los pesos se hizo cada semana. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS mediante una prueba de diseño completamente aleatorizado y un arreglo de medidas repetidas en el tiempo. El peso semanal fue incrementando conforme los animales crecían, pero la GDP fue mayor en la semana 1 y posteriormente disminuyó. En la semana 1, los conejos que consumieron Tx1, tuvieron la mayor GDP. En general, los conejos que consumieron el Tx4 presentaron la menor respuesta productiva (GDP), por lo que el nivel de FDN tiene efecto sobre los parámetros evaluados. Para la semana 2, 4 y 5, no hubo un efecto sobre la GDP dependiente de la dieta consumida. El sorgo puede reemplazar al maíz en dietas para conejos. El nivel de FDN puede afectar la GDP y el peso final.

Palabras clave: cunicultura, engorda, FDN.

Summary

When preparing a diet for rabbits, the cereal that will be used should be considered, as well as its chemical composition.The objective was to evaluate the daily weight gain (GDP) and live weight in rabbits fed diets based on sorghum grain with different levels of neutral detergent fiber (NDF) and compare it with a corn control diet. Thirty New Zealand rabbits, recently weaned with a live weight of 647 ± 110 g, were randomly assigned to 4 experimental diets: corn-based diet with 33% NDF (Tx1) and 3 sorghum-based diets with 28% (Tx2), 33% (Tx3) and 38% (Tx4) of FDN. The experiment lasted six weeks. Weights registration was made every week. The statistical analysis was performed with the SAS statistical package by means of a completely randomized design test and an arrangement of measures repeated over time. The weekly weight was increasing as the animals grew, but the GDP was higher in week 1 and subsequently decreased. In week 1, the rabbits that consumed Tx1 had the highest GDP. In general, the rabbits that consumed the Tx4 parameters had the lowest productive response (GDP), so the level of FDN has an effect on the evaluated parameters. For week 2, 4 and 5, there was no effect on GDP dependent on the diet consumed. Sorghum can replace corn in rabbit diets. The level of FDN can affect GDP and the final weight.

Keywords: cuniculture, fattening, FDN.

Introducción

Debido a la creciente crisis alimentaria en el mundo, es necesario buscar alternativas a los sistemas actuales de producción de alimentos de origen animal, principal fuente de proteína (Casanueva et al., 2013). Ante esta problemática, el conejo se vuelve relevante por su eficiencia en la producción de carne, así como por sus características nutrimentales (Shimada, 2012). Sin embargo, del 65 hasta el 70% del costo total en la producción cunícola está dado por la alimentación (Méndez, 2016; Nicodemus, 2005). Lo anterior, sumado al hecho de que en el mercado nacional mayoritariamente se oferta un solo tipo de alimento para todas las fases de producción del conejo (Casanueva et al., 2013), hace necesaria la investigación en nuevas y mejores fuentes de alimentación, tomando en consideración el cereal empleado para su elaboración, así como la composición química del alimento, buscando garantizar el máximo aprovechamiento de sus nutrientes. Debido a que el sorgo es uno de los principales cereales que se producen en México (CIEP, 2013) es importante considerarlo como materia prima en la alimentación de los conejos.

Por otro lado, la fibra es esencial en la dieta de los conejos debido al aporte nutrimental y los efectos fisiológicos que genera en el tracto gastrointestinal, ya que regula el paso del alimento y mantiene saludable el tubo digestivo a través del control de la microbiota y de la mucosa intestinal (De Blas et al., 1999). Se ha demostrado que un nivel por debajo del 30% de FDN en la dieta aumenta la mortalidad en los conejos (Carabaño et al, 2008). El nivel recomendado de FDN en la dieta de los conejos por de Blas et al, (1999) es de 33%, mientras que Carabaño et al., (2008) menciona que el nivel recomendado está entre 30-32% de FDN. En México es poca la investigación publicada en relación a la alimentación de los conejos por lo que se requiere generar información de acuerdo a las condiciones del país. El objetivo del presente experimento fue evaluar la ganancia diaria de peso (GDP) y el peso vivo en conejos durante la etapa de engorda los cuáles fueron alimentados con dietas elaboradas a base de grano de maíz o sorgo y conteniendo diferentes niveles de fibra detergente neutro.,

Material y métodos

El experimento se llevó a cabo en el módulo de conejos del Área Cunícola de la Facultad de Ciencias Naturales (ARCUN-UAQ) donde se encuentra el Centro de Transferencia de Tecnología e Innovación Agropecuaria (CETTIA) de la Universidad Autónoma de Querétaro (ARCUN-UAQ), ubicado en el municipio de El Marqués, Querétaro. Los análisis bromatológicos se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal, ubicado en la Facultad de Ciencias Naturales de la misma Universidad. Se formularon 4 dietas experimentales (Cuadro 1) en base a aminoácidos digestibles, las cuáles fueron isoproteicas, con un nivel de 16% de proteína cruda (Carabaño et al., 2000) e isoenergéticas conteniendo 2.8 Mcal kg-1 de energía metabolizable (NRC, 1977): dieta a base de maíz con 33% de FDN (Tx1) recomendable según de Blas et al. (1999) y 3 dietas a base de sorgo con un nivel de FDN bajo (28%, Tx2), nivel recomendable (33%, Tx3) y nivel alto de FDN (38%, Tx4).Los ingredientes para elaborar las dietas se analizaron químicamente y se les determinó: materia seca (MS), cenizas (MI), proteína cruda (PC) y extracto etéreo (EE) en base a los métodos 925.45, 923.03, 976.05 y 920.35 del AOAC (2002) respectivamente; así como energía bruta mediante calorimetría (Bateman, 1970), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA; van Soest et al., 1991).

Para la prueba de comportamiento productivo se utilizaron 30 conejos Nueva Zelanda recién destetados distribuidos a las dietas experimentales aleatoriamente: 6 conejos para Tx1 control y 8 conejos para cada dieta a base de sorgo (Tx2, Tx3 y Tx4). Se manejaron 2 conejos por jaula (15 unidades experimentales en total). Durante la etapa de engorda, la cual tuvo una duración de 6 semanas, se les ofreció

el alimento a libre acceso. Cada semana se pesaron y se obtuvo el peso vivo (kg) y la GDP (g).

Durante cada una de las seis semanas de la etapa de engorda se les colocó a los conejos un collar isabelino con la finalidad de colectar las heces blandas (cecotrofos) para el desarrollo de un experimento alterno. El collar fue colocado la noche previa al pesaje de los animales y retirado el día del pesaje de los mismos.

Cuadro 1. Composición química de las dietas experimentales (% MS)

	Dietas experimentales			
Ingredientes (%)	Tx1	Tx2	Tx3	Tx4
Maíz	17.0	---	---	---
Sorgo	---	18.5	19.0	18.4
Harina de alfalfa	19.8	21.0	24.9	6.7
Rastrojo de maíz	20.1	20.6	12.8	32.8
Pasta de soya	13.8	14.7	20.4	2.7
Pasta de canola	20.7	19.6	13.2	32.9
Melaza	7.0	5.0	7.0	5.0
Sal	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitaminas[1]	0.2	0.2	0.2	0.2
Minerales[2]	0.1	0.1	0.1	0.1
Fosfato bicálcico	---	---	2.0	---
Carbonato de calcio	---	---	---	0.7
Energía digestible MJ/kg	11.7	11.7	11.7	11.7
Energía metabolizable	10.4	10.5	10.2	10.8
Fibra detergente neutro	33.0	28.0	33.0	38.0
Proteína cruda (PC)	16.0	16.0	16.0	16.0
Lisina	0.1	0.1	1.0	0.8
Treonina	0.7	0.7	0.8	0.7
Arginina	1.1	1.1	1.1	0.9
Calcio	0.7	0.7	1.2	0.7
Fósforo total	0.4	0.4	0.8	0.5
Sodio	0.2	0.2	0.2	0.2

[1]Cada kg de producto contiene: vitamina A 10.20 unidades internacionales (UI), vitamina D 1.98 UI, vitamina E 0.06 UI, vitamina K 1.20 mg, riboflavina (B2) 7.20 mg, vitamina B12 (cianocobalamina) 0.04 mg, colina 968.58 mg, niacina 36 mg, ácido pantoténico 16.55 mg, tiamina (B1) 0.30 mg, piridoxina (B6) 0.31 mg, biotina 0.08 mg, ácido fólico 0.75 mg.[2]Cada kg de producto contiene: sulfuro 0.02 %, cobalto 0.72 mg, cobre 14.4 mg, hierro 120 mg, manganeso 36 mg, selenio 0.30 mg, yodo 0.96 mg, zinc 144 mg, cloro 0.03%.

Las variables evaluadas se analizaron empleando el paquete estadístico SAS (2008) mediante un diseño completamente aleatorizado y un arreglo de medidas repetidas en el tiempo, comparando las medias mediante la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1980). Las diferencias estadísticas se consideraron con una significancia de $P \leq 0.05$.

Resultados y discusión

El promedio de peso al destete (día 30) de los conejos fue de 647±110 g. El promedio del peso (W) final durante las 6 semanas de engorda se observa en el Cuadro 2. La ganancia diaria de peso semanal fue incrementando conforme los conejos crecían. La GDP mayor se registró en la semana 1. Como se puede observar, la GDP no aumentó de manera continua durante la etapa de engorda, ya que en las semanas 2, 4 y 6 disminuyeron los valores, mientras que en las semanas 3 y 5 la GDP aumentó en relación con los resultados obtenidos en las semanas previas a estas. Los conejos alimentados con el Tx1 y Tx2 presentaron la mayor GDP semanal. Los animales correspondientes al Tx4 fueron los que ganaron en promedio menor peso por semana (25 g). En la semana 1, 3 y 6 (Cuadro 3), dentro de los animales que consumieron dietas a base de sorgo, los que consumieron mayor nivel de FDN (Tx4) presentaron la menor GDP. Comparando la GDP en la semana 6, dentro de los conejos que consumieron dietas a base de sorgo, se observó que los que consumieron 38% de FDN, ganaron menos peso que los que consumieron 28% (13 y 30 g respectivamente). Los resultados anteriores sugieren que un exceso de fibra en la dieta de los conejos de engorda afecta negativamente la GDP y el peso vivo final. De Blas et al., (2002) y Segura (2007) señalan que un exceso de fibra en la alimentación de los conejos genera patologías digestivas: daño al lumen de los intestinos, dificultad en la digestibilidad y aprovechamiento de los nutrientes y modificación de la microbiota intestinal, todo lo anterior teniendo una repercusión sobre el crecimiento. Al finalizar la etapa de engorda, los animales alimentados con el Tx1, Tx2 y Tx3 no presentaron una diferencia significativa en el peso vivo final. Una dieta a base de sorgo con 28 o 33% de FND genera el mismo peso vivo final que una dieta a base de maíz con 33% de FDN. Los resultados obtenidos por Muriu et al., (2001) indicaron que el

sorgo blanco y el maíz no eran significativamente diferentes, por lo tanto, el sorgo es capaz de sustituir eficazmente al maíz en dietas para conejos en desarrollo, coincidiendo con los resultados que se obtuvieron en el presente experimento. Al-Mamary et al., (2001) reporta resultados similares, en donde el sorgo no tuvo efectos significativos en los conejos.

Cuadro 2. GDP semanal y por tratamiento (Tx).

	GDP semanal	Peso final
Semana		
1	40[a]	947[f]
2	31[c]	1124[e]
3	35[b]	1365[d]
4	23[b]	1505[c]
5	31[c]	1691[b]
6	21[d]	1858[a]
Tx		
1	32[ab]	1807[ab]
2	34[a]	1999[a]
3	30[b]	1883[a]
4	25[c]	1644[b]
P		
Semana	<0.0001	<0.0001
Tx	<0.0001	<0.0001
Semana*tx	0.0275	0.9062
EEM		
	0.63	11.55

[a-f] Letras diferentes en la misma columna para el mismo parámetro indican diferencias estadísticas.

Cuadro 3. Interacción semana*Tx para la GDP semanal.

Tx	**Semana**					
	1	2	3	4	5	6
1	51[a]	34	35[ab]	23	29	21[ab]
2	42[b]	34	42[a]	21	34	30[a]
3	37[bc]	27	38[a]	26	28	21[ab]
4	32[c]	27	25[b]	22	31	13[b]

[a-f] Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas.

Conclusión

El sorgo puede reemplazar al maíz en dietas para conejos, donde el nivel de FDN puede afectar la GDP y el W vivo final. El Tx4 (38% FDN) presentó la menor ganancia de peso al finalizar la etapa de engorda. Un exceso de FDN en la dieta (>33%) afecta significativamente la GDP y el peso final.

Referencias

1. Al-Mamary, M., Molham, A.H., Abdulwali, A.H., Al-Obeidi, A. 2001. In vivo effects of dietary sorghum tannins on rabbit digestive enzymes and mineral absorption. Nutrition Research. Elsevier. 21 (10): 1393-1401.
2. AOAC, Association Official Analytical Chemists. 2002. Official Methods of Analysis. 17th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists.
3. Bateman, J.V. 1970. Nutrición animal: manual de métodos analíticos [Animal nutrition: manual of analytical methods]. México: Herrero Hnos., Sucesores, S.A.
4. Carabaño, R., Badiola, I., Chamorro, S., García, J., García-Ruíz, A.I., García-Rebollar, P., Gómez-Conde, M.S., Gutiérrez, I., Nicodemus, N., Villamide, M.J., de Blas, J.C.. 2008. Review. new trends in rabbit feeding:influence of nutrition on intestinal health. Spanish Journal of Agricultural Research 2008, 6 (Special issue), 15-25 ISSN: 1695-971-X.
5. Carabaño, R., De Blas, C., García, A.I. 2000. Recent advance in nitrogen nutrition in rabbits. 7th World Rabbit Congress, World Rabbit Science. 8 sup. 1C: 15–28.
6. Casanueva, S.F.E., Cruz, D.P., Jiménez, C.L.V., Martínez, C.M.A., Mitzi, V.Y., Navarro, H.J.A., Vázquez, G.M.C., Villagrán, V.C. 2013. Manual de Prácticas de Medicina y Zootecnia Cunícola II. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México.
7. CIEP. 2013. Posición de los principales cereales en México: 2000-2011. Centro de Investigación Económica y Presupuestaria. De: https://ciep.mx/posicion-de-los-principales-cereales-en-mexico-2000-2011/ Fecha de consulta: 07 de abril del 2019.
8. De Blas, C., García, C., Carabaño, R. 1999. Role of fibre in rabbit diets. A review. Annales de zootechnie, INRA/EDP Sciences, 48 (1), pp.3-13.
9. De Blas, C., García, J., Gómez-Conde, C., Carabaño, R. 2002. Restricciones a la formulación de piensos para minimizar la patología digestiva en conejos. XVIII Curso de especialización FEDNA. Barcelona, España. 4 y 5 de noviembre.
10. Méndez, E.S.A. 2006. Conversión y eficiencia en la ganancia de peso con el uso de seis fuentes diferentes de ácido graso en conejos Nueva Zelanda. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de la Salle. Bogotá.
11. Muriu, J.I., Njoka-Njiru, E.N., Tuitoek, J.K., Nanua, J.N. 2001. Evaluation of Sorghum (Sorghum bicolor) as Replacent for Maize in the Diet of Growing Rabbits (Oryctolagus cuniculus). Dept. of Animal Science, Egerton University, P.O. Box 536, Njoro, Kenya.

12. Nicodemus, N. 2005. Nutrición del conejo: Resumen de los estudios publicados relacionados con la nutrición del conejo desde septiembre de 2004 hasta la actualidad. Departamento de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.
13. NRC, National Research Council. 1977. Nutrient requirements of rabbits fed. 2 ed.. National Academy Press. Washington, D.C.
14. SAS. Institute Inc. 2008. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. SAS. 2008.
15. Segura, S.F., Echeverri, F.R., Patiño, LI.A.C., Mejía, G.A.I. 2007. Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. Medellín, Colombia. VITAE, revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Volumen 14 número 1. Pp. 72-81
16. Shimada, M.A. 2012. Nutrición Animal. Alimentación de conejos. Editorial Trillas. México. Pp. 267-272.
17. Steel, R.G.D., Torrie, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. 2 ed. New York. McGraw-Hill.
18. van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 74:3583-3597.

Comparación entre metodologías de extracción de pigmentos de *Chlorella vulgaris*

Karina E. Rodríguez-López[1], Juan Fernando García Trejo[2]

[1]Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química – Centro Universitario; Cerro de las Campanas s/n C.P. 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro. Contacto: rodriguez.lopez.estefania@gmail.com

[2]Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería –Carretera a La Griega-Chichimequillas Km 1 s/n C.P. 76265, Amazcala, El Marques, Querétaro, Querétaro. Contacto: fernando.garcia@uaq.mx.

Resumen: *Chlorella vulgaris* es una microalga con una gruesa pared celular y de gran importancia económica debido a su adaptabilidad a diferentes condiciones de cultivo. El considerable contenido de pigmentos (clorofila a y b principalmente) con propiedades antioxidantes y antimutagénicas y diversas aplicaciones industriales ha impulsado el cultivo de *C. vulgaris*. Con el objetivo de identificar la mejor metodología de extracción de pigmentos a partir de microalgas, se compararon entre sí tres metodologías de extracción con dos mezclas de solventes en cada una. Los criterios de elección se basaron en el % de extracción en base seca obtenido, en la concentración de pigmentos extraída en µg de pigmento / g de muestra, y en el tamaño de las barras de error estándar obtenidas para cada muestra. Tanto la metodología de extracción asistida por Soxhlet como por microondas presentaron los mejores resultados, por lo que la elección de la mejor metodología de extracción será dependiente el pigmento que se desea extraer y de la facilidad de reproducción del experimento.

Palabras clave: *c. vulgaris*, extracción, cloroformo, metanol, microondas.

Abstrac: *Chlorella vulgaris* is a microalgae with a thick cell wall and has a great economic importance due to its adaptability to different growing conditions. The considerable content of pigments (chlorophyll a and b mainly) with antioxidant and antimutagenic properties and various industrial applications has improved the interest in the cultivation of C. vulgaris. In order to identify the best pigment extraction methodology from microalgae, three extraction methodologies were compared with two solvent mixtures. The selection criteria were based on the % of dry extraction content obtained, the concentration of pigments extracted in µg of pigment / g of sample, and the size of the standard error bars obtained for each sample. Both the Soxhlet and microwave-assisted extraction methodologies presented the best results, so the choice of the best extraction methodology will depend on the desired pigment to be extracted and on the reproducibility of the experiment.

Key words: *c. vulgaris*, extraction, cloroform, metanol, microowaves.

Introducción

Chlorella vulgaris es una microalga verde unicelular de agua dulce con una pared celular gruesa (100–200 nm) como característica principal. Las especies del género *Chlorella* tienen gran importancia a nivel económico y comercial debido a la facilidad en su cultivo, su alto valor nutricional, y sus amplios rangos de tolerancia a niveles de pH, salinidad, temperatura y luminosidad (Hosikian, A. Su Lim, Halim, 2010). Las microalgas contienen importantes cantidades de pigmentos. Los 3 principales grupos

son: clorofilas, carotenoides y ficobilinas (López, Moraña, Salusso, 2015). Dentro de los cuatro tipos de clorofila, las principales son la a y la b que son diferentes entre sí por solo un grupo químico llevando a su diferencia de color (Hosikian et al., 2010). Los pigmentos tienen propiedades antioxidantes y antimutagénicas. En la industria se usan como colorantes, en jabones, grasas comestibles, cosméticos, lociones, perfumes, etc. Comúnmente se extraen mediante solventes orgánicos que penetran a través de la membrana celular y de los cloroplastos. La ruptura celular por molienda, homogeneización, ultrasonido o sonicación, mejora significativamente la extracción (BH Patel 2011). Con el fin de identificar la mejor metodología de extracción de pigmentos a partir de microalgas se compararan tres metodologías mediante la cuantificación espectrofotométrica.

Métodos

Antes de comenzar la extracción y comparación entre metodologías se determinó el contenido de humedad de la microalga *c. vulgaris* por triplicado.

Extracción por microondas. Se realizaron dos triplicados con muestras de 2 gramos de microalga. El primero se cargó con 30 mL de acetona al 90 % v/v en agua destilada y el segundo con 30 mL de una mezcla cloroformo - metanol 1:1. La corrida se llevó a cabo con sus respectivos blancos en las siguientes condiciones: presión atmosférica, temperatura de calentamiento a 55°C en una rampa de 5 minutos, 25 minutos manteniendo la temperatura y enfriamiento a 50°C, agitación magnética y potencia de irradiación de 700 watts.

Extracción por Soxhlet. 2 muestras de 5 gramos y 3 muestras de 10 gramos de microalga a peso constante se corrieron con 300 mL de una mezcla de cloroformo metanol 1:1 y 150 mL de acetona al 90 % respectivamente. Terminada la corrida los dedales se sometieron a peso constante nuevamente y el extracto se tapó y guardo hasta su cuantificación.

Extracción por sonicación. Se realizaron dos triplicados con muestras de 0.3 gramos de microalga. Se siguió la metodología propuesta por Arredondo et al. (2017). Para el segundo triplicado se cambió el solvente de extracción por acetona al 90 %.

Filtración de las muestras. Las muestras en refrigeración se filtraron con ayuda de una bomba de vacío en tubos y filtros whatman puestos a peso constante previamente. Terminado el proceso los filtros se llevaron a peso constante y las muestras se guardaron tapadas en refrigeración hasta su lectura en el espectrofotómetro.

Cuantificación de pigmentos. Las muestras secadas previamente se re suspendieron en metanol. Ya disueltas, las muestras se midieron espectrofotométricamente a 665 nm, 652 nm, 470 nm y 750 nm.

Resultados y Discusión

Determinación del contenido de humedad

La muestra de microalga parcialmente seca y con un porcentaje de humedad desconocido (debido al tratamiento previo de la muestra) presentó un porcentaje de humedad promedio de 8.7867 %. El promedio de humedad obtenido fue usado para determinar el porcentaje de extracción en base seca de cada metodología de extracción.

Tabla 1. Valores de porcentaje de extracción base seca y concentración de clorofila a, b y c más xantofilas obtenidos en cada muestra de las metodologías comparadas. Las ecuaciones usadas para obtener la concentración de pigmentos fueron las propuestas por Lichtenthaler (Lichtenthaler 1987).

Método	Muestra	Solvente	% Extracción BS	Ca (µg / g muestra)	Cb (µg / g muestra)	C x + c (µg / g muestra)
Soxhlet	1	Clorof- Metanol 1:1	34.7082	4240.9450	1271.5526	21.8627
	2	Clorof- Metanol 1:1	28.1182	5374.0948	1780.5793	-57.4381
	3	Clorof- Metanol 1:1	22.2875	5486.7424	1578.4515	-36.5684
	4	Acetona al 90%	15.0875	5053.4443	-281.3752	470.6951
	5	Acetona al 90%	12.4090	3721.6048	591.2886	150.3758
Microondas	1	Acetona al 90%	24.8881	1427.8270	291.1417	104.8962
	2	Acetona al 90%	26.9991	2177.1511	992.4747	-132.1581
	3	Acetona al 90%	26.2403	453.5262	1000.9885	-327.7068
	4	Clorof- Metanol 1:1	35.5876	9681.6961	897.8799	0.0000
	5	Clorof- Metanol 1:1	33.9851	9998.9167	930.4461	0.0000
	6	Clorof- Metanol 1:1	33.0987	12522.8852	1375.0300	0.0000
Sonicación	1	Clorof- Metanol 2:2.5	21.6776	4994.6193	625.0127	269.2587
	2	Clorof- Metanol 2:2.5	9.7500	3795.3495	804.6415	-9.1848
	3	Clorof- Metanol 2:2.5	8.9451	4247.3829	730.6371	-19.2883
	4	Acetona al 90 %	92.8715	2726.9600	390.5657	43.0795
	5	Acetona al 90 %	59.7551	1754.1605	191.2573	53.0544
	6	Acetona al 90 %	83.2609	2640.2198	2250.4845	-631.7435

Determinación del porcentaje de extracción en base seca

En base a los datos obtenidos, mostrados en la **Tabla 1,** se realizó una comparación entre los solventes usados para la extracción en cada metodología (**Figura 1),** la mejor metodología de extracción en éste caso fue la extracción mediada por microondas, con un buen rendimiento y barras de error reducidas (dicho criterio se aplicó en cada análisis). La metodología de extracción mediante sonicación con acetona al 90 % no se llevó a término debido a la ausencia de separación de fases por lo que los resultados obtenidos no se consideran válidos para la comparación.

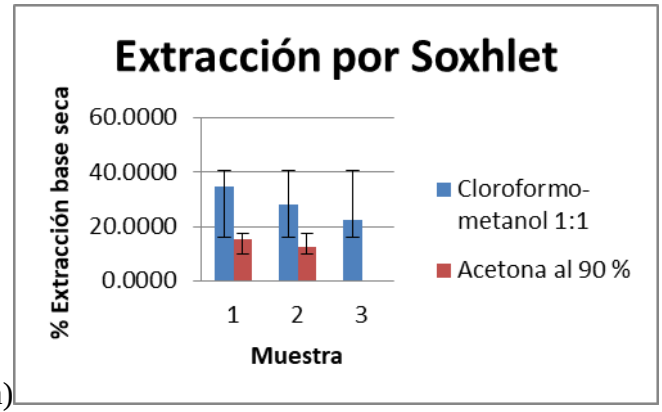
Contenido de clorofila a en *c. vulgaris*

De acuerdo a los datos mostrados por la **Figura 2** la mejor metodología de extracción de clorofila a es por microondas en cloroformo – metanol 1:1, aunque las otras metodologías presentan barras de error más reducidas.

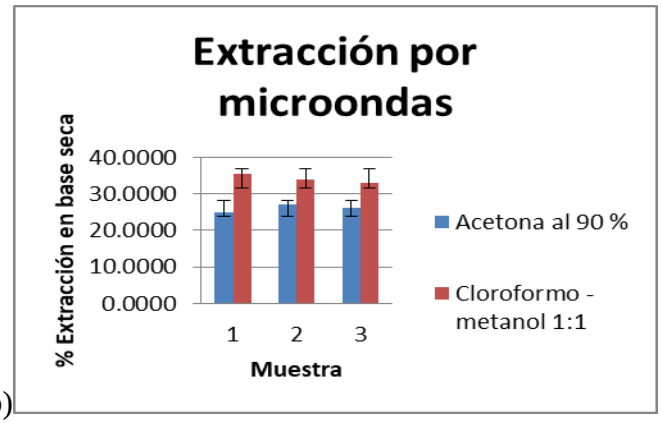
Contenido de clorofila b en *c. vulgaris*

En el caso de la clorofila b, la mejor metodología de extracción de acuerdo a la **Figura 3** es por Soxhlet en cloroformo y metanol relación 1:1.

a)



b)



c)

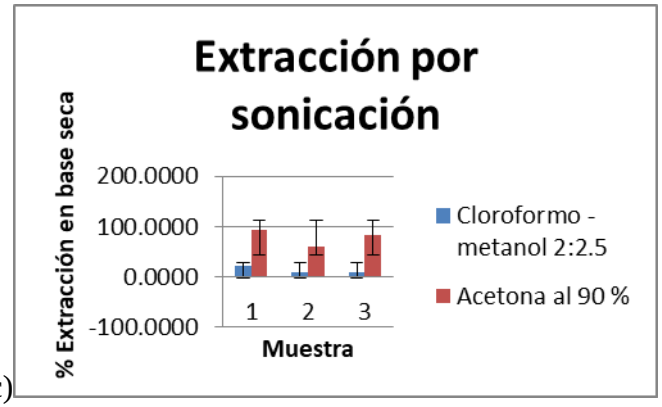
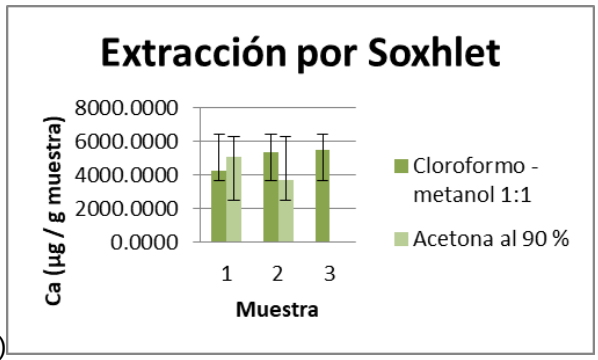


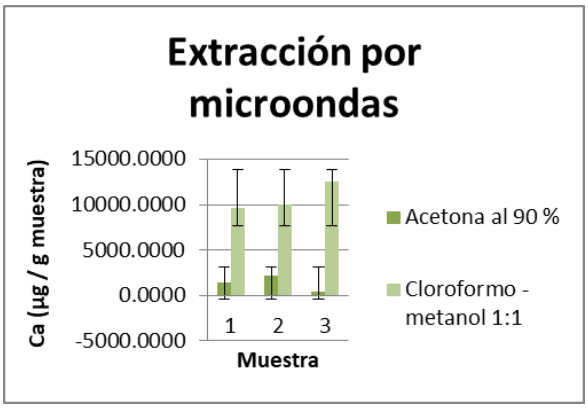
Figura 1. Comparación entre metodologías de los solventes usados durante la extracción en el alga *c. vulgaris.* En la gráfica A se presenta el porcentaje de extracción obtenido por el método Soxhlet, en la gráfica B por el método de microondas y en la gráfica C por el método de sonicación. Las barras de error empleadas son de error estándar con dos desviaciones o 95.7 % de probabilidad.

Determinación del contenido de clorofila a

a)



b)



c)

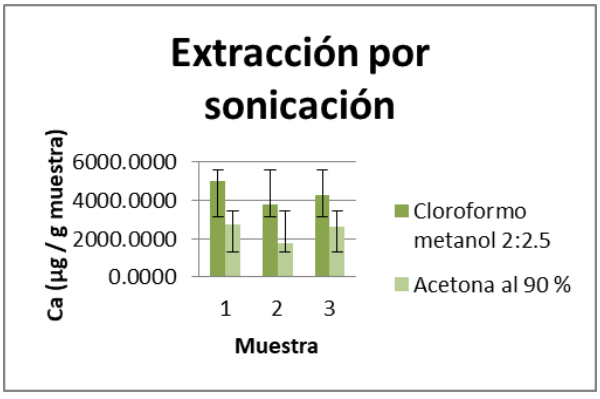
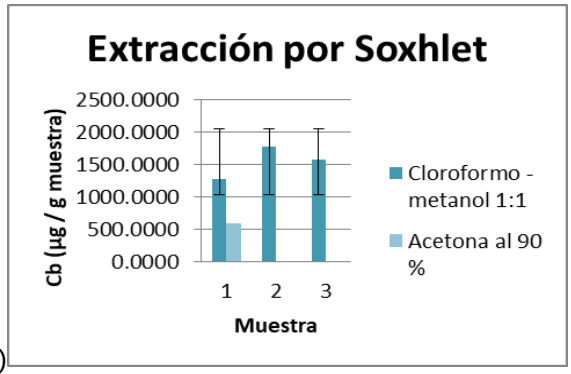
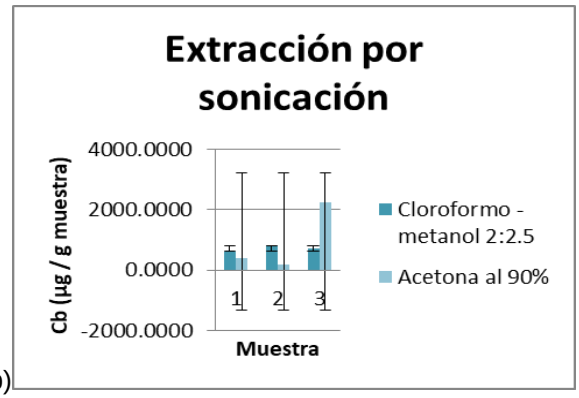


Figura 2. Comparación del rendimiento de extracción de clorofila a entre metodologías. Las barras de error representan el error estándar con dos desviaciones o al 95.7 % de probabilidad.

a)



b)



c)

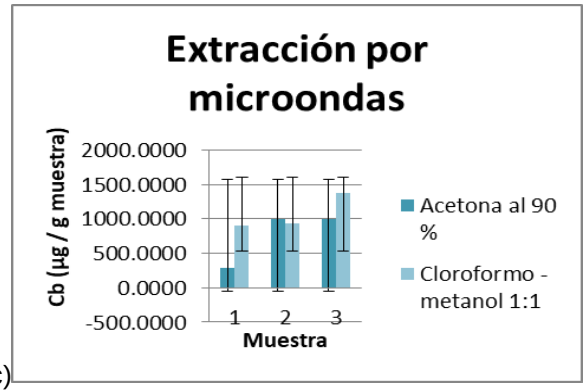


Figura 3. Comparación del rendimiento de extracción de clorofila b entre metodologías. Las barras de error representan el error estándar con dos desviaciones o al 95.7 % de probabilidad

Si lo que se desea obtener son las xantofilas de la microalga, de acuerdo a la Tabla 1, el mayor rendimiento se obtiene con acetona al 90 % al usar Soxhlet en la extracción. La microalga verde *C. vulgaris* contiene los siguientes pigmentos: neoxantina, violaxantina, luteína, clorofila b, clorofila a y B caroteno. (Gouveia, Velosso, Reis 1996). Las clorofilas y carotenoides constituyen normalmente entre el 0.5 y el 5 % del peso seco de la biomasa orgánica de las microalgas (López et al. 2015), el máximo obtenido en el presente estudio está entre el 0.5 y 1.4 %.

Conclusión

La mejor metodología de extracción dependerá de lo que se busca obtener, aunque la extracción por microondas es la que admite menos variación con buenos resultados, por lo que convendría realizar su optimización

Bibliografía

Arredondo, BO. Voltolina, D. Zenteno, T. Arce, M. Gómez, G. (2017). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. PerkinElmer, Conacyt, CiB. 2da edición. Pp 90 - 91

BH Patel. (2011). Handbook of Textile and Industrial Dyeing.Woodhead Publishing Series in Textiles. Volumen 1.

Gouveia, L. Veloso, V. Reis, A. Fernandes, H. Novais, J. Empis, J. (1996). Evolution of pigment composition in Chlorella vulgaris, Bioresource Technology, Volume 57, Issue 2, páginas 157-163 https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00058-2.

Hosikian, A. Su Lim, Halim, R. Danquah. (2010). Review Article Chlorophyll Extraction from Microalgae: A Review on the Process Engineering Aspects. Australia International Journal of Chemical Engineering Volume, Article ID 391632, 11 pageshttp://dx.doi.org/10.1155/2010/391632

Lichtenthaler, H. K. (1987). ChlorolShylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes.

Academic Press inc. METHODS IN ENZYMOLOGY, VOL. 148.

López, S. Moraña, B. Salusso. (2015). Aislamiento, identificación y cultivo de Chlorella vulgaris con potencial para suplemento nutricional de peces. Universidad Nacional de Salta.

Determinación de la permeabilidad y el tiempo de retención hidráulica de un biofiltro por simulación (CFD).

Rosales-Rodríguez David[1] ; Ortuño López Mónica[1]; López-Aguilar Héctor A[2].; Gómez Jorge A[4].; Huerta-Reynoso Enrique A[2].; Hernandez-Figueroa Benjamín[3]; Perez-Hernandez Antonino[2].

1. Resumen

En este estudio, se analizó bajo simulación computacional, un filtro de lecho escurrido a escala industrial para determinar las variables operacionales (permeabilidad del medio poroso, tiempo de retención hidráulica (TRH)). Para poder obtener una efectiva eliminación del gas venenoso (sulfuro de hidrogeno) que contamina a toda una masa de biogás, la cual es producida a través de un conjunto de biodigestores de desechos vacunos, localizados en el rancho los arados meoquia jimenez chihuahua. Donde se encuentra una planta de producción de biogás de mediana escala. Para el diseño del modelado computacional, se utilizaron las dimensiones reales del biofiltro en operación asi como, las velocidades y caídas de presión obtenidas en tiempo real. Los resultados obtenidos a través del modelado computacional, fueron altamente favorables como punto de partida para el desarrollo de futuros biofiltros de mayor escala, cabe mencionar que los parámetro obtenidos bajo el modelado computacional (permeabilidad y tiempo de retención) , no se pueden parametrizar como constantes ya que los dos dependen íntegramente de las dimensiones del biofiltro y de las interacciones de los consorcios microbianos, los cuales realizan la remoción del sulfuro de hidrógeno del biogás y a su paso generan una biopelicula la cual, obstruye el paso del biogás disminuyendo la permeabilidad y aumentando el tiempo de retención del biogás en el biofiltro. La implementación de estas nuevas tecnológias para le remoción de contaminantes traza en la producción de biogas, generaran un gran impacto en la reducción de costos de producción

Palabras clave *—Biofiltro de Lecho Escurrido (BTF) Sulfuro de Hidrogeno (H_2S). Simulación fluodinamica. Tiempo de Retención Hidráulica*

Abstract

In this study, an industrial drained bed filter was analyzed under computational simulation to determine the operational variables (permeability of the porous medium, hydraulic retention time (HRT)). In order to obtain an effective elimination of poisonous gas (hydrogen sulphide) that pollutes a whole mass of biogas, the quality is produced through a set of biodigesters of cattle waste, located in the ranch of the meoquia jimenez chihuahua plows. Where a medium scale biogas production plant is located. For the computational modeling design, use the actual dimensions of the filter in Asian operations, the speeds and pressure drops obtained in real time. The results obtained through computational modeling, were highly favorable as a starting point for the development of new larger-scale biofilters, it should be noted that the parameters affected under computational modeling (permeability and retention time) cannot be parameterized as constants since the two depend entirely on the dimensions of the biofilter and the interactions of the microbial consortiums, which perform the removal of hydrogen sulfide from the biogas and in its path, develop a bio-film which, obstructs the passage of the biogas, decreasing the permeability and the variation in the biogas retention time in the biofilter. The implementation of these new technologies for the removal of pollutants rate in biogas production, generates a great impact in reducing production costs.

Keywords*—Biotrickling filter (BTF). Hydrogen sulfide (H_2S.) Computational fluid dynamics (CFD). Modelling Hydraulic retention time (TRH)*

1 Tecnológico nación de México/Instituto tecnológico de Querétaro;
2 Centro de Investigación de Materiales Avanzados-Campus Chihuahua;
3 Universidad Autónoma de Chihuahua-Facultad de Ciencias Químicas.
4 Universidad autónoma de ciudad Juárez.

2. Introducción

el biogas en el desarrollo de energías renovables, tendrá en un futuro una demanda del 25% de la bioenergía utilizada a nivel mundial, y será fundamental en el proceso de desc arbonización y en el impulso hacia una e conomía circular [1]. La producción de iogás en bruto, contiene contaminantes traza, entre ellos el sulfuro de hidrogeno (H_2S) (1-3% v/v), que de acuerdo a la organización mundial de la salud, la exposición a concentraciones de 500 ppm puede causar la muerte y es altamente corrosivo [2]. La producción de biogás en bruto, contiene sulfuro de hidrógeno (H_2S) (0.1–3% v / v)1. Este, tiene consecuencias graves, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la exposición a H_2S por encima de 500 ppm, puede llegar a causar la muerte2, también se ha demostrado que el H_2S corroe el acero, incluido el acero inoxidable. El proceso de biofiltración, es una tecnología eficaz y amigable con el medio ambiente; dicha tecnología se basa en el uso de consorcios microbianos sulfato oxidantes que tienen la capacidad de transformar el H_2S a compuestos menos tóxicos3. Los biofiltros, pueden estar empacados con una variedad de materiales adsorbentes. No obstante, estos deberán estar previamente inoculados con microorganismos sulfato oxidantes, sin embargo tienen uso limitado, al saturase conforme los productos de la oxidación del H_2S y la biomasa se van acomulando4. El tiempo de retención hidráulica (TRH) asi mismo como la permeabilidad del medio poroso, son los parámetro clave para garantizar una operación de biofiltración exitosa [4].

En consecuencia, es necesario entender los mecanismos y parámetros operacionales sobre los fenómenos fluido dinámicos que intervienen en la remoción del H_2S y asi determinar el papel que estos desempeñan [10]. El presente trabajo tiene como objetivo determinar la permeabilidad de un medio poroso bajo un modelo computacional de dinámica de fluidos (CFD) ANSYS-FLUENT, para determinar el comportamiento del modelo matemático creado bajo las condiciones de frontera del modelo en operación y sus limitantes. Analizar bajo la herramienta de diseño de experimentos (DOE) ANSYS-FLUENT la determinación de los perfil de velocidades y presiones de entrada y salida, flujos voluminicos en el biofiltro.

1 Tecnológico nación de México/Instituto tecnológico de Querétaro;
2 Centro de Investigación de Materiales Avanzados-Campus Chihuahua;
3 Universidad Autónoma de Chihuahua-Facultad de Ciencias Químicas.
4 Universidad autónoma de ciudad Juárez.

2.1 Nomenclatura

	SIMBOLOGÍA	SIGNIFICADO	UNIDADES	
1	T	Temperatura	kelvin	K
2	S_i	Momento	(Newton) *metro	N*m
3	C_o, C_1	Constantes empíricas	Adimensional	
4	V_x	Velocidad en el eje x	Metros/ segundos	$\frac{m}{s}$
5	G	Gravedad	(Kilogramos) metros/ segundo	$\frac{kg*m}{s^2}$
6	η	Viscosidad dinámica	(Pastal) segundo	Pa*s
7	$\frac{dP}{dX}$	Cambio de presión con respecto a la longitud	Adimensional	
8	ηα	Permeabilidad	Metros cuadros	M^2
9	η_{mix}	Mezcla de gases	(Pascal) segundo	Pa*s
10	V	volumen	Metros cúbicos	m^3
11	Q	Flujo voluminico	Metros cúbicos/ segundo	$\frac{m^3}{s}$

Tabla 1. Nomenclatura de las variables utilizadas para en el análisis (CFD), fuente propia.

3. Metodología.

Un biofiltro de lecho escurrido, comúnmente es una torre vertical, donde ingresa el gas por una sección en la parte inferior y sale por la parte superior, en el interior del biofiltro se encuentra empacada con diversas secciones transversales internas donde se aloja un material poroso el cual puede ser de carbones de bambú y zeolitas, en este caso se utilizó Zeolita nativa de la región de chihuahua. en estas secciones se alojan los microorganismos en el material poroso, los cuales realizan el proceso de desulfuración al paso del gas a través del medio.

Para el desarrollo de este proyecto de investigación, se enfatiza en los aspectos operacionales del proceso y se descartan aquellos que dependientes de aspectos biológicos. Se englobó el sistema como un todo, es decir, todas las variables dependientes de los procesos internos microbianos se englobaron en las caídas de presión, y los flujos voluminios de entrada y salida.

3.1 Consideraciones de diseño

Para el desarrollo del modelo computacional del biofiltro fue necesario la obtención de datos en campo. Las Dimensiones reales del biofiltro en operación y valores registrados de caídas de presión al momento, estos fueron obtenidos en la planta de producción de biogás, la cual se encuentra localizada en la localidad de mequí chihuahua. En la siguiente tabla se expresan las dimensiones de diseño obtenidas del modelo en operación.

DIMENSIONES DE DISEÑO	VALOR	UNIDADES
Radio de entrada	0.0127	metros
Longitud de entrada/salida	1	metros
Altura del filtro	1.21	metros
Radio del filtro	0.18	metros
Longitud del medio poroso	0.8	metros

Tabla 2. Dimensiones de diseño obtenidas del biofiltro en operación, utilizadas para el modelo tridimensional, fuente propia.

En la siguiente imagen, se expresa un modelo trimensional, de las componentes básicos del proceso de biofiltracion del biogás

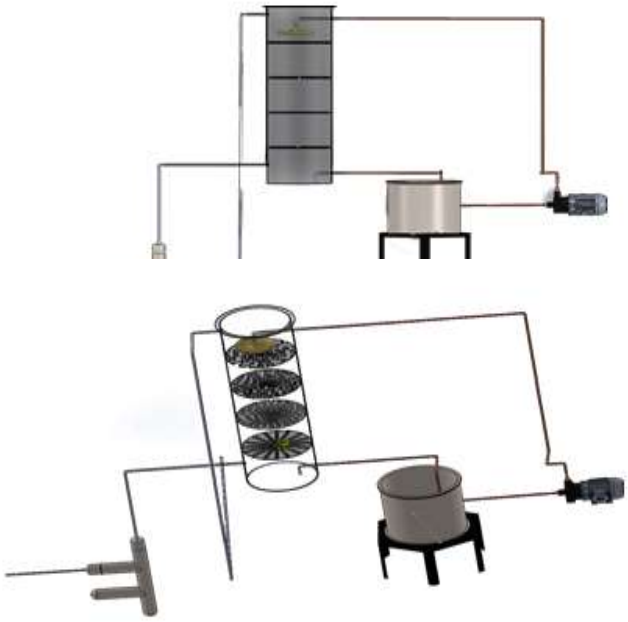


Imagen 1. Modelo tridimensional del sistema de desulfuración del Biofiltro de lecho escurrido.

1 Tecnológico nación de México/Instituto tecnológico de Querétaro;
2 Centro de Investigación de Materiales Avanzados-Campus Chihuahua;
3 Universidad Autónoma de Chihuahua-Facultad de Ciencias Químicas.
4 Universidad autónoma de ciudad Juárez.

Se establecieron las condiciones de frontera para el análisis puntual de este fenómeno. Cabe mencionar que en esta investigación se parametrizo todo factor de interacción biología del proceso interno de desulfuración. Se pretendio solo tener como variables dependientes los aspectos operacionales de entra y salida del gas, caídas de presión y velocidades de entrada y salida del gas. Con ello el análisis fluodinamico computacional de este fenómeno, se simplifica de a gran medida. En la siguiente tabla se expresan las condiciones de frontera obtenidas tras un análisis experimental en el sistema de biofiltracion tras ello se obtuvieron los siguientes datos.

CONDICIONES DE FRONTERA	VALOR	UNIDADES
Velocidad de entrada	0.102	M/S
Presión de salida	1.23	Pa
Densidad del gas	0.656	Kg/m3
Viscosidad dinámica del gas	1.227e -5	Pa*s
Caída de presión	300	pa

Tabla 3. Condiciones de frontera para el análisis fluodinamico de un biofiltro de lecho escurrido

Se realizó el modelo tridimensional asi mismo como el mallado de la pieza, en el software Ansys fluent Ver. 2017. La malla de la geometría fue realizada en el mesh de Ansys y con un total de 600 mil elementos.

Se utilizó el modelo matemático de turbulencia K-épsilon como modelo de ecuaciones gobernantes del fenómeno, ya que este modelo se asemeja en gran cantidad, al comportamiento del gas dentro del filtro.

Se empleó el modelo de zona porosa con los parámetros del inverso de la permeabilidad y unas constantes C_o= -1 y C_1= 2 en la zona intermedia del filtro. Cabe mencionar que para determinar la permeabilidad se realizaron una seria de experimentos para interpretar la sensibilidad del modelo y asi mismo poder parametrizar ese factor en función de las condiciones de frontera establecidas.

Se utilizaron como condiciones iniciales una velocidad de entrada y una presión de salida para un sistema en medio estable(no dependiente del tiempo).
En la siguiente imagen se expresan las ecuaciones más importantes empleadas en este fenómeno

(1) $$S_i = -C_0|v|^{C_1} = -C_0\,|V|^{(C_1-1)}V_i$$

(2) $$\frac{dP}{dX} = -\left[dg + \frac{v_x \eta}{\propto}\right]$$

(3) $$\eta_{mix} = \sum_{i=1}^{n} \frac{x_i\,\eta_i}{\sum_{j=1}^{n} x_j\,\varphi_{ij}}$$

(4) $$\nabla P = -\frac{\eta \vec{v}}{\propto}$$

(5) $$TRH = \frac{V}{Q}$$

Imagen 2. Ecuaciones más importantes en la determinación de la permeabilidad del medio y el tiempo de retención hidráulica [4] [5] [7].

La modelación computacional se realizó bajo una seria de experimentos, con los cuales se interpolaron los valores de caída de presion y velocidades del fluido, estas variables dependen directamente de la permeabilidad del medio. El tiempo de retención hidráulica se

1 Tecnológico nación de México/Instituto tecnológico de Querétaro;
2 Centro de Investigación de Materiales Avanzados-Campus Chihuahua;
3 Universidad Autónoma de Chihuahua-Facultad de Ciencias Químicas.
4 Universidad autónoma de ciudad Juárez.

pudo determinar al realizar la diferencia de flujo de entrada y salida asi mismo dividido por el volumen de la sección de salida.

Resultados

Tras el análisis fluodinâmico de la geometría realizada con las dimensiones reales del biofiltro en operación y con las condiciones de frontera obtenidas. Se puede determinar la permeabilidad del biofiltro del medio poroso que se encuentra activo en el proceso de desulfuración en la planta. Dicho valor se encuentra en una permeabilidad de materiales semipermeables. Cabe mencionar que esta permeabilidad cambia en función del tiempo, ya que las bacterias sulfatoreductoras que eliminan el sulfuro de hidrogeno generan una biopelicula la cual, obstruye el paso del gas a través de todo el medio poroso en función del tiempo. Este valor de la permeabilidad ayuda a determinar la vida operativa de este filtro asi mismo como de mayores escalas.

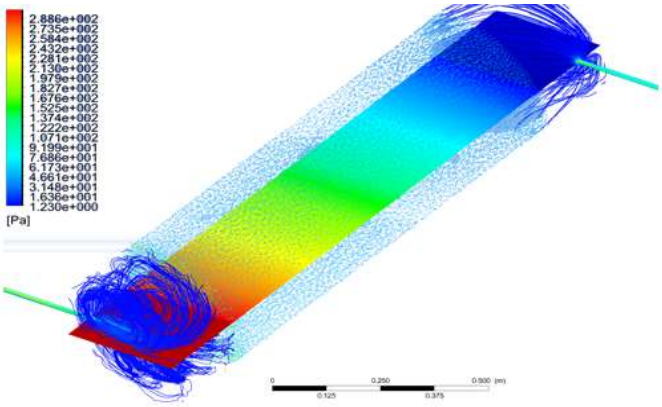
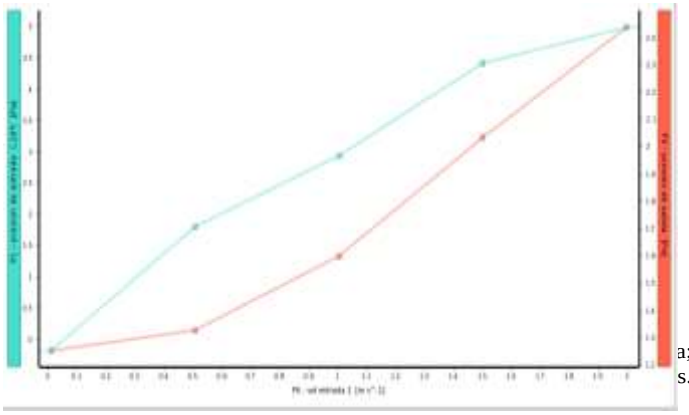


Imagen 3. Perfil de presiones vectoriales, donde se aprecia la presión de entra y salida, asi mismo la caída de presión tras el paso sobre el medio poroso, fuente propia.



a;
s.

Imagen 4. Grafica donde se expresa el comportamiento de la presión de entrada (línea azul,) y la presión de salida(línea roja) contra la velocidad de entrada, se determina una tendencia a la linealidad del comportamiento de estos valores, fuente propia.

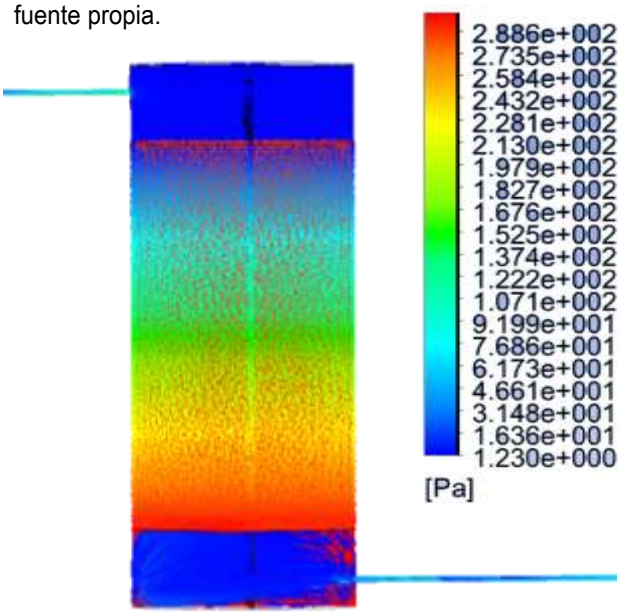


Imagen 5. Perfil de velocidad vectorial, donde se expresa el comportamiento de la velocidad tras el paso en el biofiltro, fuente propia.

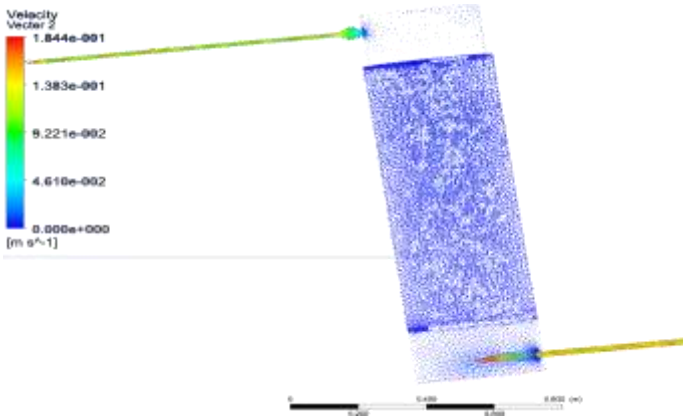


Imagen 6. Perfil vectorial de flujo ascendente, donde se aprecia la caída de presión al ascender el gas, fuente propia.

Se determinó una permeabilidad de ($2.7384e^{-12}$ m^2); un l tiempo de retención hidráulica del biogás (43.32 segundos); perfiles de presión (P_i =288.6; P_o = 1.23 Pa) y perfiles velocidad (V_i = 0.102 ; V_o =0.0461 m/s) del filtro bajo las condiciones de frontera establecidas.

CONCLUSIONES.

Bajo los datos obtenidos, se da un resultado preliminar del comportamiento del medio poroso y su interacción fluodinamica con el biogás, el cual dará un horizonte para futuras investigaciones, en las cuales se podrá determinara la eficiencia del sistema de biofiltracion y así como el tiempo de vida útil del sistema.

La herramienta ANSYS Fluent, ofrece la oportunidad de realizar escalamiento, con el apoyo de información experimental.

Bibliografía

[1] Prof. María Teresa Varnero Moreno, Manuel de biogas, chile: Proyecto CHI/00/G32 Chile: Remoción de Barreras para la Electrificación Rural con Energías Renovables, 2011.

[2] Sahota et al. (2018) Bioresource Technology Reports, 1, 79–88.; Jones, K. (2014) Toxicology Letters, 231(3),) Vikrant et al. (2018) Journal of Cleaner Production, 187, 131–147.; Pokorna et al. (2015) Biotechnology Advances, 33(6), 1246–1259

[3] L. X. W. C. J. W. YiQing Chen, «Pilot-scale study using biotrickling filter to remove H2s FROM SEWAGE LIFT STATION: eXPERIMENT ans CFD simulation,» School of chemical engineering and technology, tianjin university, tianjin, 300072, china , Changasha, 410083, China.

[4] «D.R. © Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales,» Comisión Nacional del Agua, insurgentres sur 2416, Col. Copilco El bajio Cp. 04340, Coyoacan, Mexico Df., MANUAL DE AGUA POTABLE, ALCANTARILLADO Y SANEAMIENTO, Diseño de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales: Filtro Anaerobios de Flujo Ascendente.

[5] J. Z. Lopez, ESTUDIO DE FLUJO MULTIFASICO EN MEDIOS POROSOS,

[6] J. Z. Lopez, «ESTUDIO DE FLUJO MULTIFASICO EN MEDIOS POROSOS,» Instituto Politecnico Nacional, vol. 1, nº 1, 2 07 2011.

[7] G. G. D.R. Poirier, Transport Phenomena In materiales Processing, ARIZONA: 2016 by The Minerals, Metals & Materials Society, 20016.

[8] C. N. Londoño, T. L. Montoya y M. G. Orozco, «EVALUACION COMPUTACIONAL DEL FLUJO A TRAVES DE MEMBRANAS POROSAS,» EL SEVIER, vol. 9, nº 2, pp. 5-7, diciembre 2012.

[9] L. O. viera, «PURIFICACION DE BIOGAS EMPLEANDO MEMBRANAS VITREAS Y DE ZEOLITA NATURAL CUBANA,» del Ministerio de Educación Superior de la REPUBLICA DE CUBA. CALLE 23 ENTRE F Y G No. 5 el vevado Cp 10400, LA HABANA, 2017

[10] Hydrogen sulfide removal from a biogas mimic by biofiltration under anoxic conditions; el sevier Mouna Ben jabber, Annabelle Couvert ÉcoleNationale Supérieure de Chimie de Rennes, CNRS, UMR 6226 page 4-5

1 Tecnológico nación de México/Instituto tecnológico de Querétaro;
2 Centro de Investigación de Materiales Avanzados-Campus Chihuahua;
3 Universidad Autónoma de Chihuahua-Facultad de Ciencias Químicas.
4 Universidad autónoma de ciudad Juárez.

Expresión de tres poliamino oxidasas de *Opuntia ficus-indica*

Rubio Aguilera José Francisco, Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química-Centro Universitario, Cerro de las Campanas Santiago de Querétaro, Qro.

Correo electrónico: y2jrubio@gmail.com.

Dra. María de la Luz Guerrero González, Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera San Luis-Matehuala, Ejido Palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí.

Correo electrónico: luz.guerrero@uaslp.mx

Resumen

El objetivo del trabajo es observar la expresión de OsPAO5 bajo estrés abiótico (frio y calor) y la homología de las poliamino oxidasas de *Opuntia ficus-indica* respecto a las reportadas. Las poliamino oxidasas de *Opuntia ficus-indica* (nopal) como lo son OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5 son proteínas que otorgan una resistencia a la planta en condiciones de estrés abiótico. Para observar su expresión se realizó una PCR semicuantitativa y se realizó la construcción de un árbol filogenético. Se observó un incremento de OsPAO5 tanto en condiciones de alta temperatura como baja temperatura y una cercanía a *Arabidopsis Thaliana*. Por lo que se puede considerar al gen de OsPAO5 como un serio candidato para la inserción en hortalizas que no soporten condiciones donde la temperatura sea alta y baja en el país.

Palabras clave: *Poliamino oxidasas, árbol filogenético, PCR semicuantitativa. Opuntia ficus-indica*

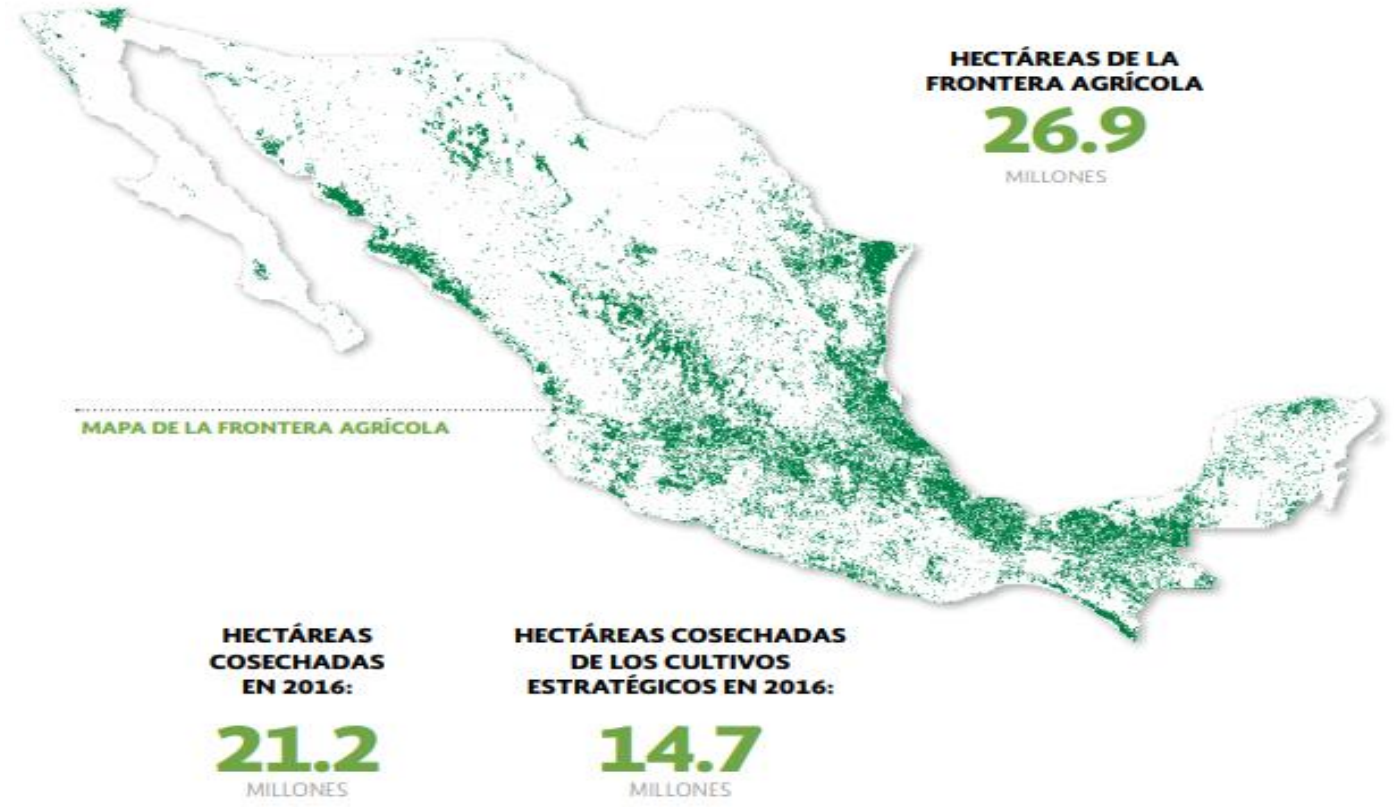
Abstract

The objective of the work is to observe the expression of OsPAO5 under abiotic stress (cold and heat) and the homology of the polyamino oxidases of Opuntia ficus-indica with respect to those reported. The polyamino oxidases of Opuntia ficus-indica (nopal) such as OsPAO2, OsPAO4 and OsPAO5 are proteins that give resistance to the plant under conditions of abiotic stress. To observe its expression, a semi-quantitative PCR was performed and the construction of a phylogenetic tree was performed. An increase of OsPAO5 is observed in cold and in hot conditions and a proximity to Arabidopsis thaliana. Therefore, the OsPAO5 gene can be considered as a serious candidate for the insertion in vegetables that do not support conditions where the sea temperature falls and increase in the country.

Keywords: *Polyamine oxidase, phylogenetic tree, semicuantitative PCR. Opuntia ficus- indica*

Introducción

En los últimos años en México más del 80% de las pérdidas económicas totales de los desastres relacionados con el clima ocurrieron en el sector agrícola y se espera una reducción en la producción agrícola y una reducción significativa en la producción ganadera también se puede producir si los pastos templados se ven afectados negativamente por el cambio climático. Hoy en día está previsto que el cambio climático en México ocasionará una disminución del 40-70% en las tierras agrícolas para 2030, además Estrada Porrúa investigador de la UNAM indica que para 2070 la temperatura aumentará más de cuatro grados lo que afectará también a los cultivos del país (**Porrúa, 2018**). La falta de tierras de cultivo puede significar una escasez de alimento en tendencia de que cada vez haya menos tierras y la población siga en aumento (**figura 1**).



	ESTIMACIONES**				CRECIMIENTO ACUMULADO**				CRECIMIENTO PROMEDIO ANUAL**	
AÑO/PERIODO	2016	2018	2024	2030	2003-2016	2016-2018	2016-2024	2016-2030	2003-2016	2016-2030
Producción potencial*** (miles de toneladas)	254.04	258.40	272.13	285.86	-7.03%	1.71%	5.31%	12.52%	-0.56%	0.85%
Consumo nacional (miles de toneladas)	1,175.14	1,201.04	1,282.20	1,368.84	14.87%	2.20%	6.76%	16.48%	1.07%	1.10%

Fuente: Elaboración propia con datos del SIAP, el SIAVI y UN Comtrade.

* Representa la participación del valor de la producción de 2016 con respecto al PIB agrícola del mismo año.
** Estimaciones realizadas por la Coordinación de Asesores de la Subsecretaría de Agricultura.
*** Estimada con base en la capacidad instalada actual, rendimientos de referencia históricos y considerando que no se incrementará la frontera agrícola reportada en 2016.
Nota: Las cifras oficiales pueden no cuadrar debido a redondeo y/o reexpresión.

Figura 1. Informe del 2017 de la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural en el que se observa las zonas de aprovechamiento y una estimación de producción/consumo a nivel nacional para el 2030. (*Calzada, 2017*)

Las poliaminas (PAs) son pequeñas moléculas alifáticas con carga positiva que se presentan animales, bacterias y en plantas. Las poliaminas más encontradas en plantas son la putrescina (Put), espermidina (Spd) y espermina (Spm) (**Figura 2A**). La Put se origina de la descarboxilación de arginina o arnitina, Spd se sintetiza a partir de Put en conjunto de la descarboxilación de S-adenosilmetionina y Spm se origina a partir de la síntesis de Spd (**Figura 2B**) (**Mustafavi et al., 2018**). Las PAs son un metabolito celular difícil de estudiar debido a que se presentan en casi todos lados y en concentraciones grandes (milimolares). Chen et al. (2019) las describe como "un modulador misterioso de la respuesta al estrés en las plantas", porque abarcan diversas actividades celulares, pero no se sabe cómo lo hacen. Diversos estudios se han hecho y se ha concluido que las PAs: (i) sirven como solutos compatibles junto con Pro y GABA; (ii) hacen interacciones con macromoléculas como ADN, ARN, complejos transcripcionales y de traducción, y membranas celulares para dar una mayor estabilización; (iii) eliminan directamente los radicales de oxígeno e hidroxilo y promueven la

producción de enzimas y metabolitos antioxidantes; (iv) actúan como moléculas señal en la vía de respuesta al estrés regulada por ABA y mediante la producción de peróxido de hidrogeno; (v) reguladores de varios canales iónicos, (vi) la participación en la muerte celular programada, la regulación metabólica de la toxicidad por amoníaco, la producción de óxido nítrico (NO) y el equilibrio del metabolismo orgánico de Nitrógeno en la célula (Figura 2C) (**Mustafavi et al., 2018**).

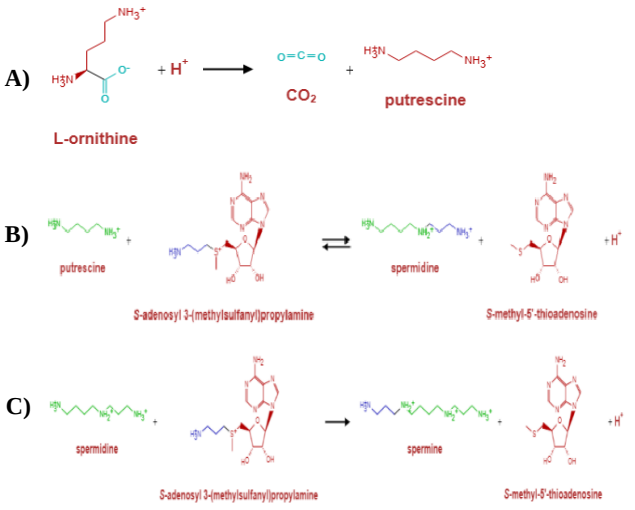


Figura 2A. Biosíntesis de las poliaminas en *Arabidopsis Thaliana.* A) Biosíntesis de la putrescina B) Biosíntesis de la espermidina C) Biosíntesis de la espermidina (*Chen et al., 2019*)

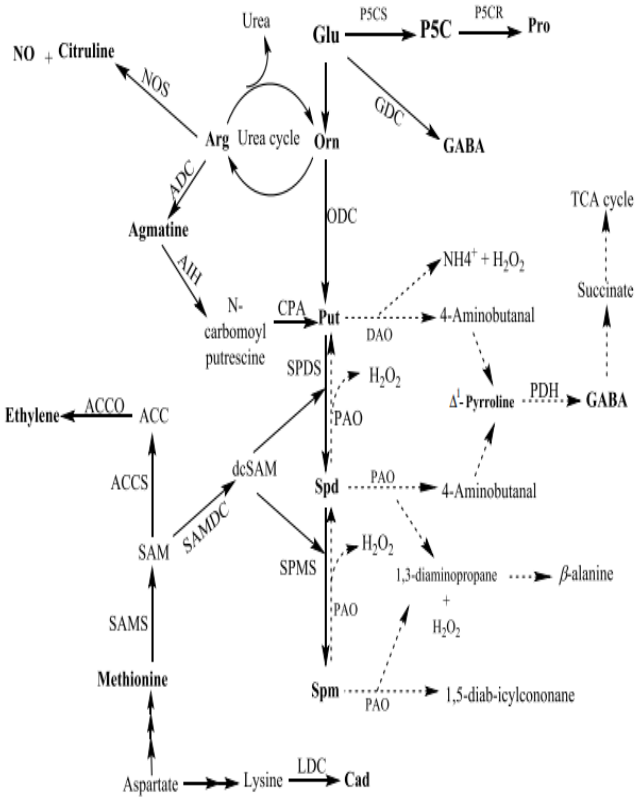


Figura 2B. Ruta metabólica de las poliaminas en *Arabidopsis Thaliana* (*Mustafavi et al., 2018*).

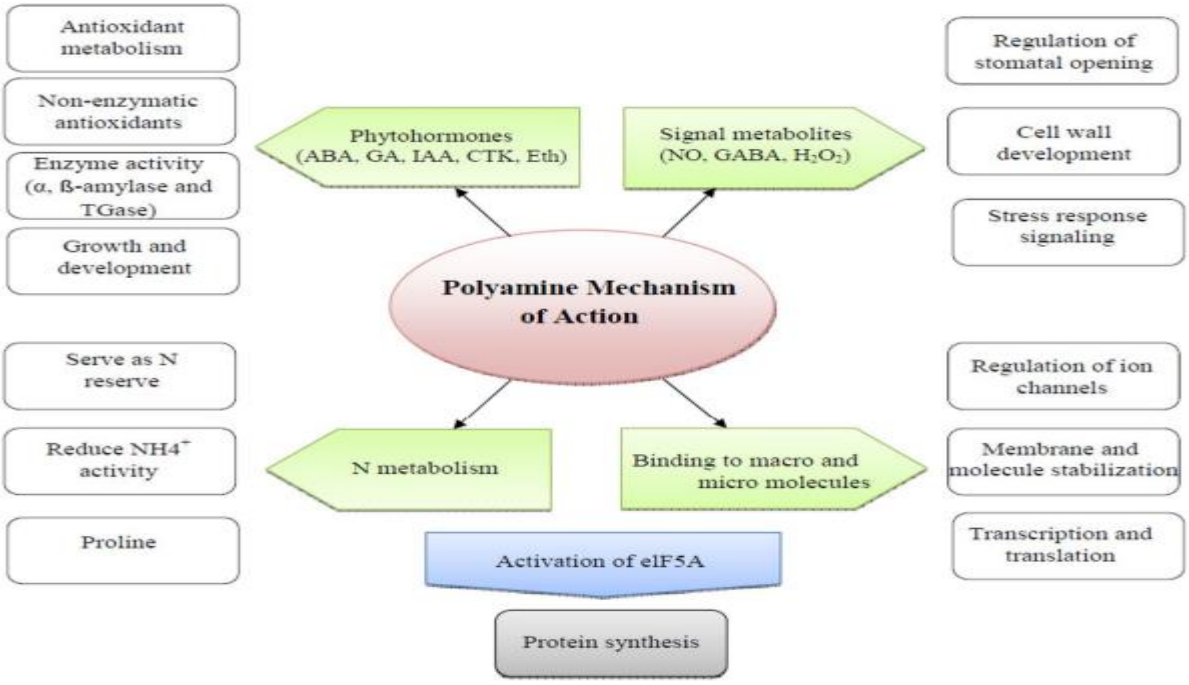


Figura 2C. Funciones de las poliaminas en plantas (*Mustafavi et al., 2018*).

Las Poliamino oxidasas (PAOs) son altamente expresadas en monocotiledóneas. Las PAOs no solo regulan los niveles de poliaminas en la célula, sino que también contribuyen en procesos fisiológicos a través de sus productos de reacción como aminoaldehídos, 1,3-diaminopropano (DAP) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (**Bordanave et al, 2019**). El 4-aminobutanal puede metabolizarse a GABA (**figura 2B**) que es un metabolito importante asociado con varios procesos fisiológicos que se produce en gran parte a la respuesta del estrés biótico y abiótico. Mientras que el DAP es precursor de la b-alanina y las PAs poco comunes que se asocian con la tolerancia al estrés. Lo mismo sucede con el peróxido de hidrogeno el cuál se produce en los compartimientos del apoplasto e intracelularmente. La diversidad de sistemas en la administración de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el entorno apoplástico refleja la necesidad de una síntesis específica de ROS en el desarrollo, diferenciación y mecanismos de defensa de la planta. Las PAO tienen una expresión temporal en la síntesis de ROS en eventos cruciales esta función se debe al suministro de PAs en la pared celular. Se ha demostrado que se sobre expresaban MPAO de maíz y CuAO de guisante en la pared celular y se observó la cantidad limitante de poliaminas de libre disponibilidad se encuentran en el espacio extracelular. Estos datos muestran que las plantas cuentan con altos niveles de aminas oxidasas en el apoplasto, pero niveles bajos de poliaminas. Se ha propuesto que el transporte controlado de poliaminas al apoplasto podría ocurrir durante ciertas condiciones fisiológicas o de estrés (***Wang et al, 2019***).

El catabolismo de las poliaminas y la tolerancia al estrés abiótico, como la sequía, la salinidad, el estrés osmótico y el estrés por calor se asocian. Aunque no se ha demostrado en su totalidad se ha observado en los discos de hoja de tomate tratados con cloruro de sodio la acumulación de prolina asociado con una disminución en los niveles de putrescina, espermidina y un aumento de la DAP (**Chen et al., 2019**). Muchos estudios han indicado que la reducción de los niveles de Spd inducida por el estrés se debe a que se estimula la oxidación de Spd y no en la biosíntesis. Estos resultados apoyan la idea qué bajo el estrés osmótico, las células son inducidas a producir DAP a través de la activación de la PAO. El efecto específico de este producto final del catabolismo de poliaminas no se conoce bien, pero puede implicar la biosíntesis de poliaminas poco comunes y / o b-alanina que funciona como un osmoprotector en condiciones muy adversas (**Ouyang et al.,2017**).

Al ver la relación que tienen las poliamino oxidasas en la tolerancia al estrés abiótico, el objetivo de este trabajo es la observación del comportamiento de la expresión de una poliamino oxidasa de nopal (OsPAO5) bajo condiciones de alta y baja temperatura y su distancia filogenética de tres poliaminas oxidasas de nopal (OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5) como lo son debido a que aún no se conoce la secuencia del genoma de opuntia ficus-indica esto facilitaría su posterior estudio ya que se pudiera comparar con un organismo base.

Metodología

Reactivos.

Buffer (NH4)2SO4, Cloruro de Magnesio ($MgCl_2$) 50 Mm, dNTPs 10 Mm, primer FWD (OsPAO5), primer REV (OsPAO5) 10 pm, taq polimerasa 2u/ μL y agua s/n nucleasa, primer FWD (EF), primer REV (EF), bromuro de etidio, agarosa, hidróxido de sodio (NaOH), ácido bórico, marcador de peso molecular de 100 pb y buffer de carga se obtuvo por Sigma Aldrich.

Análisis de la filogenia de las secuencias.

Las secuencias utilizadas se obtuvieron por la Dra. María de la Luz Guerrero González:

OsPAO2:

MENRSNRQLRPAHCQSRLGRSHAAGPSVIVIG
AGFGGIAAARALYDASIQVTVLEARDRVGGRV
CTDYTFGFPVDLGASWLHGVCNENPLAPLIGR
LGLPLYRTSGDNSVLYDHDLESYALFDMEGN
KVPPEVVVKVGEAFEEILKETDKVREEHSEDIS
IHQAFSIVFERRPDLRLEGLAHKVLQWYLCRM
EGWFAADAETISLKCWDKEVLLPGGHGLMVR
GYLPVINTLAKDLDIRLNHRVTKISRSHHGVQV
TVENGRNFVADAAVIAVPLGVLKAERIKFEPK

LPDWKEAAISDLGVGVENKIVLHFEKVFWPNV
EFLGVVAETSYGCSYFLNLHKATGHPVLVYMP
AGKLARDIEKMSDEAAANFAFTQLKKILPGAS
APIQYLVSHWGTDVNSLGAYSYDKVGKPHDL
YERLRIPVDNLFFAGEATSASYPGSVHGAYAT
GLLAAEDCRMCVLERYGELDLFQPAMGEDAV
SVPLLISRM.

OsPAO4:

MESDQSVPDHIFNATNAHCIDRRPCSTPSVIVIG
GGISGVAAARFLVNASFKVILLESRDRLGGRIH
TDYSFGCPVDMGASWLHGVCNENPLAPLIRCL
GLKLYRTSGDNSVLYDHDLESLSLFNKDGQQV
PQQMVVEVGEVFKKILKETEKVREDHSDDMS
VLQAISIVLEQHPYLRQEGLAHEVLQWYLCRL
EAWFAADADMISLKTWDQEQVLSGGHGLMT
QGYYPVIDALAKDVDIRLNHRVTKISSGLDQV
KVTADNGMDFIADAAIITVPLGVLKANLIEFEP
KLPDWKVDAISDLGVGNENKIALRFSDVFWPD
VELLGMVAPTSFTCGYFLNLHKAIGHPVLVYM
AAGRFAYDLEKLSDEAAVNFVMIQLKKMFPN
ATEPVQYLVSRWGTDPHSLGCYSYDLVGKPS
DVYDRLRAPVRNLFFAGEAVSTEDHQGSVHG
AYSSGIMAGENCQRQLLEKVGTMQKYHLDTL
GDESYDNAVPFQISRM.

OsPAO5:

MVAKRPKIVIIGAGMAGVTAAQKLYTTPGAKE
LFDLCVVEGGERIGGRISTAEFEGDRIEMGATW
IHGIGGSPLYEIAQKINSLESEQPWECMDGLIEE
KLSMAETRAEGGLVLNPAIVEPISSLFEKLMSV
AQGKTEESRQNRDAVGIKISSIGSYLKHGLDQY
WASKGGEGEEDAADVQIKGNWTRKLLEEAVF
AIYENTQRTYTGAGDLFNLDYAAEKEYRMFP
GEEITIPRGYTTIVEALASVLPPGLIQLGRKVVK
IEWEPNRRQLLGSDIDHSSSSRPVKLHFTDGSV
TKADHVIITVSLGVLKAGIQEESSLFSPSLPPLK
KEAISRLGYGVVNKLFLQLSPGNDKQQGMFG
KFPFMQLAFHRSDSELRHRKIPWWMRKTASL
YPIYSDSSVLLSWFAGKEALELESLDDETIIDGV
STTISSFIPSLTHRNQGNAHPHDLCNGDVKCTF
ELRKVLKSKWGTDPLFLGSYSYVAVGSSGDDF
DSLAQPLPRDEDDDHCESKPFPLQILFAGEATH
RTHYSTTHGAYFSGLREANRLLQHYHLGVGA
AKGIAKIW.

Se utilizó el programa Mega X para realizar la construcción de un árbol filogenético, este programa se puede obtener gratuitamente directamente en su página de internet https://www.megasoftware.net/. Y las secuencias con las que se compararon se tomaron del estudio por *Bordanave et al., 2019*.

Análisis de la expresión por alta y baja temperatura:

De experimentos realizados anteriormente en el laboratorio de biotecnología de UASLP de la facultad de agronomía expusieron a *Opuntia ficus-indica* a distintas temperaturas (estrés por baja temperatura: <15°C, control: 25°C y estrés por alta temperatura >30°C), ellos extrajeron RNA y construyeron bibliotecas de 100 ng cDNA. Se tomó 1 µL de cDNA de cada una de las condiciones y se prosiguió hacer una PCR semicuantitativa.

Se realizó un master mix para una PCR semicuantitativa para la expresión de poliamino oxidasa 5 (OsPAO5) en un tubo eppendorf de 1.5mL el cual contenía 2.5 µL buffer $(NH4)_2SO_4$, 1.5 µL $MgCl_2$ 50 Mm, 0.5 µL dNTPs 10 Mm, 0.5 µL primer FWD (OsPAO5) 10 pm, 0.5 µL primer REV (OsPAO5) 10 pm, 0.12 µL Taq polimerasa 2u/ µL y 20 µL agua s/n nucleasa para 4 reacciones.

Se realizó otro mix para PCR con las mismas condiciones a excepción de los primer FWD y REV que eran para factor de elongación (EF). Para la PCR se colocaron en un termociclador T100™ Biorad y se programó lo siguiente:

94°C x 2'
94°C x 30''
53°C x 45''
72°C x 45''
} 35 x
72°C x 5'
4°C x α

Una vez terminada la reacción se preparó amortiguador SB 20x (8g NaOH y 45 g ácido bórico aforado a 1 L); esta solución se diluyo a 1x para elaborar un gel de agarosa con una concentración de 1.8 % y al amortiguador SB se agregó 1 **µ**L de bromuro de etidio y se prosiguió a llenar la cámara de electroforesis (Biorad) con él amortiguador. Se colocó el gel de agarosa en la cámara de electroforesis

y se empezó a cargar. En el carril 1 se cargó un marcador de peso molecular de 100 pb, posteriormente se carga 5 **µ**L del producto de la PCR y 1 **µ**L de buffer de carga en los carriles siguientes. Ya cargado el gel se deja correr durante 30 minutos se corrió el gel a 80 V. Al finalizar se observó en el UVP (lámpara de luz ultravioleta).

Resultados

En la **figura 3** se observa el gel de electroforesis del producto de las dos PCR. Del carril 3 al 5 se observa la PCR semicuantitativa de la OsPAO5 donde se observa una disminución de la banda bajo condiciones de altas temperaturas y un aumento de la banda bajo condiciones a bajas temperaturas respecto a la banda de los 25 °C temperatura control por lo que el estrés abiótico por temperatura refleja un cambio en la producción de poliamino oxidasa de nopal (OsPAO5); la PCR se confirma que se realizó correctamente porque no se observa una banda en el control negativo (carril 2). Del carril 7 al 9 no se observa la misma banda del factor de elongación en todas las condiciones.

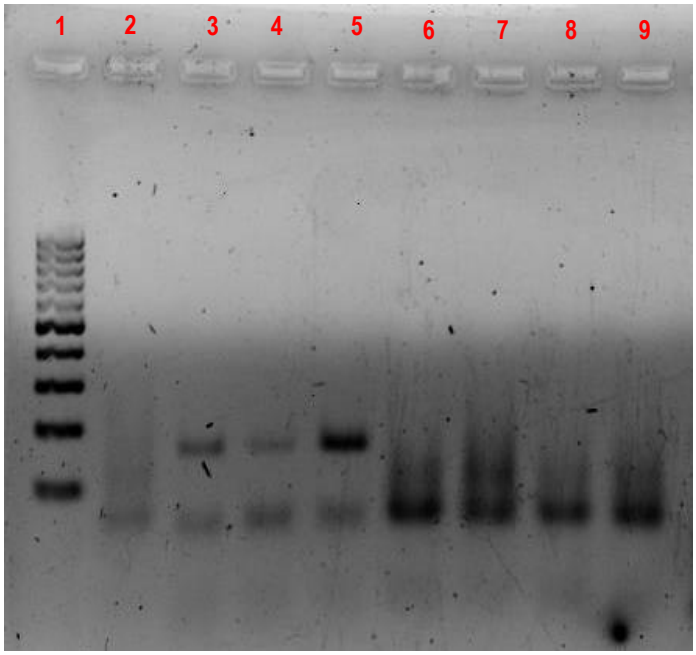


Figura 3. Gel de electroforesis. 1) Marcador de Peso molecular de 100 pb. 2) Control negativo. 3) Expresión de OsPAO5 a 25°C. 4) Expresión OsPAO5 a altas temperaturas. 5) Expresión OsPAO5 a bajas temperaturas. 6) Control negativo 7) Expresión de EF a 25°C. 8) Expresión EF a altas temperaturas. 9) Expresión EF a bajas temperaturas.

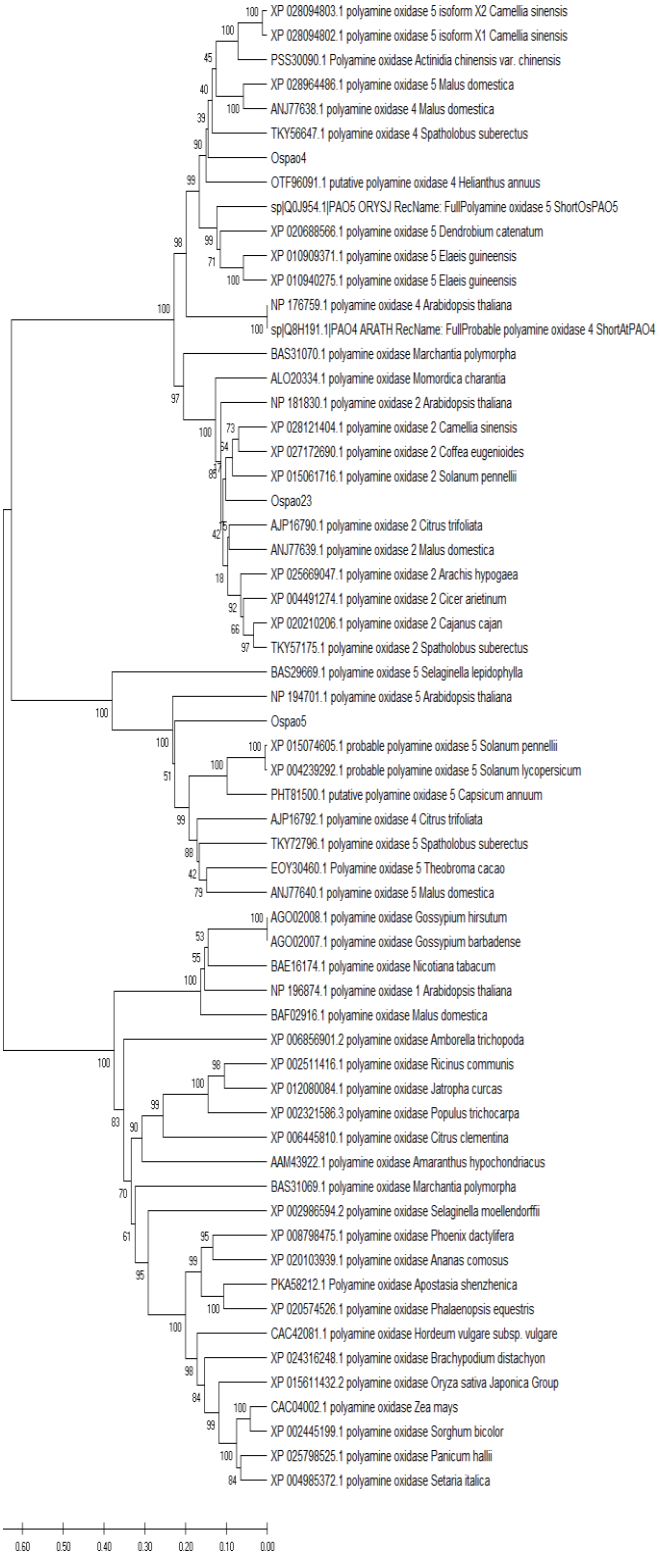


Figura 4. Árbol filogenético de distintas poliamino oxidasas. Relación de *Opuntia ficus-indica* (OsPao2, OsPao4 y OsPao5) respecto a otras plantas.

En la **figura 4** se muestra el árbol filogenético que se construyó en Mega X y se observa que para todas las secuencias de *Opuntia ficus-indica* (OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5) presentan cercanías cada una con una especie diferente. OsPAO2 presenta una cercanía con *Solanum Pennelli* del 80% (tomate "salvaje"), OsPAO4 muestra una cercanía con *Camellia Sinensis* (planta de té) del 80% y OsPAO5 muestra una cercanía del 60% con *Arabidopsis Thaliana*.

Discusión

En la **figura 3** se observa un cambio en la expresión de la OsPAO5 bajo condiciones de altas y bajas temperaturas. Cuando a una planta se somete a altas temperaturas (>30°C) provoca que las poliaminas promuevan la fotosíntesis, síntesis de antioxidantes y un ajuste osmótico. Las enzimas antioxidantes pueden eliminar las ROS para evadir la peroxidación lipídica de la membrana y estabilizar su estructura y se ha observado que la tolerancia al calor está relacionada con mayores contenidos de Spd y menores contenidos de Put y Spm (**Calzadilla et al., 2014**); esto puede explicar el por qué bajo condiciones de calor la expresión de OsPAO5 se ve reducida en comparación a la del control (25°C).

Bajo condiciones de frio las poliaminas se unen a los fosfolípidos de la membrana celular para prevenir su ruptura y mejoran la resistencia al frío. Aunque se ha observado que la concentración de putrescina se ha incrementado exponencialmente y ha estado acompañado de daños por enfriamiento (Shao et al., 2015). Al contrario, un aumento en la concentración Spm y Spd puede ser una respuesta a la tolerancia por el frío y se observó que inhibía la acumulación de Put (**figura 5**); esto puede explicar el por qué la expresión de OsPAO5 es mucho mayor a bajas temperaturas (<15°C) que la del control (25°C) esto se puede intuir en la degradación Put a Spd para la resistencia y supervivencia a bajas temperaturas (**Sun et al., 2018**).

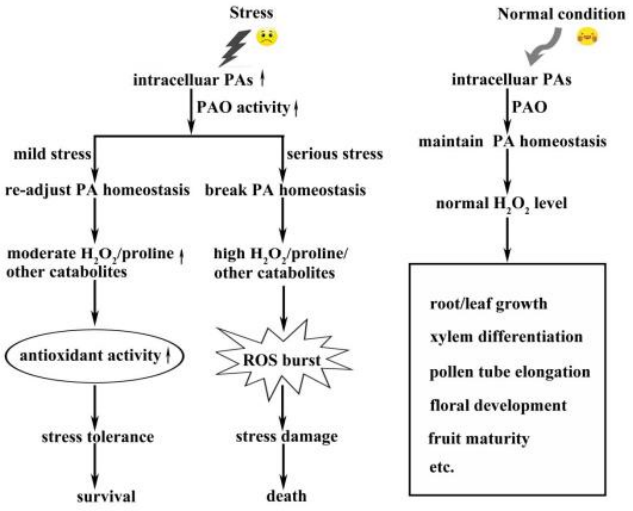


Figura 5. Interacción de las poliamina oxidasas bajo condiciones de estrés (*Yu et al.,2019*)

La construcción del árbol filogenético nos indica que las secuencias analizadas de *Opuntia ficus-indica* (OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5) tienen cierta similitud con *Solanum Pennelli*, *Camellia Sinensis* y *Arabidopsis Thaliana* respectivamente. Aunque presente un menor valor en análisis la mejor candidata para trabajar es OsPAO5 debido a que su cercanía es más próxima con *Arabidopsis Thaliana* la cual es una planta modelo y se conoce la composición de su material genético debido a que en el año 2000 se terminó su secuenciación y esta se puede consultar en el GenBank (**NSF,2017**).

Debido al resultado del árbol filogenético **figura 4** se puede considerar que la poliamino oxidasa 5 de *Arabidopsis Thaliana* (AtPAO5) podría realizar las mismas funciones que la OsPAO5 por su cercanía. La AtPAO5 se expresa en todas las etapas de desarrollo, sobre todo en las raíces, tallos, hojas y órganos florales; puede catalizar Spm y T-Spm a Spd, pero no de Put y se ha informado que AtPAO5 regula el crecimiento del tallo y las hojas. También se asocia que AtPAO5 le permite a Arabidopsis el desarrollo a través de la oxidación de T-Spm ocasionado por la interacción entre auxina y citoquininas (**Yu et al., 2019**).

Normalmente las PAOs se caracterizan por ser enzimas que catalizan reacciones de conversión inversa, pero en el caso de Arabidopsis requieren FAD como cofactor para oxidar N1-acetil Spm y N1-acetil Spd en el carbono en el lado exo del nitrógeno N4 para producir Spd y Put, respectivamente, pero se ha demostrado que AtPAO5 no puede hacer la reacción para la síntesis de Put (**Wook et al., 2014**). Esto sugiere que OsPAO5 a pesar de que se desconozca su secuencia como tal tiene una función protectora cuando se encuentra en bajas temperaturas debido a que sobre expresa para anular la síntesis de Put y ocasione un daño a la célula.

Conclusión

Se logró realizar la PCR semicuantitativa en la que se concluye que a altas temperaturas OsPAO5 no se expresa en gran cantidad comparada a la del control y a bajas temperaturas se sobre expresa; estos dos efectos los hace *Opuntia ficus-indica* como respuesta al estrés abiótico.

En el análisis de las 3 secuencias (OsPAO2, OsPAO4 y OsPAO5) se obtuvo que la enzima con mayor potencial fue la OsPAO5 debido a que tuvo un 60% de cercanía con AtPAO5 aunque no sea un valor muy cercano se puede sugerir que en cierta forma se puede comportar de una forma similar y abre la brecha para el estudio de la OsPAO5 para su mecanismo de acción bajo condiciones normales y de estrés para observar si cumple o no con lo reportado para *Arabidopsis Thaliana* y que similitudes comparten en función. Y por último, se puede considerar a OsPAO5 como un gen potencial para la transformación de hortalizas que padezcan con las heladas y sequías que hoy en la actualidad son más ocurrentes debido a la expresión que mostro y la cercanía que tiene con *Arabidopsis Thaliana* esto ayudaría a lo informado por SAGARPA **figura 1** el uso de estas técnicas potenciarían la producción, ayudaría a alcanzar las metas que se está proponiendo y se daría la importancia que tiene *Opuntia ficus-indica* para el aprovechamiento tecnológico ya que es una flora típica de México.

Referencias

[1] Mustafavi, S. H., Naghdi Badi, H., Sękara, A., Mehrafarin, A., Janda, T., Ghorbanpour, M., & Rafiee, H. (2018). Polyamines and their possible mechanisms involved in plant physiological processes and elicitation of secondary metabolites. Acta Physiologiae Plantarum, 40(6). doi:10.1007/s11738-018-2671-2

[2] Wang W, Paschalidis K, Feng J-C, Song J and Liu J-H (2019) Polyamine Catabolism in Plants: A Universal Process with Diverse Functions. Front. Plant Sci. 10:561. doi: 10.3389/fpls.2019.00561

[3] Chen D, Shao Q, Yin L, Younis A and Zheng B (2019) Polyamine Function in Plants: Metabolism, Regulation on Development, and Roles in Abiotic Stress Responses. Front. Plant Sci. 9:1945. doi: 10.3389/fpls.2018.01945

[4] Francisco Estrada Porruá. (2018). Cambio climático generaría pérdidas económicas en México. 2019, de La jornada. https://www.jornada.com.mx/ultimas/economia/2018/11/10/cambio-climatico-generaria-perdidas-economicas-en-mexico-4005.html

[5] Yu, Z.; Jia, D.; Liu, T. Polyamine Oxidases Play Various Roles in Plant Development and Abiotic Stress Tolerance. Plants 2019, 8, 184.

[6] Calzadilla, Pablo Ignacio & Gázquez, Ayelén & Maiale, Santiago & Ruiz, Oscar & Menéndez, Ana. (2014). Polyamines as indicators and modulators in the abiotic stress in plants.

[7] NFS. (2017). Arabidopsis as model plant. The Multinational Coordinated Arabidopsis Thaliana Functional Genomics Project, 1, 1. 2019, De The National Science Foundation Base de datos.

[8] Dong Wook Kim, Kanako Watanabe, Chihiro Murayama, Sho Izawa, Masaru Niitsu, Anthony J. Michael, Thomas Berberich, Tomonobu Kusano Plant Physiology Aug 2014, 165 (4) 1575-1590; DOI: 10.1104/pp.114.242610

[9] Sun X., Wang Y., Tan J., Al E. (2018b). Effects of exogenous putrescine and D-Arg on physiological and biochemical indices of anthurium under chilling stress. Jiangsu J. Agric. Sci. 34, 152–157 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.01.022

[10] Ouyang J., Song C., Chen D. (2017). Research progress on heat-tolerance mechanism and transports of polyamfines in plant. Mol. Plant Breed. 15, 3286–3294. 10.13271/j.mpb.015.003286

[11] José Eduardo Calzada Rovirosa. (2017). 5to informe de labores. SAGARPA, 5, 150.

[12] Bordenave, César Daniel & Granados Mendoza, Carolina & Jimenez, Juan & Gárriz, Andrés & Rodríguez, Andrés. (2019). Defining novel plant polyamine oxidase subfamilies through molecular modeling and sequence analysis. BMC Evolutionary Biology https://doi.org/10.1186/s12862-019-1361-z

Construcción de la mutante Msn4Δ de *Cándida glabrata*, un patógeno oportunista

Diana L. Vázquez-Durán[1], Guadalupe Gutiérrez-Escobedo[2], Alejandro De Las Peñas[2]

[1]Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química - Centro Universitario; Cerro de las Campanas s/n C.P. 76010, 76010 Santiago de Querétaro, Qro.; contácto diana.vazdur96@gmail.com

[2]Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C.- División de Biología Molecular; Camino a la Presa de San José #2055, Lomas 4ta sección, 78216, San Luis Potosí, S.L.P.; contacto: cano@ipicyt.edu.mx

RESUMEN

Cándida glabrata es un patógeno oportunista que ha desarrollado una alta resistencia a estrés oxidante, lo que dificulta su eliminación por el sistema inmunológico del huésped. Los genes que codifican para enzimas que le confieren esta resistencia están reguladas por factores de transcripción como Yap1 y Skn7. En *S. cerevisiae* los factores de transcripción Msn2 y Msn4 están relacionados con la respuesta a estrés general y tienen sus respectivos ortólogos en *C. glabrata*. Se construyó la mutante *msn4*Δ de *C. glabrata* mediante técnicas de biología molecular, como la transformación de *C. glabrata* con la construcción msn4Δ. La mutación se confirmó mediante PCR: se estableció la ausencia de *MSN4*, y la estructura correcta de los extremos 5´ y 3´.

Palabras clave — *Candida glabrata*, respuesta a estrés oxidante, Msn4, transformación por acetato de litio.

ABSTRACT

*Candida glabrat*a is an opportunistic pathogen that has developed high resistance to oxidative stress, which makes it difficult to extract it from the host's immune system. The genes that encode for enzymes that confer this resistance are regulated by transcription factors such as Yap1 and Skn7. In *S. cerevisiae* the transcription factors Msn2 and Msn4 are related to the general stress response and have their corresponding orthologs in *C. glabrata*. The *msn4*Δ mutant of *C. glabrata* was constructed by molecular biology techniques, such as the transformation of *C. glabrata* with the *msn4*Δ construct. The mutation was confirmed by PCR: the absence of MSN4 was established, and the correct structure of the 5´ and 3´ ends.

Keywords — *Candida glabrata*, oxidative stress response, Msn4, transformation by lithium acetate.

I. INTRODUCCIÓN

Cándida glabrata es un comensal en el tracto gastrointestinal y genitourinario humano que en condiciones de inmunodepresión puede causar infecciones masivas severas (Briones-Martin-Del-Campo et al., 2014; Cuellar-Cruz et al., 2008). *C. glabrata* se ha adaptado evolutivamente a las defensas inmunes del huésped, lo que le permite ser un patógeno exitoso (Brown, Haynes y Quinn, 2009; Kumar, Askari, Sahu y Kaur, 2019; Roetzer et al., 2011). Entre estas adaptaciones se incluyen la adherencia a células epiteliales de huesped (Cuellar-Cruz et al., 2008; Kumar, Askari, Sahu y Kaur, 2019; Zordan et al., 2013), resistencia a antifúngicos (Cuellar-Cruz et al., 2008; Gutierrez-Escobedo, Orta-Zavala, Castaño y De-Las-Peñas, 2013; Zordan et al., 2013), formación de biopelículas (Kumar, Askari,

Sahu y Kaur, 2019) y una alta supervivencia al ataque de células fagocíticas (Briones-Martin-Del-Campo et al., 2014; Gutierrez-Escobedo, Orta-Zavala, Castaño y De-Las-Peñas, 2013).

Las células fagocíticas son la primera línea de defensa contra las infecciones fúngicas (Roetzer et al., 2011; Roetzer, et al., 2008); generan fagolisosomas donde predomina un ambiente hostil con especies reactivas de oxígeno (ERO): como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el superóxido (O_2^-), y el radical hidroxilo (OH) (Briones-Martin-Del-Campo et al., 2014; Brown, Haynes y Quinn, 2009). Debido a su inestabilidad, las ERO causan daños al ADN, proteínas y lípidos, resultando en la destrucción de los patógenos fagocitados (Cuellar-Cruz et al., 2008; Gutierrez-Escobedo, Orta-Zavala, Castaño y De-Las-Peñas, 2013; Luna-Arvizu, 2017). Sin embargo, *C. glabrata* puede desintoxicar estos químicos mediante la síntesis de moléculas antioxidantes que ayudan a mantener el equilibrio redox (Briones-Martin-Del-Campo et al., 2014; Brown, Haynes y Quinn, 2009). Estas moléculas pueden ser enzimas (catalasas, superoxidodismutasas y peroxidasas) o moléculas no enzimáticas (glutatión y tiorredoxinas) (Briones-Martin-Del-Campo et al., 2014; Cuellar-Cruz et al., 2008, Gutierrez-Escobedo, Orta-Zavala, Castaño y De-Las-Peñas, 2013).

La respuesta a estrés oxidante (REO) en levaduras está regulada transcripcionalmente mediante diversos factores de transcripción (Cuellar-Cruz et al., 2008; Roetzer, et al., 2008). La REO en *S. cerevisiae* está en parte bajo el control de ScYap1, ScSkn7, ScMsn2 y ScMsn4 (Cuellar-Cruz et al., 2008). En *C. glabrata* se han demostrado que las funciones de los ortólogos CgYap1 y CgSkn7 están conservadas. (Briones-Martin-Del-Campo et al., 2014; Cuellar-Cruz et al., 2008), mientras que el efecto de CgMsn2 y CgMsn4 se ha reportado como miembros importantes de esta respuesta (Cuellar-Cruz et al., 2008; Luna-Arvizu, 2017; Roetzer, et al., 2008).

En *S. cerevisiae* Msn2 y Msn4 son factores transcripcionales con dominios de unión al DNA de dedos de Zinc C_2H_2 (Zf-C_2H_2) (Cuellar-Cruz et al., 2008), que reconocen la secuencia STRE y que están altamente conservados (fig. 1), por lo que su función podría estar también conservada en los ortólogos CgMsn2 y CgMsn4. En el caso de los ortólogos de Msn2, se ha encontrado que comparten varios blancos comunes (Cromack y Falkow, 1999; Roetzer, et al., 2008), sin embargo se conoce menos sobre Msn4 por lo que es necesario estudiarlo. La mutante de *C. glabrata msn4*Δ se construyó con el objetivo de caracterizar la participación de Msn4 en la REO.

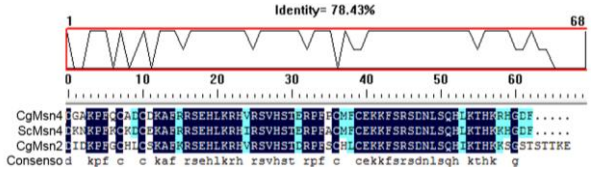


Fig. 1. Alineación del dominio de dedo de zinc de las proteínas CgMsn4, ScMsn4 y CgMsn2. Se observa una alta conservación de secuencia, especialmente entre CgMsn4, ScMsn4. Al final se muestra la secuencia consenso.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Obtención del DNA para la transformación

Los plásmidos pRD97 y pGH9 y se extrajeron mediante un sistema comercial estandarizado (Thermo Scientific GeneJET #K0502) a partir de las cepas de *E. coli* 1789 (pRD97, *msn4*Δ::*hph*, R. Domergue y B. Cormack) y 4274 (pGH9, P_{EPAI}::*FLPI*::*hph*, control de transformación, colección del laboratorio). Las cepas se inocularon en 3 mL de caldo LB adicionado con carbenicilina (100 µg/mL) y se incubaron durante toda la noche en agitación a 30°C. El plásmido pRD97 se digirió con la enzima de restricción *BcgI* (New England Biolabs ©). Las condiciones de la reacción fueron: 40 µl de pRD97, 6 µl de SAM (S-adenosil-metionina) al 1% en etanol 10%, 6 µl de Buffer 3.1 en un volumen final de 60 µl. La reacción se incubó a 37°C durante 1 h y se inactivó a 60°C por 20 min.

B. Transformación de C. glabrata

La cepa parental de *C. glabrata* BG14 se inoculó en 5 mL de caldo YPD (1% extracto de levadura, 2% peptona, 2% glucosa) y se incubó durante toda la noche en agitación a 30°C. De este cultivo se tomaron 300µl y se inocularon en 30 ml de YPD fresco. El inóculo se dejó en agitación a 30°C hasta alcanzar una $O.D._{600nm}$ de 0.7891. Las células se obtuvieron por

centrifugación a 3500 rpm, se lavaron con agua mili-Q estéril y se concentraron en 300 µl de LiAc 100mM. A 50 mL de las células se agregaron 240 µl de PEG 50%, 36 µl de LiAc 1M, 25 µl de ssDNA (DNA de cadena sencilla de esperma de salmón) y 50 µl de plásmido pRD97, pGH9 (control positivo), o 50µl de Tris10mM sin DNA (control negativo) según el caso. La mezcla se incubó en agitación a 30°C durante 45 min. Después se adicionó 43 µl de DMSO y se incubó a 42°C durante 15 min. Las células se recuperaron por centrifugación, se resuspendieron en 600 µl de YPD y se incubaron en agitación durante 4 h a 30°C. Posteriormente, las transformaciones se platearon en cajas de YPD adicionado con higromicina (500 µg/ml) usando 300, 200 y 100 µl para la transformación con pRD97, 300µl para pGH9 y 300 µl para la transformación sin DNA. Las cajas se dejaron incubando por 48 h a 30°C. Finalmente, se seleccionaron 24 colonias de las que se realizaron dos purificaciones consecutivas por estría en cajas de YPD adicionado con higromicina (500 µg/ml) e incubadas durante 48 h a 30°C.

C. Extracción de DNA genómico

Las colonias purificadas se inocularon en 3mL de YPD y se incubaron durante toda la noche con agitación a 30°C. Las células se colectaron por centrifugación a 15,000rpm por 1 min y se resuspendieron en 500µl de Buffer A (Tris 50mM, EDTA 10mM, NaCl 150mM, tritón 1%, SDS 1%). Se agregaron 500 µl de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1) y se incubó a 42°C por 15 min. Se colocó en el FastPrep-24™ (MP Biomedicals™) por 1s a 6m/s. Se centrifugó a 15,000rpm por 1 min, se recuperó la fase acusa y se agregaron 15 µl de NaCl 5M y 1mL de etanol 100%. Se mezcló y centrifugó a 15,000rpm por 1 min y se eliminó el sobrenadante. El pellet se lavó con 1mL de etanol 70% y se secó. El DNA se resuspendió en 250µl de Tris 10mM con RNase Cocktail™ (InvitrogenTM) y se incubó por 2 h a 37°C.

D. Identificación de colonias msn4Δ

La identificación de colonias con la mutación *msn4*Δ se realizó mediante PCR por ausencia, PCR de los extremos 5´y 3´y PCR across. Los oligonucleótidos empelados se muestran en la Tabla 1. A partir de las colonias identificadas como *msn4*Δ se realizó un pasto y se guardó en glicerol 15%.

Tabla 1. Oligonucleótidos empleados en el presente trabajo

Oligonucleótido	Secuencia	Descripción
15	CGATAAGAGGCCACGTGCTTTATG	P_{PGK1}Rv-out
16	AGAAATACGCACGAACACGATATAGAGG	3ÚTRHIS3Fw-out
417	GCGGGTACCTTACAGCAGTTAATGATTGGG	*MSN4*, 3'UTR
418	GGCAGCAGAAGAGTCAG	*MSN4*, interno
419	GCGGGATCCTAAAGTCTCCGTGTCTTTTATGTG	*MSN4*, interno
1218	CTGTGTATTGTGTGCAGGG	*MSN4*, 5'UTR

III. RESULTADOS Y DICUSIÓN

El plásmido pRD97 se digirió para obtener un fragmento de 3146 pares de bases (fig. 2), que contiene la secuencia que codifica para el gen *hph* con los extremos 5´y 3´ homólogos a *MSN4*, ya que se busca la inserción del fragmento por recombinación homóloga en el sitio del gen *MSN4* (fig. 3). El plásmido pRD97 tiene otro sitio de restricción para *BcgI*, por lo que se muestran bandas adicionales en el gel de 2.4 Kb y 1.6 Kb.

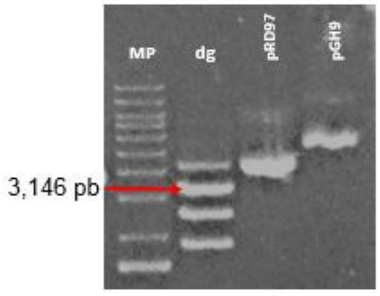


Fig. 2. Digestión del plásmido pRD97. MP: marcador de peso molecular, dg: digestión del plásmido pRD97, pRD97: plásmido pRD97 sin digerir, pGH9 plásmido pGH9. Se indica el fragmento de interés para la transformación.

El crecimiento colonias definidas de las células transformadas con pGH9 (datos no mostrados) evidencia la efectividad del método de transformación. Respecto a las transformantes con el plásmido pRD97, se observó un crecimiento

homogéneo en las cajas con 300 y 200 µL y colonias aisladas en la caja con 100 µL (datos no mostrados), por lo que el resto de las pruebas se realizaron considerando solo esta caja.

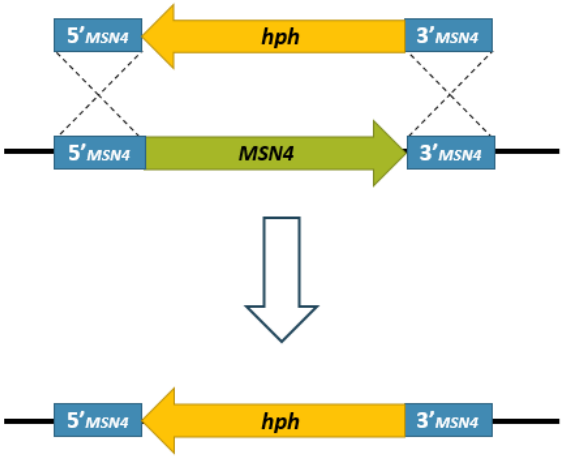


Fig. 3. Transformación de *C. glabrata* BG14. La inserción del fragmento de interés se hará por doble recombinación homóloga en el sitio del gen *MSN4*, la sustitución conferirá resistencia a higromicina.

A. PCR por ausencia

Para el diagnóstico por ausencia se usaron los oligonucleótidos #418 y #419, los cuales son complementarios a secuencias dentro del gen *MSN4*, por lo que de llevarse a cabo la recombinación homóloga no se observaría amplificación. El par de oligonucleótidos empleados dan un producto de PCR de 987 pb. Del total de las colonias analizadas solo se detectaron 4 candidatas, que corresponden con los números 5, 6, 13 y 17. Como control positivo se empleó la cepa BG14 de *C. glabrata*.

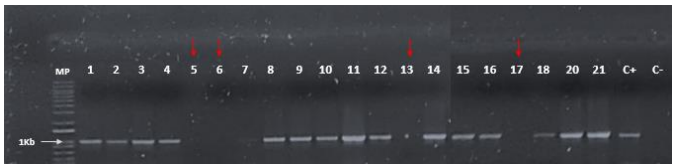


Fig. 4. Las colonias 5, 6, 13 y 17 carecen del gen *MSN4*. Los oligonucleótidos #418 y #419 un fragmento en aproximadamente 987 pb. Se busca la ausencia de amplificación. MP: marcador de peso molecular, C+: control positivo, C- control negativo, números 1 a 21 colonias evaluadas.

B. PCR de los extremos 5´y 3´

De las colonias candidatas 5, 6, 13 y 17 se llevó a cabo el diagnóstico de los extremos 5´y 3´. Se emplearon oligonucleótidos complementarios al genoma de *C. glabrata* y al gen *hph*. Para el extremo 5´, se emplearon los oligonucleótidos #1218 y #16, que amplifican un fragmento de 1kb. Para el extremo 3´se emplearon los oligonucleótidos #15 y #417, que amplifican para un fragmento de 1kb. Solo las colonias 13 y 17 (fig. 5 a y b) tienen un fragmento amplificado con los tamaños deseados.

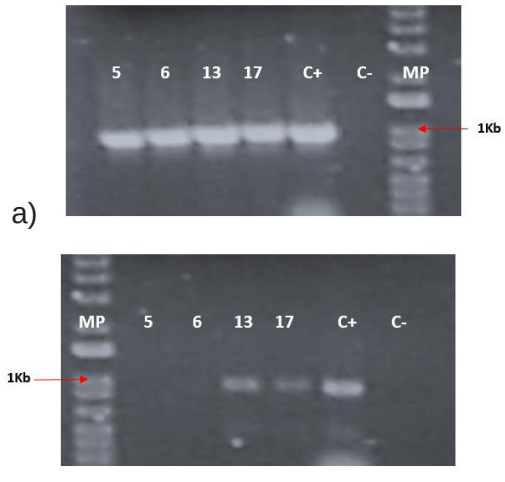


Fig. 5. Las colonias 13 y 17 muestran recombinación en los extremos 5' y 3' del gen *MSN4*. a) PCR del extremo 5´, todas las colonias amplificaron un producto de 1Kb b) PCR del extremo 3´, solo las colonias 13 y 17 amplificaron un fragmento de 1Kb. MP: marcador de peso, C+: control positivo, C- control negativo, números: colonias evaluadas.

C. PCR across

Para este análisis se emplearon los oligonucleótidos #1218 y #417, con un producto de 3.8 Kb (fig. 6). La cepa BG14 de *C. glabrata* se empleó como control negativo de recombinación, de la cual se espera un fragmento de 3.4 Kb. Como control positivo se empleó la cepa *msn2Δ msn4Δ* de *C. glabrata*. Las cepas 13 y 17 fueron positivas.

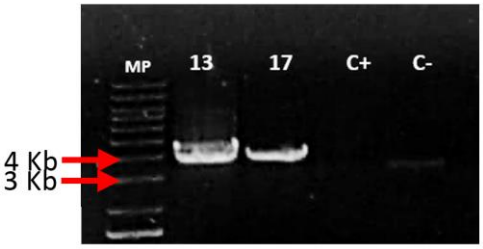


Fig. 6. Las colonias 13 y 17 son positivas a la recombinación en el sitio del gen *MSN4*. Se muestran los fragmentos amplificados de 3.8 Kb. MP, marcador de peso molecular. C+: control positivo *C. glabrata msn2Δ msn4Δ*, C- control negativo de recombinación *C. glabrata* BG14.

IV. CONCLUSIONES

C. glabrata tiene diversos factores de virulencia cuyos mecanismos de acción representan importantes áreas de estudio para desarrollar estrategias en el tratamiento de las infecciones que genera. Durante la obtención de la mutante *msn4*Δ fue evidente la importancia de la preparación reciente de las soluciones de transformación, ya que el protocolo debió realizarse varias veces. Posiblemente las colonias 5 y 6 resultaron negativas porque la secuencia de DNA insertada sufrió algún tipo de daño (corte) en su trayecto al interior de la célula, o bien que pudo tratarse de una inserción en tándem. El control positivo en la PCR across posiblemente no amplificó por un exceso de DNA en la misma. Con la mutante obtenida se podrán llevar a cabo algunas pruebas para determinar el efecto que Msn4 tiene sobre la respuesta al estrés oxidante en *C. glabrata.*

V. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro, al comité organizador del 21° Verano de la Ciencia, al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica y especialmente al Dr. Alejandro De Las Peñas Nava y a todo su equipo de trabajo; por toda la ayuda, en tantos sentidos.

VI. REFERENCIAS

Briones-Martin-Del-Campo, M., Orta-Zavalza, E., Juarez-Cepeda, J., Gutierrez-Escobedo, G., Cañas-Villamar, I., Castaño, I., & De Las Peñas, A. (2014). The oxidative stress response of the opportunistic fungal pathogen Candida glabrata. Revista Iberoamericana de Micologia, 31(1), 67–71. https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.09.012

Brown, A. J., Haynes, K., & Quinn, J. (2009). Nitrosative and oxidative stress responses in fungal pathogenicity. Current Opinion in Microbiology, 12(4), 384–391. https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.06.007

Cormack, B. P., & Falkow, S. (1999). Efficient homologous and illegitimate recombination in the opportunistic yeast pathogen Candida glabrata. Genetics, 151(3), 979–987.

Cuéllar-Cruz, M., Briones-Martin-del-Campo, M., Cañas-Villamar, I., Montalvo-Arredondo, J., Riego-Ruiz, L., Castaño, I., & De Las Peñas, A. (2008). High resistance to oxidative stress in the fungal pathogen Candida glabrata is mediated by a single catalase, Cta1p, and is controlled by the transcription factors Yap1p, Skn7p, Msn2p, and Msn4p. Eukaryotic Cell, 7(5), 814–825. https://doi.org/10.1128/EC.00011-08

Gutiérrez-Escobedo, G., Orta-Zavalza, E., Castaño, I., & De Las Peñas, A. (2013). Role of glutathione in the oxidative stress response in the fungal pathogen Candida glabrata. Current Genetics, 59(3), 91–106. https://doi.org/10.1007/s00294-013-0390-1

Kumar, K., Askari, F., Sahu, M., & Kaur, R. (2019). Candida glabrata: A Lot More Than Meets the Eye. Microorganisms, 7(2), 39. https://doi.org/10.3390/microorganisms7020039

Luna-Arvizu, G. G. (2017). " La respuesta al estrés oxidante de Candida glabrata a través de la regulación génica de CTA1 ." (Tesis de pregrado). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., San Luis Potosí, S.L.P, 2017.

Roetzer, A., Gregori, C., Jennings, A. M., Quintin, J., Ferrandon, D., Butler, G., … Schüller, C. (2008). Candida glabrata environmental stress response involves Saccharomyces cerevisiae Msn2/4 orthologous transcription factors. Molecular Microbiology, 69(3), 603–620. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06301.x

Roetzer, A., Klopf, E., Gratz, N., Marcet-Houben, M., Hiller, E., Rupp, S., … Schüller, C. (2011). Regulation of Candida glabrata oxidative stress resistance is adapted to host environment. FEBS Letters, 585(2), 319–327. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.12.006

Zordan, R. E., Ren, Y., Pan, S. J., Rotondo, G., Iluore, A. D. L. P., & Cormack, B. P. (2013). Expression plasmids for use in Candida glabrata. G3: Genes, Genomes, Genetics, 3(9), 1675–1686. https://doi.org/10.1534/g3.113.006908

7 ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORES 2019

IDEAS JÓVENES PARA IMPULSAR EL CRECIMIENTO DEL PAÍS

V

Ingeniería e Industria

CONCYTEQ

Índice

Estudios hidráulicos para la construcción de drenaje pluvial en carreteras en el municipio de Colon Querétaro
José Melquiades Castañeda Lira, Roberto Felipe Hernández González, Pablo Talamantes Contreras, Mario Trejo Perea

Análisis forense de las lluvias registradas en los días 26 y 27 de septiembre del año 2017 caso: dren Arenal
Josué Elizondo Gómez, Alfonso Gutiérrez-López, Bruno Miguel Paz Aviña, Carlos Aguilar Nuño, Montserrat Alcántar Rodríguez, José Escamilla Guzmán, Rodrigo García Benítez, Diego Garfias Benítez, Francisco Granados Hernández, Alan Hernández Paredes, Luis Montoya Ruiz, Jesús Osornio Ramírez, María Santoyo Reyes, Catalina Vázquez Arvizu, Luis Ventura Mojica, Francisco Zúñiga Acosta

Detección de proteína en leche de vaca usando interferometría
Abraham Gastélum-Barrios, Genaro M. Soto Zarazúa, Edgar Rivas Araiza, Daniel Jauregui Vazquez

Sistema automatizado para síntesis química de películas delgadas
Adrián Levi González Rostro, Eduardo Alexander Ordaz Fernández, Miguel Ángel Saldaña Salas, Giselle Hernández Pérez, Diana Laura García Antonio, Mónica Balvanera Ortuño López, Víctor Levi González Ajüech, Sara Castilla Rosell

Aplicación IoT para el monitoreo del lubricante en una máquina troqueladora
Alejandro Guerra Guevara, Guillermo Maldonado Lora, Rosa Elena Rojas Malagón, Luis Ángel Fonseca Martínez, José Luis Avendaño Juárez

Bloque de mucilago de nopal para la construcción: BLOPET
Luis Diego Ortíz Contreras, Mario Trejo Perea

Estudio de propiedades ópticas y térmicas de puntos cuánticos de InP
Juan José Ortiz-Estrada, J. Martín Yañez-Limón, M. Lucero Gómez-Herrera, Daladier A. Granada-Ramírez, Julio G. Mendoza-Alvarez

Despliegue de máquinas virtuales en un cliente ligero controlado mediante identificación de radio frecuencia utilizando el protocolo Spice y Gtk.
Eric Octavio Rodríguez García, José Martin Carrillo Morales, Sandra Luz Canchola Magdaleno, Ricardo Chaparro Sánchez

Estudios hidráulicos para la construcción de drenaje pluvial en carreteras en el municipio de Colon Querétaro.

José Melquiades Castañeda Lira
Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, México.
castanedalirajose@gmail.com

Roberto Felipe Hernández González
Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, México.

M.I. Pablo Talamantes Contreras
Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, México.

Dr. Mario Trejo Perea
Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, México.

Resumen

Introducción: Una metodología que sea eficiente para el diseño de un drenaje pluvial en carreteras de acuerdo con las condiciones del terreno presentes en la carretera Colon Qro, así como la construcción del drenaje para presentar un proyecto aceptable. **Objetivo:** Realizar un estudio para conocer las condiciones de la zona ah intervenir para presentar un modelo eficiente para el diseño y construcción de un drenaje pluvial eficiente. **Metodología**: El trabajo experimental inicio con el levantamiento topográfico de la zona y de ahí partimos para conocer las condiciones del terreno y establecer los puntos críticos donde hay más acumulación de agua, así como los puntos de desemboque del agua pluvial. Se realizo una investigación de la precipitación anual y mensual de la zona para conocer los meses más lluviosos. Para poder así determinar el diseño del drenaje pluvial. **Resultados:** Se obtuvieron los datos hidrológicos sobre las precipitaciones mensuales y anuales del municipio de Colón para proyectar una primera visión del sistema de drenaje en la carretera. Se obtuvo los datos sobre los sedimentos que trasporta el agua en esa zona su tamaño y características. **Conclusiones:** Se propone un sistema de drenaje pluvial aislado que consta de un canal cerrado subterráneo a lo largo de la carretera, se colocaran estructuras de captación transversales y longitudinales con reja metálica de línea media.

Palabras clave: Drenaje pluvial, caudal, precipitación mensual, sedimentos, socavación, mecánica fluvial granulometría, alcantarillado, clasificación Attemberg, periodo de retorno, cuenca hidrológica, exutorio, escurrimiento, cunetas, muestreo, tamizado, Angulo azimut, durabilidad, resistencia, rugosidad, corrosión, impermeabilidad.

Abstract

Introduction: A methodology that is efficient for the design ofstor mwater drainage on roads according to the soil conditions present in the Colon Qro Road, as well as the construction of the drainage to present an acceptable project.
Objective: To carry out a study to know The conditions of the zone to intervene to present an efficient model for the design and construction of an efficient pluvial drainage.
Methodology: The experimental work began with the topographical survey of the area and from there we started to know the conditions of the terrain and establish the critical points where there is more accumulation of water, as well as the discharge points of rainwater. We conducted an investigation of the annual and monthly rainfall of the area to know the rainy months. In order to determine the design of the storm drain.
Results: Hydrological data were obtained on the monthly and annual rainfall of the municipality of Colón to project a first view of the drainage system on the road. We obtained the data about the sediments that the water transports in that zone its size and characteristics.
Conclusions: An isolated rainwater drainage system consisting of a closed underground channel along the road is proposed, transverse and longitudinal catchment structures with a metal grid of medium line will be placed.
Key words: pluvial drainage, flow, monthly precipitation, sediments, undercutting, fluvial mechanics particle size, sewerage, Attemberg classification, return period, hydrological basin, Exutorio, runoff, gutters, sampling, sifting, Azimuth angle, durability, resistance, roughness, corrosion, impermeability.

I. Introducción

Cuando se habla de obras de ingeniería civil se ponen en la mesa varias áreas de estudio que en conjunto conducirán al éxito y una larga vida útil de la misma, uno de estos temas es la hidrología y la hidráulica pues está presente en todas las obras de ingeniería civil y en una parte de estas representa un factor muy importante a tomar en cuenta para asegurar el futuro de la obra.

Existen gran cantidad de casos de obra civil que presentan fallos y toda clase de inconvenientes debido a una mala planeación en el tema de la hidráulica e hidrología ya que en muchos casos [1]"Existe un rezago entre la "hidrología y la hidráulica" como ciencia y la "hidrología y la hidráulica aplicada" en proyectos de la vida real, ya que el estudio de las ciencias tienden a postular hipótesis para modelos muy complejos y sofisticados que requieren mucha información y que son prácticamente inaccesibles a los ingenieros practicantes" esto provoca un mal manejo de información y una mala planeación hidrológica.

Al entrar en materia de proyectos viales y de comunicaciones terrestres el aspecto hidrológico toma gran importancia puesto que proyectos de este índole involucran otra gran cantidad de obras de ingeniería tales como cuencas, caudales, drenajes, cunetas, alcantarillados, canales etc.[1] "La vida útil de los proyectos viales está muy relacionada con los drenajes y subdrenajes presentes en la vía y sus obras asociadas, por lo que se requiere de un cuidadoso estudio del comportamiento hidrológico de la región para poder llevar a cabo de forma satisfactoria el diseño hidráulico de todas estas obras." de lo contrario se presentan percances que comprometen el funcionamiento y cuidado de estas obras civiles tales como inundaciones, baches daños estructurales incluso la falla en el peor de los casos.

El estudio de la precipitación anual o mensual nos ayuda a conocer la época del año donde se presenta el mayor conflicto de inundaciones sobre la carretera de acuerdo con [2] afectando los negocios en las cercanías ya que en el municipio de Colon en cabecera municipal se presenta todos los años durante el temporal de lluvias un problema de inundaciones sobre la Carretera Estatal No. 111 en el km 1 esto causa severos daños a los habitantes del la zona y desgaste a la estructura vial.

El levantamiento topográfico de la zona que se aplica depende de las condiciones del terreno y del equipo utilizado para recopilar información de vital importancia para realizar el diseño de drenaje ya que podemos conocer las posibles zonas de desemboque y los puntos críticos donde el drenaje actual ya no es eficiente y con eso establecer un diseño eficiente para la zona, así como conocer la dirección del caudal y las construcciones cercanas a la zona como se especifica en [3]

El estudio de la granulometría del sedimento permite conocer las características del sedimento arrastrado por el caudal y con ello poder realizar un diseño previo del tipo de alcantarillado a utilizar para posteriormente realizar el cálculo hidráulico fluvial y conocer la mecánica fluvial del cauce que se forma. [3]

Clasificación granulométrica es importante el poder clasificar en grupos de diferentes tamaños y características para su estudio en particular a las partículas de los sedimentos movidos por el agua ya que su estudio se hace más fácil ya que existe una clasificación usando unidades internacionales llamada clasificación Attemberg.

[3] Periodo de retorno es una probabilidad relacionada directamente con eventos en los cuales su magnitud no está prevista en el diseño por lo cual puede afectar la vida útil de un proyecto, es importante realizar un cálculo de este periodo para la confiabilidad del proyecto

Cuenca hidrológica es un área de captación natural del agua de precipitación de la lluvia que hace converger los escurrimientos hacia un único punto de salida. Este punto de salida es denominado exutorio. Una cuenca hidrográfica está compuesta por un conjunto de superficies vertientes constituidas por la superficie del suelo y de una red de drenaje formada por los cursos de agua que confluyen hasta llegar a un lecho único en el punto de salida.

. [3] Diseño de alcantarillado la adecuada elección de la ubicación, alineación y pendiente de una alcantarilla es importante, ya que de ella depende su comportamiento hidráulico, los costos de construcción y mantenimiento, la estabilidad hidráulica de la corriente natural y la seguridad de la carretera.

II. Metodología

Se tratarán los aspectos relacionados con el escurrimiento de agua, tanto superficial como subterránea. Se da particular importancia al mantenimiento de los cursos de agua existentes, tanto en cantidad y calidad como en su morfología.

Se busca eliminar el exceso de agua superficial sobre la franja del camino y restituir la red de drenaje natural, la cual puede verse afectada por el trazado y evitar que el agua subterránea pueda comprometer la estabilidad de la base, de los terraplenes y cortes del camino.

Para cumplir estos fines se requiere:

- Estimar la magnitud y frecuencia del escurrimiento producido por las tormentas.
- Conocer el drenaje superficial natural del terreno y restituir aquellos drenajes interceptados por el camino.
- Determinar las características del flujo de agua subterránea.
- Estudiar el efecto que la carretera tiene sobre los canales y cursos de agua existentes, cuyo trazado deba ser modificado.

Las obras de drenaje en una carretera abarcan desde pequeñas alcantarillas y cunetas longitudinales hasta obras de drenaje importantes y puentes de gran costo. Cada una de ellas requiere de algún tipo de análisis hidrológico cuya extensión y alcance dependerá del nivel del estudio y de la importancia de la obra. [4]

Se toman en cuenta las características fisiográficas de la cuenca, lo cual es fundamental en la naturaleza del escurrimiento.

Se define la cuenca de drenaje de una corriente como el área que contribuye al escurrimiento y que proporciona parte a todo el flujo de la corriente principal y sus tributarios; se dice “parte o todo” por que casi nunca coincide la cuenca definida (de drenaje superficial) con las correspondientes de flujo subterráneo, siendo posible que exista flujo base proveniente de otra cuenca. [5]

Se estudio la configuración del terreno obteniendo por medio de un levantamiento topográfico características que son de suma importancia para el diseño de una drenaje pluvial, estos aspectos abarcan desde la superficie total a trabajar, construcciones cercanas a la zona afectada así como la pendiente natural del terreno que deberá cumplir con un valor especifico o cercano para que pueda funcionar de la manera correcta o en dado caso modificar la pendiente de la zona para proponer una mejor ubicación del tipo de alcantarillado.

El estudio de granulometría se obtuvo a partir de trabajo de campo en donde se tomo un muestreo de los sedimentos arrastrados por el agua en el alcantarillado para después realizar pruebas en el laboratorio ocupando el tamizado de la muestra haciendo pasar la muestra a través de mallas de diferentes tamaños para poder así determinar el tamaño máximo del sedimento como el tamaño mas pequeño del mismo dando así otro aspecto importante con el cual el diseño del drenaje pluvial toma forma al determinar cuál será el trabajo hidráulico optimo para las condiciones en las que estará sometido.

Granulometría por tamizado Es un proceso mecánico mediante el cual se separan las partículas de un suelo en sus diferentes tamaños, denominado a la fracción menor (Tamiz No 200) como limo, Arcilla. Se lleva a cabo utilizando tamices en orden decreciente. La cantidad de suelo retenido indica el tamaño de la muestra, esto solo separa una porción de suelo entre dos tamaños. El análisis granulométrico por tamizado se realiza a las partículas con diámetros superiores a 0,075 mm. (Malla 200), este ensayo se hace con una serie de mallas normalizadas (a cada número de malla le corresponde una abertura estándar), dispuestos en orden decreciente.

III. Marco conceptual

A. Estudios granulométricos de sedimentos.

Estos estudios determinan los tamaños de las partículas que trasporta el agua, sus dimensiones máximas y mínimas. El estudio de sedimentos en los diferentes ambientes que gobiernan en un ciclo sedimentario permite obtener información acerca del origen de estos, distancia recorrida a lo largo de su trasporte, condiciones en el momento de su deposición, en fin. Demuestran la mecánica y dinámica de los procesos ocurridos hasta el momento en que se encuentran formando depósitos. Con base en estos datos se diseñará el tipo de alcantarilla pues debe estar en función de los tamaños para evitar la obstrucción del drenaje.

[3] Existen diversos métodos posibles de emplear, los cuales dependen de las características del material y de los objetivos del análisis. Cuando el sedimento es relativamente fino y uniforme (arenas), el análisis granulométrico es el estándar. Sin embargo, cuando el sedimento es grueso y de granulometría bien graduada este análisis se complica.

B. Cuencas Hidrológicas

Una cuenca es una cavidad natural en la que se acumula agua de lluvia. Esta circula hacia una corriente principal y finalmente llega a un punto común de salida. Unidad básica para la gestión de los recursos hídricos. Una región hidrológico está conformada por una o varias cuencas hidrológicas.

C. Criterios Hidrológicos

Periodo de retorno:

Se debe principalmente a la confiabilidad que se le da a un proyecto a lo largo de la vida útil del mismo cuando ocurra un evento de magnitud superior al utilizado cuando se calculó la vida útil. Esta dada por la siguiente función:

$$r = 1 - \left(1 - \frac{1}{t}\right)^n$$

Donde r es la probabilidad de falla que está en función del periodo de retorno (t, años) y la vida útil (n, años).

Tabla 2_1 PERIODO DE RETORNO Y RIESGO DE FALLA SEGÚN VIDA UTIL

Riesgo (r, %)	Vida útil (n, años)			
	10	20	25	50
50	15	29	37	73
25	35	70	87	174
10	95	190	238	475
5	195	390	488	975
1	995	1.990	2.488	4.977

En esta tabla se toman en cuenta periodos de retorno estandarizados para proyectos de obras viales según [3]

D. Criterios hidráulicos

Son aspectos que forman parte importante del diseño en proyectos de obras vial ya que abarcan los siguientes puntos:

- Alineamiento con el cauce de la corriente
- Pendiente de la obra mínima y máxima
- Velocidad mínima y máxima
- Angulo azimut en concordancia con el alineamiento del cauce

E. Diseño de alcantarillado

Forma de alcantarillado:

Existen dos diferentes tipos de trabajo hidráulico para estos casos el primero que podemos encontrar es:

Obras de tipo transversal que de acuerdo con. [1] constituidas por todas aquellas que permiten que el agua cruce la vía bajo la carpeta de rodadura y que entregan el caudal ladero abajo (entre ellas, para diseño hidráulico e hidrológico de obras de ingeniería para proyectos viales más comunes son las alcantarillas circulares y los cajones o box culverts)

Y las obras de tipo longitudinal y de acuerdo con [1] conformadas por canales y cunetas (típicamente de sección triangular o rectangular) que conducen el agua recogida en las laderas, en forma paralela al desarrollo del trazado, hasta entregarlas en el inicio de una obra transversal.

Estos dos tipos de trabajo hidráulico cumple su función, pero cada uno cumple con un caudal asociado ya que las de sección rectangular sirven

para evacuar grandes caudales de agua y presentan una ventaja de ubicación al poder colocarse en cambios de altura.

Material de alcantarillado:
El material más común para la fabricación de alcantarillado es el concreto armado, pero se debe tener en consideración los siguientes aspectos:

- Durabilidad
- Resistencia
- Rugosidad
- Condiciones del terreno
- Resistencia a la corrosión
- Abrasión e impermeabilidad

Factores para tomar en cuenta de acuerdo con [3]:

a) Factores Físicos y Estructurales:
- durabilidad
- altura disponible para la alcantarilla
- carga de tierra sobre ella
- condiciones de apoyo
- rigidez de la alcantarilla
- resistencia al impacto
- tipo de terreno existente

b) Factores Hidráulicos, tales como:
- caudal de diseño
- forma, pendiente y área de del cauce
- velocidad de aproximación
- carga hidráulica total admisible
- arrastre de sedimentos
- condiciones de entrada y salida
- pendiente de la alcantarilla
- rugosidad del conducto
- longitud y tamaño de la alcantarilla
-sección transversal

c) Factores de Construcción y Mantenimiento:
- accesibilidad del lugar
- disponibilidad de materiales

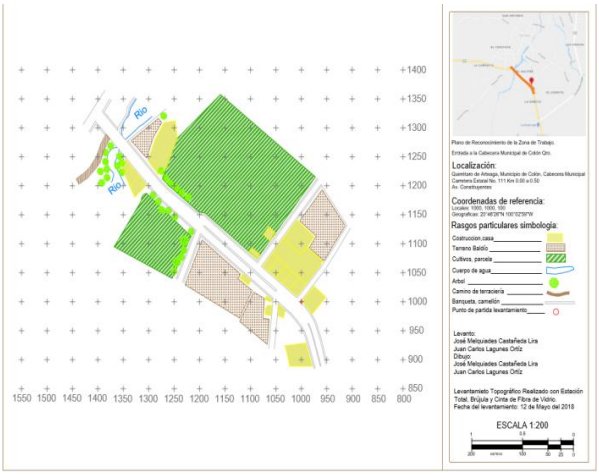
d) Costos de la Obra.

F. Factores Hidráulicos.

La eficiencia del funcionamiento hidráulico de una red de alcantarillado para conducir ya sea aguas residuales, pluviales o ambas, depende de sus características físicas. Mediante el empleo de algunos de los principios de la Hidráulica, se analizan y dimensionan desde estructuras sencillas tales como bocas de tormenta hasta otras más complicadas como son las redes de tuberías y de canales. Los conceptos básicos de Hidráulica, útiles para el diseño y revisión de una red de alcantarillado abarcan entre otros a los siguientes: tipos de flujo, ecuaciones fundamentales de conservación de masa (o de continuidad), cantidad de movimiento y energía, conceptos de energía específica, pérdidas de carga por fricción y locales, perfiles hidráulicos, salto hidráulico, estructuras hidráulicas especiales y métodos de tránsito de avenidas.

IV. Resultados

G. Levantamiento topográfico



Con el levantamiento realizado se aprecia el tramo de la carretera estatal 111 Colon-Querétaro que se ve afectada por las lluvias al igual que se aprecia las construcciones aledañas a la carretera contando con un total de 15 de las cuales 7 son casas y el restante son negocios en la orilla de la carretera también se puede apreciar que la mayor zona a lo largo del tramo afectado son cultivos oh parcelas a lo largo de toda la carretera hasta la entrada de la comunidad de colon donde se encuentra un cuerpo de agua en ambos extremos de la carretera que se conectan entre si y sigue su cauce natural.

Con el levantamiento pudimos obtener el área de trabajo con un total de area: 17555.730 m^ 2 y perímetro: 1296.3781 m

H. Estudios de precipitación mensual y anual

Se realizo una investigación acerca de antecedentes de precipitación en esta zona para

así poder determinar la magnitud y el cambio que ha sufrido a lo largo del tiempo para comprobar la eficacia del drenaje pluvial existente y de acuerdo con [2] se obtuvieron los siguientes datos

Tomando en cuenta la información del Servicio Meteorológico Nacional al dato de 2005 podemos apreciar que el promedio de precipitación anual es de aproximadamente de 500 ml comparándolo con el año más seco un 59 % del promedio fue la precipitación del año donde hubo menos lluvias y para el año más lluvioso respecto al promedio se incrementó 180%.

PRECIPITACIÓN TOTAL ANUAL CUADRO 1.6.3
(Milímetros)

ESTACIÓN	PERIODO	PRECIPITACIÓN PROMEDIO	PRECIPITACIÓN DEL AÑO MÁS SECO	PRECIPITACIÓN DEL AÑO MÁS LLUVIOSO
COLÓN	De 1960 a 2005	481.9	285.6	869.3

FUENTE: CNA. Registro Mensual de Precipitación Pluvial en mm. Inédito.

La información mensual nos ofrece mucha más información específica pues así podemos observar los meses en donde se presenta la mayor y la menor precipitación.

PRECIPITACIÓN TOTAL MENSUAL CUADRO 1.6.3.1
(Milímetros)

ESTACIÓN Y CONCEPTO	PERIODO	MES E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
COLÓN	2005	3.3	5.4	8.8	14.5	6.5	2.5	137.0	62.3	31.1	58.0	0.0	0.0
PROMEDIO	De 1960 a 2005	13.2	4.8	10.0	19.7	37.9	91.8	95.0	86.6	68.4	39.3	9.0	6.2
AÑO MÁS SECO	1996	0.0	0.0	0.0	9.5	57.5	47.5	31.6	57.5	58.0	24.0	0.0	0.0
AÑO MÁS LLUVIOSO	1971	0.0	0.0	0.0	0.0	105.0	252.3	75.9	196.0	150.1	78.0	3.0	9.0

FUENTE: CNA. Registro Mensual de Precipitación Pluvial en mm. Inédito.

I. Cuenca hidrológica

Realizando un bosquejo y de acuerdo con [2] el municipio de Colón Querétaro pasa por 2 cuencas como se observa a continuación:

REGIONES, CUENCAS Y SUBCUENCAS HIDROLÓGICAS CUADRO 1.7

REGIÓN CLAVE	REGIÓN NOMBRE	CUENCA CLAVE	CUENCA NOMBRE	SUBCUENCA CLAVE	SUBCUENCA NOMBRE	% DE LA SUPERFICIE MUNICIPAL
RH12	LERMA-SANTIAGO	H	R. LAJA	d	R. APASEO	30.25
RH26	PÁNUCO	D	R. MOCTEZUMA	c	R. EXTÓRAZ	48.08
				d	SAN JUAN	21.67

FUENTE: **INEGI**. Continuo Nacional del Conjunto de Datos Geográficos de la Carta Hidrológica de Aguas Superficiales, 1:250 000, serie I.

En donde la región de Lerma-Santiago (RH12) y Panuco (RH26) con su cuenca Rio Laja (H) y Rio Moctezuma respectivamente son las cuencas principales donde desemboca el rio de colon.



J. Análisis granulométrico

Muestra=3 kg	Tamizado 1	Tamizado 2	Tamizado 3	Materia orgánica
Grava fina	.642 kg	.600 kg	.652 kg	5% tamizado 1
Arena gruesa	1.204 kg	1.389 kg	1.258 kg	1.76% tamizado 2
Arena fina	1.004 kg	.958 kg	.856 kg	7.8% tamizado 3
Total	2.85 kg	2.947 kg	2.766 kg	14.56%

Gracias al análisis experimental de sedimentología pudimos obtener el tamaño máximo y mínimo de sedimento arrastrado por el cauce del agua, esta clasificación tomo como base el sistema internacional y su clasificación granulométrica es Attemberg.

Dimensión de la partícula elemental (mm)	Attemberg – (Sistema Internacional)	U.S. Dep. De Agricultura	Ex – U.R.S.S.
<0,001	Arcilla	Arcilla	Arcilla
<0,002			Limo fino
0,005	Limo	Limo	
0,01			Limo medio
0,02			Limo grueso
0,05	Arena fina	Arena muy fina	
0,1			Arena fina
0,25		Arena fina	
0,2			Arena media
0,5	Arena gruesa	Arena gruesa	
1,0			
2,0		Arena muy gruesa	Arena gruesa
3,0	Grava fina	Grava fina	
5,0			Grava
10,0	Grava	Grava	
20,0	Grava gruesa y piedras	Grava gruesa y piedras	
>20,0			Grava gruesa y piedras

V. Conclusiones

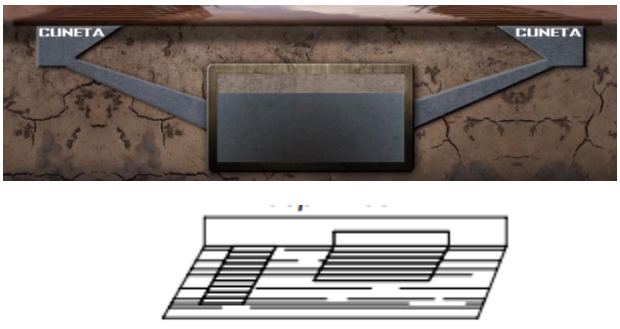
El sistema de alcantarillado pluvial a diseñar será un sistemas separado es decir estará aislado del sistema de alcantarillado de aguas residuales y domesticas de la zona esto nos dará un mejor

aprovechamiento del sistema para evitar una sobre carga.

Pues como explica en [8] el uso de sistemas de alcantarillado separados tiene ventajas tales como el tratamiento de menores volúmenes de aguas residuales, así como el posible reúso o aprovechamiento de las aguas pluviales. De esta forma, se invierte en la construcción de plantas de tratamiento de aguas residuales de menor tamaño, pues los volúmenes de aguas pluviales son muy superiores a los correspondientes a las aguas residuales domésticas e industriales.

Se determino un diseño con un canal longitudinal subterráneo a lo largo de la carretera, este tendrá una sección trasversal circular o en herradura con colectores laterales así como la presencia de coladeras de reja perpendiculares a la carretera y del mismo ancho cada 30m. Estas secciones trasversales tendrán sus desarenadores correspondientes para evitar que el canal principal subterráneo se obstruya con los sedimento más pesados que arrastra el caudal.

Los colectores laterales estarán construidos con concreto y el canal principal subterráneo será de concreto armado, la pendiente natural que tendrá el drenaje es de 1.3% gracias a esto el agua será conducida a rio del pueblo donde se pondrán tres vertedores finales para canal principal para descargar el caudal.



g) Transversal, combinada con una de piso y banqueta.

Referencias:

[1] J. Vélez Upegui y varios, Diseño Hidráulico e Hidrológico de Obras de Ingeniería para Proyectos Viales, Manizales, Colombia: Blanecolor S.A.S., 2013, pp 1

[2] INEGI, Aspectos Geográficos Históricos Colon Querétaro de Arteaga Cuadernillo Estadístico Municipal 2006

[3] VOLUMEN I Especificaciones Técnicas Generales para el Diseño de Puentes y Drenajes Capitulo 2 Hidrología e Hidráulica pág. 72

[4] Ing. Romero Magaña G., Hidrología e Hidráulica en Proyectos Carreteros, Ciudad de México, Facultad de Ingeniería U.N.A.M. Cursos Institucionales, 1996, pag.1

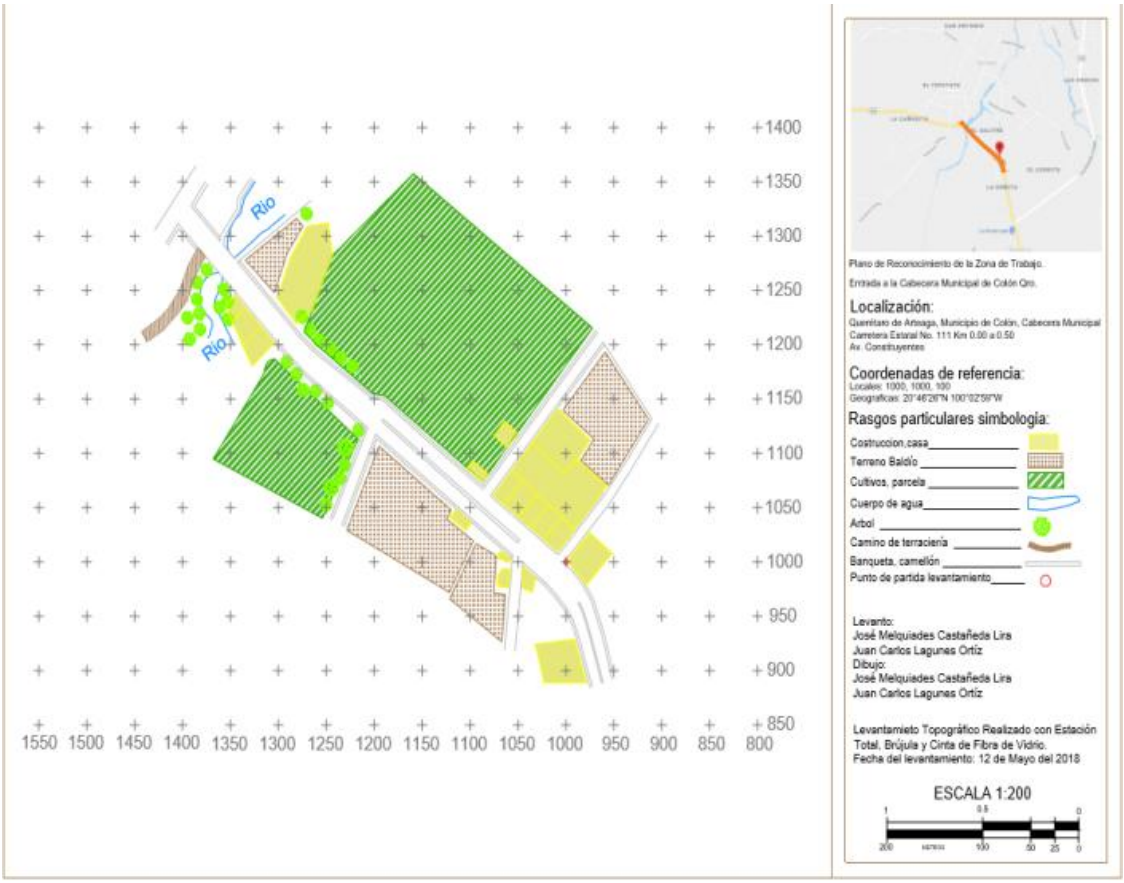
[5] BARBOSA, P.R. Hidrología general – Notas de aula. Rio de Janeiro: Universidad Federal do Rio de Janeiro, s.d.

[6] LEINZ, V.; AMARAL, S.E.do. Geología general. 14.ed. rev. São Paulo: Nacional, 2001. Pag:399.

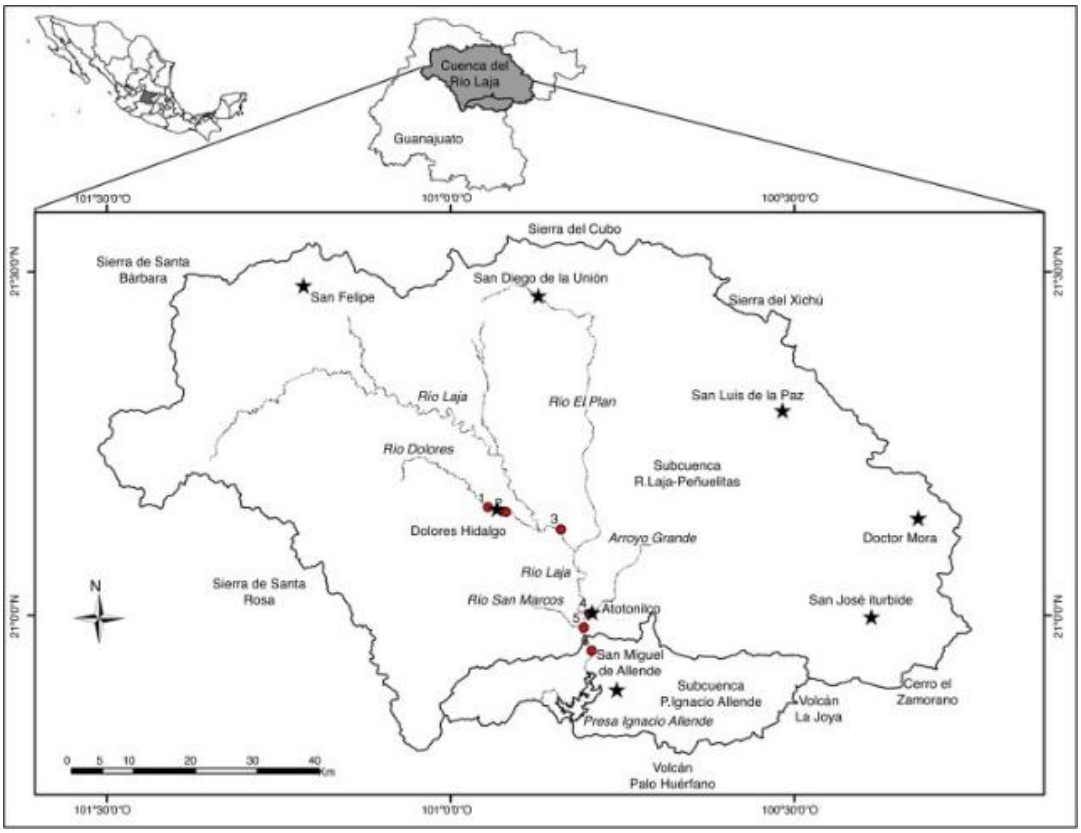
[7] PINTO, N.L. de S. Hidrología Básica. São Paulo: Edgard Blucher, 1976.

[8] Comisión Nacional de Aguas, Manual de agua potable, alcantarillado y saneamiento, México D.F. 2007, Comisión Nacional de Aguas.

Anexo 1



Anexo 2



Análisis forense de las lluvias registradas en los días 26 y 27 de septiembre del año 2017 caso: dren Arenal

Josué Elizondo Gómez*, Alfonso Gutiérrez-López (asesor). Bruno Miguel Paz Aviña, Carlos Aguilar Nuño, Montserrat Alcántar Rodríguez, José Escamilla Guzmán, Rodrigo García Benítez, Diego Garfias Benítez, Francisco Granados Hernández, Alan Hernández Paredes, Luis Montoya Ruiz, Jesús Osornio Ramírez, María Santoyo Reyes, Catalina Vázquez Arvizu, Luis Ventura Mojica y Francisco Zúñiga Acosta

Centro de Investigaciones del Agua, CIAQ Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro. Circuito Universitario Cerro de las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, Querétaro, México

*autor de correspondencia: elizondojosue46@gmail.com

Resumen

La ciudad de Querétaro cuenta con infraestructura hidráulica pluvial que permite desalojar los escurrimientos producto de la precipitación en exceso. Lamentablemente tal infraestructura, en la mayoría de los casos, ya cumplió su vida útil y el crecimiento de la ciudad dificulta el mantenimiento de los conductos principales. Desafortunadamente esta situación y el crecimiento de las zonas impermeables, ha provocado un aumento en los coeficientes de escurrimiento y una disminución de los tiempos de traslado del flujo superficial. Esta situación ha provocado, en años recientes, escurrimientos súbitos e inundaciones graves dentro de la zona urbana de nuestra ciudad. La hidrología forense se basa en cuatro actividades fundamentales: (i) la protección de la escena del desastre, (ii) la inspección técnica del lugar, (iii) la búsqueda y recolección de indicios y (iv) la reconstrucción de los hechos. De esta forma se utilizan los datos de intensidad de precipitación (i), duración de tormenta (d) y probabilidad de ocurrencia (periodo de retorno, T), monitoreados a tiempo real por la Red de Monitoreo de Precipitaciones Extremas de Querétaro (RedCIAQ); para reconstruir la tormenta que azotó Querétaro los días 26 y 27 de septiembre del año 2017. Los resultados del análisis forense permiten reconstruir las velocidades, tirantes y la energía del escurrimiento superficial que provocaron socavones, arrastre de vehículos y cuantiosos daños materiales y económicos a nuestra ciudad. La metodología es aplicada al funcionamiento del dren Arenal, lugar en donde se produjeron los daños más graves. Esta metodología puede ser replicada a otras ciudades de nuestro país.

Palabras clave: hidrología forense, escurrimiento súbito, inundación, lluvia extrema, dren Arenal, Querétaro.

Abstract

The city of Querétaro has a hydraulic infrastructure that allows the evacuation of runoff due to excessive rainfall. Unfortunately, this infrastructure, in most cases, has already reached its useful life and the growth of the city makes it difficult to maintain the main pipelines. Unfortunately, this situation and the expansion of impermeable zones have caused an increase in runoff coefficients and a decrease in surface flow transfer times. This situation has caused, in recent years, sudden runoffs and severe flooding within the urban area of our city. Forensic hydrology analysis is based on four fundamental activities: (i) the protection of the disaster scene, (ii) the technical inspection of the site, (iii) the search and collection of evidence and (iv) the reconstruction of the events. In this manner, data on precipitation intensity (i), duration of storm (d) and probability of occurrence (return period, T), monitored in real time by the Querétaro Extreme Precipitation Monitoring Network (RedCIAQ), are used to reconstruct the storm that hit Querétaro on September 26 and 27, 2017. The results of the forensic analysis allow us to reconstruct the velocities, strains and energy of the surface runoff that caused sinkhole, vehicle dragging and

substantial material and economic damage to our city. The methodology is applied to the operation of the Arenal drain, place where the most serious damage occurred. This methodology can be replicated to other cities in our country.

Key words: forensic hydrology, flash-flood, flood, extreme rain, drain Arenal, Queretaro.

Introducción

En México, como en la mayoría de los países de América Latina y el Caribe (LAC), existe una escasez de datos confiables históricos de precipitaciones medidos en intervalos de tiempo menores a 24 horas. Sin embargo, existe una gran demanda de datos medidos a intervalos menores de 24 horas. Adicionalmente, los valores medidos en tiempo real son a menudo necesarios para la implementación de Sistemas de Alerta Temprana. En México, los desastres se miden por el impacto económico que produce daños y pérdidas, así como por los problemas causados en el entorno social: heridos y muertos; casas, escuelas y hospitales dañados, entre otros. El costo anual de los desastres está determinado por el impacto de los fenómenos climáticos extremos; por ejemplo, ocho ciclones tropicales afectaron a México durante el año 2005, el mayor número jamás registrado. La inundación más costosa de México tuvo lugar en Tabasco durante el año 2007 con un monto de 2.918 millones de dólares en daños. El año 2010 se caracterizó por tres huracanes: Alex, Karl y Matthew, mientras que en 2013 recibió dos más: Ingrid y Manuel, ambos los huracanes más destructivos hasta la fecha, donde 21 de los 32 estados de México fueron afectados. Del 2000 al 2014, 2147 millones de dólares en pérdidas y 186 muertes anuales (CENAPRED, 2016). En el tema de las lluvias, el año 2013 fue muy intenso, especialmente para el mes de septiembre, la profundidad histórica de las precipitaciones aumentó 60%, con respecto a la media histórica, registrando una media mensual de 227.3 mm; superando el récord registrado en 1955 de 212.1 mm (Gutierrez-Lopez, *et al*., 2019b). Las inundaciones y las lluvias extremas son actualmente un grave problema al que hay que prestar atención. Uno de los mecanismos utilizados por el gobierno mexicano para proteger y mitigar los daños causados por diferentes tipos de desastres es la implementación de Sistemas de Alerta Temprana. Desafortunadamente, pocos son los sistemas de alerta temprana que realmente funcionan en nuestro país. Las experiencias que se han tenido en cuanto a los desastres por inundaciones en México son muchas y han sido dolorosas.

En especial el estado de Querétaro es afortunado, ya que la Universidad Autónoma de Querétaro tiene bajo su responsabilidad la Red de monitoreo de Precipitaciones Extremas del estado de Querétaro RedCIAQ (www.redciaq.uaq.mx). Dicha red transmite libremente y a tiempo real (cada cinco minutos) ocho variables climatológicas: temperatura, precipitación, radiación solar, velocidad y dirección del viento, punto de rocío, presión atmosférica y humedad (Aguilar *et al.,* 2018). De esta forma se tienen los elementos que permiten generar un sistema de alerta a tiempo real para los habitantes de nuestra ciudad, la cual en años reciente ha permitido mantener alerta a la población a través de aplicaciones móviles que permiten el monitoreo a tiempo real de las láminas de precipitación (Ibarra *et al.,* 2018). Sin embargo, una vez que suceden los eventos catastróficos no queda más que aprender de lo ocurrido y tomar las previsiones futuras para la realizar una correcta gestión de inundaciones y una exitosa resiliencia de la población (Gutierrez-Lopez, *et al*., 2019a). Una alternativa que debe considerarse para obtenaer datos científicos después de que ocurre una inundación y de esta forma poder realizar una planeación eficaz a futuro; es el análisis forense de los desastres. En especial, la hidrología forense trata de reconstruir los hechos catastróficos y reconstruir lo sucedido. La hidrología forense se basa en cuatro actividades fundamentales: (i) la protección de la escena del desastre, (ii) la inspección técnica del lugar, (iii) la búsqueda y recolección de indicios y (iv) la reconstrucción de los hechos. Es así que el objetivo de este trabajo es reconstruir el evento de precipitación extrema que ocurrido entre el 26 y el 27 de septiembre de 2017 y que ocasionó grandes pérdidas y daños en la ciudad de Querétaro.

Metodología

Para este trabajo de utilizó información provista por la RedCIAQ. Se tiene acceso a una base de datos de variables climatológicas medidas a cada cinco minutos con el fin de contar con información histórica que tenga una mejor distribución en el tiempo en contraste con las estaciones meteorológicas convencionales que tan solo proporcionan láminas de precipitación acumuladas en 24 horas.

Delimitación de subcuencas

Una vez que se tiene el registro histórico de precipitaciones del 26 y 27 de septiembre de 2017, es primordial llevar a cabo la delimitación de las diferentes subcuencas que forman la cueca del río Querétaro que drena hacia la zona urbana de la ciudad. Con el objeto de delimitar las zonas de influencia de cada una de las subcuencas y en especial la de la subcuenca del dren Arenal, se procedió a la delimitación de los parte-aguas topograficos. Llevando a cabo tal proceso es posible determinar cuáles son los principales sistemas de subcuencas generados por la precipitación y por ende determinar cuáles son aquellas que tienden a escurrir sobre la zona de estudio. A partir de un sistema de información geográfico como el ArcGIS, es posible realizar diferentes tareas de análisis espacial. Como por ejemplo, la creación del modelo de sub-cuencas en archivos con extensión KMZ.

Asimismo, se puede efectuar la exportación de imágenes para crear un entorno amigable de trabajo. En especial, este trabajo es necesario para obtener todas las características, fisiográfica y ambientales de la cuenca. Con estas características se lleva a cabo el proceso de simulación de la respuesta al proceso lluvia-escurrimiento de la cuenca. En especial es necesario conocer las pendientes del terreno, las elevaciones medias de la cuenca y con datos *raster* del INEGI se calcula el porcentaje de uso de suelo para cada sub-cuenca. La figura 1, muestra los cauces principales y la delimitación de de sub-cuencas urbanas en la ciudad de Querétaro.

Curvas IDT

A partir de los hietogramas de precipitación obtenidos de la base de datos de la RedCIAQ se determinó en el año 2013, en una publicación técnica del Colegio de Ingenieros Civiles de Querétaro, CICQ, la caracterización de las tormentas típicas para el diseño de infraestructura hidráulica urbana. Mejor conocidas como curvas de intensidad-duración y periodo de retorno, las curva IDT permiten obtener los eventos de diseño para diversas obras hidráulicas (Gutierrez-Lopez *et, al.,* 2013). Es decir, para caracterizar un evento lluvioso se recurre a definir su comportamiento, lo que se conoce como: *régimen de un evento*; esto es, la magnitud y frecuencia de un fenómeno hidrometeorológico. De esta forma la magnitud de una tormenta se define por su intensidad (i) y su frecuencia por su probabilidad de ocurrencia o periodo de retorno (Tr). La construcción matemática de esta relación fue presentada por Sherman, en 1931 y modificada por Bernard, en 1932; es una ecuación del tipo:

$$\mathrm{i} = 51.55\,\frac{\mathrm{Tr}^{0.73}}{\mathrm{d}^{0.53}} \qquad (1)$$

donde

i es la intensidad de la precipitación (m/s)
k, m, n son constantes calculadas mediante un análisis de correlación lineal múltiple
Tr es el periodo de retorno (años)
d es la duración de la tormenta (minutos)

Al ser introducidos los datos correspondientes a la fisiología del sitio y los hietogramas generados con la curva IDT, se obtiene un caudal de salida en cada uno de los puntos de salida del sistema de sub-cuencas. Para sistematizar este cálculo del proceso lluvia-escurrimiento se utilizó el programa de cómputo HEC-HMS. Es un programa de modelación hidrológica desarrollado por el cuerpo de ingenieros del ejército de Estados Unidos. Este programa es gratuito y constituye la referencia obligada en los estudios hidrológicos para la Conagua en México y para varios otros países (Song *et al*., 2019). El resultado de este programa son hidrogramas de escurrimiento directo que permiten a partir de ellos, la simulación bidimensional del flujo superficial.

El modelo HEC-HMS

El *Hydrologic Modeling System* (HEC-HMS) es un programa de cómputo diseñado para simular planamente las diferentes etapas de los procesos hidrológicos que experimentan las cuencas. Dicho programa utiliza una amplia variedad de procedimientos para el análisis hidrológico tales como infiltraciones, hidrogramas unitarios, tránsito de hidrogramas, entre algunos otros. Para el fin de este trabajo se alimenta al HEC-HMS con las precipitaciones históricas registradas para el evento catastrófico ya comentado. Asimismo, es necesario introducir datos correspondientes a las características de la zona de estudios destacando entre ellos el área, la elevación, el tiempo de retraso, la longitud del cauce principal y el uso del suelo. En general el programa HEC-HMS utiliza diversos modelos teóricos del proceso lluvia-escurrimiento, siendo el más sencillo el método racional; el cual puede definirse con la expresión siguiente:

$$Q = CiA \qquad (2)$$

donde

Q es el gasto (m3/s)
C es el coeficiente de escurrimiento
i es la intensidad de la precipitación (m/s)
A es área de la cuenca (km^2)

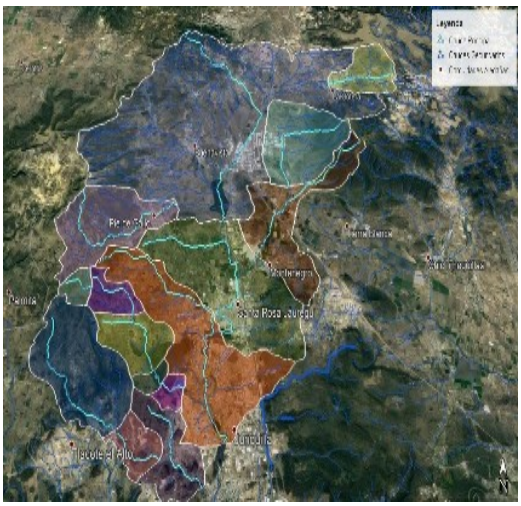


Figura 1. Cauces principales y delimitación de sistema de sub-cuencas en la ciudad de Querétaro

Es importante mencionar que el funcionamiento hidráulico de las sub-cuencas del río Querétaro, se ve afectado por dos bordos de almacenamiento temporal de aguas pluviales. Estos bordos son fundamentales para llevar a cabo una correcta política de operación de la infraestructura pluvial de la zona urbana de la ciudad de Querétaro. De esta forma, la modelación matemática del proceso lluvia-escurrimiento representa un rento cuando se toma en cuenta el funcionamiento de las presas de Santa Catarina y el Nabo. De acuerdo a registros históricos, el desbordamiento o la falla en la operación de estas obras hidráulicas, han causado grandes daños al desbordar e inundar la zona urbana a causa de lluvias torrenciales. En la figura 2, se observa el detalle y dimensiones de los cuerpo de agua mencionados.



Figura 2. Presa Santa Catarina y Bordo el Nabo

Por parte de la Conagua-Querétaro se tuvo acceso a la información para calcular las curvas de elevación-capacidad que son asignadas a los respectivos embalses. Estas curvas son necesarias para aseguran el funcionamiento real de regulación de las presas durante la simulación hidráulica. A continuación se procede a armar en el HEC-HMS la estructura hidráulica funcional de la cuenca que se quiere modelar. Empleando la delimitación de sub-cuencas (figura 1) y a partir de los datos obtenidos de precipitación, se procede a simular el proceso lluvia-escurrimiento. En la figura 3, se puede observar el detalle del armado e interconexión de los cauces y embalses. Los resultados del programa HEC-HMS arrojan hidrogramas de escurrimiento directo, asociado al comportamiento espacio-temporal de la tormenta analizada y de los diferentes usos del suelo (figura 4). En este caso se utilizan los datos medidos para la tormenta ocurrida el 26 y 27 de septiembre

2017. Con tales datos también se conoce cuál es el caudal máximo y el volumen máximo de agua por unidad de tiempo. Para llevar a cabo el análisis forense es necesario además simular la propagación de la inundación para diferentes periodos de retorno y duraciones de tormenta.

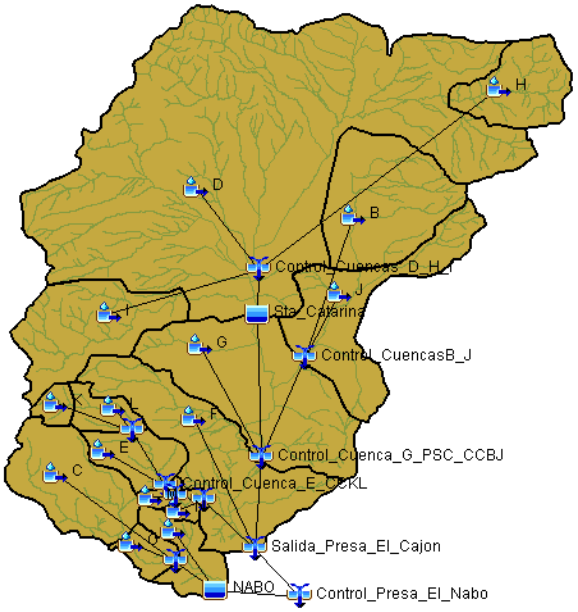


Figura 3. Armado del Modelo HMS para los elementos hidráulicos que conforman el modelo de la cuenca y la unión con sub-cuencas y embalses

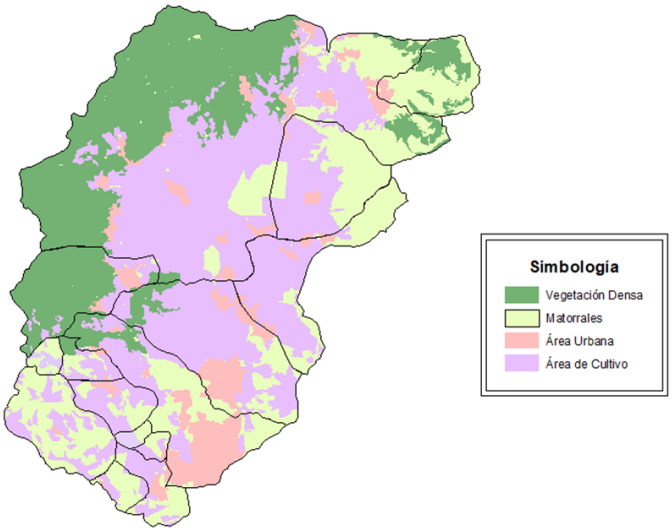


Figura 4. Distribución del tipo y uso de suelo en cada una de las subcuencas para obtener el número de curva ponderado

Modelación hidráulica bidimensional

La modelación matemática del flujo de agua en un río se refiere a reproducir los parámetros físicos que definen el funcionamiento del río. Como por ejemplo, tirante, velocidades, caudal, etc. La modelación matemática es una aproximación a la realidad, tanto mejor cuanto más se adapten las ecuaciones de partida y el esquema numérico para su resolución al fenómeno real que se está estudiando. (Bladé y Gómez-Valentín, 2006). Para describir muchos fenómenos naturales como puede ser la inundación la aproximación unidimensional (1D) deja de ser adecuada y por ello se desarrollaron los esquemas casi bidimensionales y luego los esquemas bidimensionales (2D). Para el caso de la modelación de la inundación de septiembre 2017, se utilizó un modelo 2D (Pinos y Timbe, 2019). Los modelos bidimensionales simulan flujo de fluidos no-newtonianos sobre un espacio bidimensional con 3 variables definidas en cada punto del dominio: el tirante y los dos componentes de la velocidad horizontal. Las ecuaciones que rigen la evolución de dichas variables se conocen como ecuaciones de aguas someras promediadas en profundidad o ecuaciones de St. Venant bidimensionales, y se pueden expresar como:

$$\frac{\partial h}{\partial t}+\frac{\partial hVx}{\partial x}+\frac{\partial hVy}{\partial y}=i$$

$$S_{fx}=S_{ox}-\frac{\partial h}{\partial x}-\frac{Vx}{g}\cdot\frac{\partial Vx}{\partial x}-\frac{Vy}{g}\cdot\frac{\partial Vx}{\partial y}-\frac{1}{g}\cdot\frac{\partial Vx}{\partial t}$$

$$S_{fy}=S_{oy}-\frac{\partial h}{\partial y}-\frac{Vy}{g}\cdot\frac{\partial Vy}{\partial y}-\frac{Vx}{g}\cdot\frac{\partial Vy}{\partial x}-\frac{1}{g}\cdot\frac{\partial Vy}{\partial t}$$

donde

h	la profundidad del flujo (m)
Vx y Vy	las velocidades del flujo (m/s)
T	el tiempo(s)
G	la aceleración de la gravedad (m/s^2)
Sf	la pendiente de fricción
So	la pendiente del lecho
i	la intensidad de la precipitación (mm/h)

Para resolver numéricamente las ecuaciones de flujo es necesario discretizarlas en una malla bidimensional. Independientemente del esquema numérico utilizado, las mallas en que se discretizan las ecuaciones se pueden clasificar de forma general en mallas estructuradas y mallas no estructuradas. Se podría realizar una clasificación más detallada de las mismas, pero para los propósitos de este artículo la anterior clasificación es suficiente, (Bladé, *et al,* 2014). Las mallas estructuradas bidimensionales están formadas por elementos cuadrangulares ordenados en filas y columnas, de forma que cualquier elemento quede perfectamente identificado por un par de índices (i,j). La principal ventaja de las mallas estructuradas es su eficiencia desde el punto de vista numérico, tanto en lo que se refiere a la programación de algoritmos como al orden de precisión. Tienen el inconveniente de ser difícilmente adaptables a geometrías muy irregulares, como es el caso de los cauces fluviales. Este problema se resuelve en algunos casos mediante el uso de coordenadas curvilíneas o mediante mallas estructuradas por bloques. Las mallas no estructuradas están formadas por elementos de cualquier forma. En mallas bidimensionales lo más habitual es utilizar elementos triangulares, pudiéndose utilizar asimismo elementos cuadrangulares en zonas con una geometría más regular. Su principal ventaja es la facilidad con que se adaptan a cualquier geometría, ya que no es necesario que la malla tenga ningún tipo de organización o estructura interna. Esta característica las hace especialmente indicadas para su utilización en hidráulica fluvial. Se utilizó la herramienta computacional IBER (Bladé *et al.,* 2014) que es un modelo matemático bidimensional para la simulación del flujo en ríos y estuarios desarrollado a partir de la colaboración del Grupo de Ingeniería del Agua y del Medio Ambiente, GEAMA (Universidad de La Coruña), del Grupo de Ingeniería Matemática (Universidad de Santiago de Compostela), del Instituto Flumen (Universidad Politécnica de Cataluña y Centro Internacional de Métodos Numéricos en Ingeniería) y promovido por el Centro de Estudios Hidrográficos del CEDEX. Dicho modelo incluye un módulo hidrodinámico, un módulo de turbulencia y un módulo de transporte de sedimentos, de granulometría uniforme, por carga de fondo y por carga en suspensión. El IBER es un modelo de uso libre que se puede descargar de la página web www.iberaula.es, donde se ofrece documentación adicional, soporte a través de un foro de discusión y cursos de formación, (Bladé, *et al*, 2014). Utilizando el modelo IBER, se realizó la simulación de inundación del Dren Arenal. En dicho modelo utilizó información topográfica obtenida del Modelo Digital de Elevación del INEGI, datos de caudal e hidrogramas (HMS-HEC) fueron obtenidos en el estudio hidrológico respectivo. Al ser obtenidos los hidrogramas se debe hacer uso del software libre IBER para llevar a cabo la simulación del proceso de escurrimiento bajo diferentes casos de lámina de lluvia y duración en un escenario que engloba las características físicas de la zona de estudio y es capaz de laborar con la finura de análisis y simulación que provee la aplicación del elemento finito. Al haber sido obtenidas diferentes simulaciones del escurrimiento a partir del desbordamiento del dren Arenal se ha de determinar cuáles son las calles y avenidas que se ven afectadas de manera recurrente, con base en las simulaciones, con el fin de generar un antecedente que sirva para la toma de decisiones ante una catástrofe.

Resultados

Al llevarse a cabo la delimitación del sistema de sub-cuencas urbanas se determinó que los cauces principales coinciden en dos puntas de salida, los cuales fueron tomados en cuenta para determinar el caudal generado por la precipitación en el sistema de sub-cuencas. Con la simulación en el HEC-HMS se obtuvieron hidrogramas para periodos de retorno (Tr) de 5, 10, 25, 50 y 100 años con duraciones (d) de 5, 10, 15 y 20 minutos para cada periodo de retorno. Las intensidades utilizadas y obtenidas a partir de la ecuación 1 se muestran en la tabla 1. Una vez obtenidos los hidrogramas de escurrimiento superficial se procedió a la simulación bidimensional asociado a los periodos de retorno y duraciones mencionados previamente. Como ya se mencionó la simulación se realizó con los datos de ingeniería básica obtenidos en campo para el dren Arenal.

Tabla 1. Intensidades de precipitación en mm/h para diferentes duraciones de tormenta y periodos de retorno

años	minutos					
Tr	5	10	20	60	90	120
5	71.1	49.26	34.11	19.06	15.4	13.2
10	118.0	81.7	56.6	31.6	25.5	21.9
20	195.7	135.5	93.9	52.4	42.3	36.3
50	382.0	264.5	183.2	102.3	82.6	70.9
100	633.5	438.8	303.9	169.7	136.9	117.6

La figura 5, muestra el hidrograma de salida de la cuenca y como entrada al dren Arenal, para un periodo de retorno de 5 años y una duración de tormenta de 5 minutos.

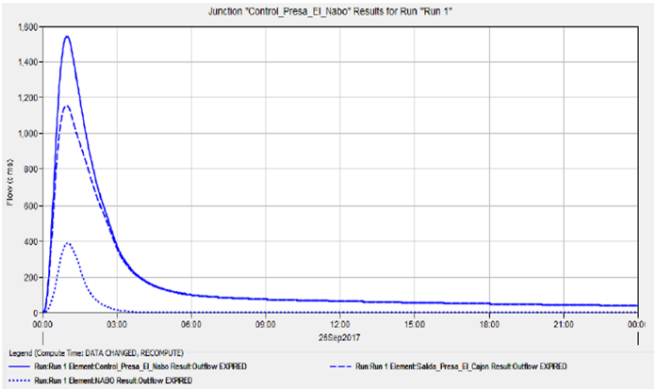


Figura 5. Hidrograma obtenido para un Tr= 5 años y d= 5 minutos

El programa IBER también permite calcular las características de la respuesta física al proceso lluvia-escurrimiento, como el número de Froude, el tirante, la velocidad, la energía, entre otros más. La figura 6, muestra el detalle de la simulación bidimensional del escurrimiento superficial. Como ejemplo se muestran los resultados para la simulación asociada a una intensidad de precipitación de cinco años de periodo de retorno y una duración de tormenta de 20 minutos. Las calles y lugares icónicos que se ven afectados por los tirantes son las siguientes: privada los Portones, sección aledaña a la zona del anillo vial Fray Junípero Serra, calle Lirios, Plaza comercial Antea, Paseo Jurica, Jurica Pinar, Jurica, Acceso III y calle Pirineos principalmente; tales calles presentaron tirantes superiores a los 16 centímetros y tal altura supera la altura normada de guarniciones de infraestructura vial publica, provocando que el agua tenga acceso a viviendas y lugares similares. De igual manera la zona más afectada fue identificada que corresponde a Jurica, tanto el pueblo como la zona residencial alta, pues a causa de la topografía del área, el agua escurre directamente hacía esa zona y la infraestructura pluvial con la que se cuenta es insuficiente para drenar toda el agua debida al escurrimiento superficial. Por lo tanto, dicha área es más propensa a experimentar inundaciones y a sufrir perdidas material y desastres.


Figura 6. Simulación de escurrimiento para Tr= 5 años y d= 20 min

Tal como se muestra en la figura 6, fue notado que para duraciones largas no se tiene una intensidad que sea tan considerable, aunque efectivamente se producen tirantes de alturas que sobrepasan los 4.5 metros de altura máxima que tiene la sección transversal del dren Arenal. Al sistematizar los cálculos de simulación es posible variar escenarios de escurrimientos con diferentes escenarios de lluvia. Así fue posible identificar que en la mayoría de los casos el cerro del Tambor ubicado al sur de Jurica se ve perjudicado en sobremanera en el tramo previo a Avenida de la Luz, que actualmente es una de las arterias principales de la ciudad de Querétaro. Si bien se ha mostrado que con lluvias con una probabilidad alta y media de ocurrencia pueden presentarse catástrofes, el peligro no disminuye al

tratarse de lluvias con una probabilidad de ocurrencia baja, esto es, por ejemplo, con un periodo de retorno de 50 años que corresponde a una probabilidad de ocurrencia del 2%. Para este caso, a pesar de ser un evento poco probable, el nivel de peligro aumenta debido a que se presentan dos cauces principales que contribuyen a un escurrimiento que es capaz de llegar a la zona industrial de la Avenida 5 de febrero. Con estos resultados se estima que a partir de eventos con periodos de retorno de 15 años, se empiezan a colapsar las vialidades principales de la ciudad, por lo que un evento de tal magnitud es sinónimo de caos. A partir de los resultados mostrados se espera que para el evento de probabilidad de ocurrencia más baja, es decir 100 años, se presente un evento de lo más extraordinario y la simulación, ilustrada en la figura 7, arrojó que, de presentarse tal evento, el escurrimiento sería capaz de afectar 7.5 kilómetros de longitud sobre el cauce al sur del punto donde el dren Arenal desborda a causa de los grandes tirantes. Dicho escurrimiento estaría próximo a afectar otra de las vialidades principales de la ciudad de Querétaro: el boulevard Bernardo Quintana. La tabla 2 muestra los valores de las magnitudes físicas del escurrimiento superficial provocadas por los diferentes escenarios de simulación de lluvia. En la primera columna se muestra el periodo de retorno en años, en la segunda la duración crítica de la tormenta analizada. Las siguientes columnas muestran la velocidad, la energía y el tirante máximo que se presenta en cada escenario de precipitación extrema.

Tabla 2. Magnitudes físicas producto de la precipitación simuladas

Tr (años)	d(min)	v (m/s)	E/(mkg/kg)	y (m)
5	20	1.31	1.72	0.85
10	20	1.34	1.79	0.88
25	20	1.39	1.92	0.94
50	20	1.30	1.70	0.84
100	20	1.35	1.83	0.90

En las tablas 3 y 4, se muestran los valores máximos registrados en algunas de las estaciones de la RedCIAQ. Se muestran las láminas máximas acumuladas, las intensidades y los periodos de retorno registradas en cada uno de los días analizados.



Figura 7. Simulación de escurrimiento para Tr=100 y d= 20 min

Discusión

Análisis forense

El proceso para analizar los eventos de precipitación se considera como una aplicación de la investigación efectuada por Wang *et al*., (2019). Al realizar el análisis forense de los eventos de lluvia torrencial en zonas urbanas, a partir de las simulaciones de escurrimientos en el dren Arenal para diferentes periodos de retorno y duraciones se determinó que: (i) es posible simular el proceso lluvia-escurrimiento en una zona urbana para diferentes coeficientes de escurrimiento; el trabajo de Sánchez-Quijano *et al*., (2018) demuestra que es posible efectuar simulaciones en IBER que provean datos confiables en eventos catastróficos, por lo cual es correcto afirmar que la reconstrucción del evento de lluvia registrada los días 26 y 27 de septiembre es acertada y describe lo que pasó en la ciudad de Querétaro. (ii) Las simulaciones permiten identificar zonas urbanas de peligro. (iii) La reconstrucción de hechos permite conocer *a posteriori* la energía del agua expresada en (tirante y velocidad) que provocó desastres en la zona urbana (tabla 2). Cabe mencionar que el aumento de la mancha urbana provoca modificación de los coeficientes de escurrimiento de tal forma que se favorece la ocurrencia de inundaciones que afectan tanto a residentes como a la infraestructura urbana (Babaei *et al*., 2018).

Tabla 3. Precipitación acumulada, intensidad máxima y periodo de retorno para los registros de precipitación del 26 de septiembre 2017

Estación	precipitación total (mm)	intensidad max (mm/h)	Tr (años)
Chulavista	91.2	108.5	80.0
Belén	59.5	113.5	50.0
Candiles	57.1	68.3	55.0
Cimatario	78.7	97.5	65.0
C. Histórico	58.4	61.5	55.0
Milenio III	91.2	108.5	80.0
Juriquilla	43.7	93.7	67.0
Corregidora	58.4	63.6	60.0
M. Escobedo	40.4	49.0	25.0
Viñedos	36.1	80.3	50.0
Sta RJáuregui	73.7	136.7	125.0

Tabla 4. Precipitación acumulada, intensidad máxima y periodo de retorno para los registros de precipitación del 27 de septiembre 2017

Estación	precipitación total (mm)	intensidad max (mm/h)	Tr (años)
Chulavista	9.9	38.1	25.0
Belén	6.6	10.9	5.0
Candiles	13.5	46.5	35.0
Cimatario	9.7	30.0	15.0
C. Histórico	4.8	12.4	5.0
Milenio III	9.9	38.1	20.0
Juriquilla	8.4	17.5	10.0
Corregidora	12.8	16.8	10.0
P. Escobedo	18.8	145.8	85.0
Viñedos	7.4	7.1	3.0
Sta RJáuregui	10.7	15.5	10.0

Se determinó que el problema de desbordamiento se provocó, principalmente, por los tirantes altos producidos por lluvias torrenciales, esto es, con grandes intensidades que no permiten la infiltración en la áreas destinadas a tal función (Miller *et al.,* 2014). Los valores que se muestran en la tabla 2, son en verdad grandes. Tirantes superiores a 80 cm. De acuerdo a datos de la Agencia Federal para el Manejo de Emergencias de Estados Unidos (FEMA), un tirante de 15 centímetros es suficiente para alcanzar la parte inferior de la mayoría de vehículos convencionales y causar pérdida de control del vehículo. Para nuestro evento analizado durante la inundación el agua fluyó con una velocidad máxima de 1.39 m/s. El Cenapred advierte de los límites máximos de 2.7 a 5.4 m/s (figura 8A). Cuando un vehículo se atasca al intentar cruzar un cauce urbano, la fuerza de arrastre del agua golpea al auto (figura 8B). Por cada 30 cm que sube el agua, la fuerza lateral sobre el auto es de 230 kg. En nuestro caso se registraron fuerzas de 1.92 Kg de empuje por cada kg de peso del vehículo, valor suficiente para moverlo. El factor más importante es la fuerza de flotación. Por cada 30 cm que sube el agua, el auto desplaza 680 litros de agua, lo que provoca que el vehículo pese 680 kg menos (figura 8C). Una corriente de agua con 60 cm de tirante puede arrastrar a la mayoría de los vehículos convencionales (figura 8D). Para nuestro caso, basta recordar el autobús y el taxi que fueron arrastrados y acabaron en un socavón. Con valores máximos de lluvia acumulada de más de 90 mm de altura, tirantes superiores a 80 cm a velocidades superiores a 1.7 m/s e intensidades de lluvia de hasta 136 mm/h, resulta un escenario en verdad catastrófico, tal como ocurrió aquel septiembre de 2017.

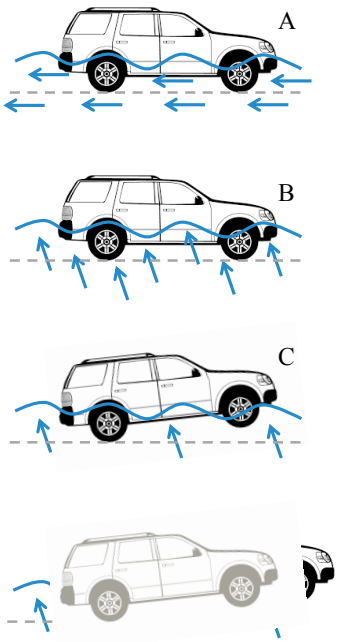


Figura 8. Efecto de arrastre al intentar cruzar un cauce urbano de agua. Elaboración propia.

Conclusiones

El proceso seguido para la obtención de resultados para el análisis forense (Bronstert *et al.,* 2018) de los eventos de precipitación los días 26 y 27 de septiembre del 2017 fue aceptable. Se obtuvieron hidrogramas para simular el escurrimiento bidimensional del evento catastrófico. Se constató la importancia de respetar los usos de suelo en zonas urbanas. Con base en el análisis forense se determinó que el escurrimiento superficial de este evento tuvo la capacidad para mover vehículos. Se registraron valores record en la lluvia acumulada (91.2 mm en 24 horas) lo que corresponde a un periodo de retorno superior a 80 años. Asimismo, se presentaron intensidades de precipitación históricas superiores a 100 mm/h, lo que es equivalente a tormentas producidas por huracanes. Con respecto al peligro para las personas, se concluye acorde a Russo *et al*., (2011), que tuvo una peligrosidad media-alta. Los resultados de este trabajo tienen implicaciones en la toma de decisiones por parte de las autoridades. Gracias a las herramientas hidrológicas con que se cuenta actualmente es posible llevar a cabo acciones precisas ante eventos catastróficos, con el objetivo de preservar la integridad de la sociedad.

Referencias

Aguilar, E., Pastor, D., Vázquez, A. y Ibarra, D. (2018). Recolección de datos meteorológicos en tiempo real mediante el uso de funciones asíncronas non-blocking. Revista NTHE. (24), 113-117.

Babaei, S., Ghazavi, R., & Erfanian, M. (2018). Urban flood simulation and prioritization of critical urban sub-catchments using SWMM model and PROMETHEE II approach. Physics and Chemistry of the Earth, 105, 3-11. https://doi.org/10.1016/j.pce.2018.02.002

Bladé, E., Cea, L., Corestein, G., Escolano, E., Puertas, J., Vázquez-Cendón, E., Coll, A. (2014). Iber: herramienta de simulación numérica del flujo en ríos. *Revista Internacional de Metodos Numericos Para Calculo y Diseno En Ingenieria*, *30*(1), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.rimni.2012.07.004

Bladé, E., Gómez-Valentín, M. (2006). Modelación del flujo en lámina libre sobre cauces naturales. Análisis integrado en una y dos dimensiones. Monograph CIMNE Nº97. Barcelona, España.

Bronstert, A., Agarwal, A., Boessenkool, B., Crisologo, I., Fischer, M., Heistermann, M., Wendi, D. (2018). Forensic hydro-meteorological analysis of an extreme flash flood: The 2016-05-29 event in Braunsbach, SW Germany. *Science of the Total Environment*, *630*, 977–991. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.241

CENAPRED. (2016). Disasters in Mexico: social and economic impacts (1980-2014). Centro Nacional de Prevension de Desastres. Mexico.

Gutierrez-Lopez, A., Porrás Trejo, R., Olvera A., Nieto A. (2013). Caracterización de tormentas, en el diseño de infraestructura hidráulica urbana. Revista del Colegio de Ingenieros Civiles de Querétaro "El portal del Ingeniero Civil" (28) 4-6

Gutierrez-Lopez, A., Donoso, M., May, Z., & Bravo-Orduña, G. (2019a). A Meteo-Epidemiological Vulnerability Index as a the resilience factor for the principal regions in Haiti. Journal Of Hydrology, 569, 135-141. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2018.11.063

Gutiérrez-Lopez A, Fortanell Trejo M, Albuquerque Gonzalez N, Bravo Prado F. (2019b). Análisis de la variabilidad espacial en la precipitación en la zona metropolitana de Querétaro empleando ecuaciones de anisotropía. Investigaciones Geográficas. https://doi.org/10.14350/rig.59757

Ibarra Corona, M., Cano Iturbe, J., Lozano Domínguez, L., Vargas Díaz, J. (2018). Aplicación móvil para monitoreo de precipitaciones pluviales en Jurica-Querétaro. Revista NTHE. (24), 28-33.

Miller, J. D., Kim, H., Kjeldsen, T. R., Packman, J., Grebby, S., & Dearden, R. (2014). Assessing the impact of urbanization on storm runoff in a peri-urban catchment using historical change in impervious cover. Journal of Hydrology, 515, 59–70. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2014.04.011

Pinos, J., & Timbe, L. (2019). Performance assessment of two-dimensional hydraulic models for generation of flood inundation maps in mountain river basins. *Water Science and Engineering*, *12*(1), 11–18. https://doi.org/10.1016/j.wse.2019.03.001

Russo, B., Gómez, M., & Macchione, F. (2011). Experimental approach to determine flood hazard criteria in urban areas. *12th International Conference on Urban Drainage*, (September), 10–15.

Sánchez Quijano, M. A., Miguel Gónzalez, C., & Gutierrez-Lopéz, A. (2018). Modelación hidrológica de la rotura de presa utilizando el software IBER. *Revista NTHE*, (*24)* 34-40.

Song, Park, Lee, Park, & Song. (2019). Flood Forecasting and Warning System Structures: Procedure and Application to a Small Urban Stream in South Korea. Water, 11(8), 1571. https://doi.org/ 10.3390/w11081571

Wang, X., Kingsland, G., Poudel, D., & Fenech, A. (2019). Urban flood prediction under heavy precipitation. *Journal of Hydrology*, *577*(March), 123984. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2019.123984

Detección de proteína en leche de vaca usando interferometría

Abraham Gastélum-Barrios[1], Genaro M. Soto-Zarazúa[1], Edgar Rivas-Araiza[1] y Daniel Jauregui-Vazquez[2]

Resumen

El presente trabajo muestra de manera experimental un sistema de sensor óptico para detectar cambios de contenido de proteínas en muestras de leche de vaca de forma no invasiva. El arreglo óptico está conformado por un interferómetro de baja coherencia tipo Fabry-Perot operando en respuesta de doble fase y reflexión de la luz en el espectro visible. Los resultados indican que el esquema es capaz de detectar pequeñas variaciones de proteína con un índice de correlación r^2=0.8604. El método propuesto representa una alternativa para detectar variaciones de proteína de manera no invasiva, de bajo costo, sin la necesidad de personal altamente capacitado y con la capacidad de instalarse de manera portátil.

Palabras clave Fabry-Perot; sensor óptico de proteína; desplazamiento óptico; espectro de reflexión

Abstract

The present work experimentally demonstrates a sensing optical system able to detect changes in the protein concentration of milk samples in a noninvasive form. The optical schema has a low coherence Fabry-Perot interferometer working in double-phase on reflection mode in the visible wavelength range. The presented system is capable to detect small protein content variations with a correlation index r^2=0.8604. The method proposes a new alternative to detect protein variations in a non-invasive form, at low cost, without the use of highly trained personnel, and the viability to develop a portable system.

Keywords Fabry-Perot; protein optical sensor; optical displacement; reflection spectrum

Introducción

El contenido de proteína en leche de vaca es uno de los parámetros de calidad que caracterizan su valor nutricional, así como el precio en el mercado (Kucheryavskiy, Melenteva, y Bogomolov, 2014). En los últimos desarrollos se pueden observar dos tendencias: análisis químicos y el uso de instrumentos basados en óptica. Los primeros, requieren del uso de agentes químicos, material y equipo especializado, así como personal altamente capacitado; además, de consumir bastante tiempo para realizar los análisis. Los segundos, están basados en la interacción de la luz con la leche (Aernouts et al., 2015; Kucheryavskiy et al., 2014; Li, Huo, Wang, Sun, y Kong, 2016; Niero, Penasa, Gottardo, Cassandro, y De Marchi, 2016). Encontrando que la espectroscopía es la técnica mas adecuada para estudiar este fenómeno. La mayoría de los trabajos reportados, estudian el espectro transmitido cuando la luz atraviesa la muestra líquida, relacionando la absorbancia con el contenido de proteínas. Aunque el método es ampliamente utilizado para otros compuestos químicos, en medios ópticamente densos, como la leche, se presenta un fenómeno llamado dispersión múltiple (Regnima et al., 2017); el cual, no es deseado al analizar espectros de transmisión ya que, al perder información, la cuantificación contiene errores. Al desarrollar sensores con fibras ópticas basados en espectroscopía, se pueden obtener mediciones con alta precisión (Gowri, Rajamani, Ramakrishna, y Sai, 2019). Sin embargo, los trabajos reportados (Garcia Mina et al., 2017; Gowri et al., 2019; Muñoz-Ossa, Reyes-Vera, Causado-Buelvas, Lora-Jaramillo, y

[1] División de Investigación y Posgrado, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro
abraham.gastelum@uaq.mx; genaro.soto@uaq.mx

[2] Departamento de Electrónica, División de Ingenierías, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato
jaureguid@ugto.mx

Dominguez-Gómez, 2011) basan sus determinaciones en modulaciones por amplitud, las cuales son sensibles a curvaturas de la fibra o variaciones en la fuente de luz. Por otro lado, el uso de interferómetros permite incrementar la sensibilidad en las mediciones, y éstos pueden ser de cuatro tipos: Fabry-Perot (C. E. Lee y Taylor, 1991), Mach-Zehnder (Wang, Lv, Zhao, y Qian, 2018), Michelson (Tian, Yam, y Loock, 2008), and Sagnac (B. H. Lee et al., 2012).

En este artículo, se presenta la propuesta de un esquema de sensor basado en fibra óptica e interferómetro Fabry-Perot, capaz de detectar cambios en el contenido de proteína de leche bovina de manera no invasiva.

Método

El esquema experimental se muestra en la Figura 1. Una fuente de luz de 450nm a 850nm es acoplada mediante un conector divisor de 3dB 2x2 (TM200R5S2A, Thorlabs Inc., USA). Al atravesar el divisor, la luz es separada en dos ramificaciones (A1 y A2). La señal que viaja por A1, cruza un interferómetro de baja coherencia de tipo Fabry-Perot (FPI), conformado por dos conectores ópticos SMA905, en este punto se crea un desfasamiento óptico de la señal, la cual nos permite generar un espectro de interferencia y aumentar la sensibilidad del sistema de sensor óptico (Gowri et al., 2019). La luz transmitida, se acopla a un segundo divisor óptico 90:10 2x2 (TM105R2S2A, Thorlabs Inc., USA). Este conector crea un lazo con un soporte para cubeta de cuarzo en el centro, donde la muestra de leche será colocada. La interacción de la luz con las distintas muestras de leche generará un espectro transmitido y uno reflejado, que, en conjunto con la diferencia de fase causada por el FPI, serán recolectadas por el analizador de espectros ópticos (OSA) (USB2000+, Ocean Optics Inc., USA), y analizadas con una computadora personal (PC). Ya que se está trabajando con un medio ópticamente turbio (leche de vaca), el fenómeno de múltiple dispersión se presenta en los espectros de transmisión (Regnima et al., 2017). Para evitar esto, el esquema está configurado para obtener los espectros de reflexión.

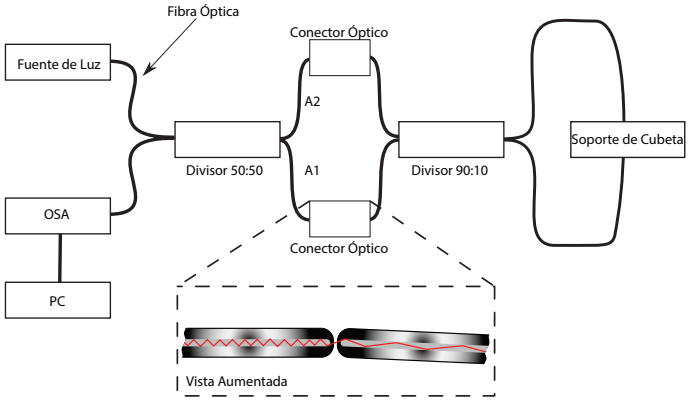


Figura 1. Diagrama esquemático del interferómetro.

Las muestras de leche utilizadas para probar el esquema propuesto fueron recolectadas de 16 vacas de manera manual y refrigeradas a 4ºC. Un día después de la recolección, las muestras fueron calentadas a 37ºC, que es aproximadamente la temperatura de la leche al salir de la vaca (Bylund, 1995). Posteriormente fueron homogenizadas durante 20 minutos (Bransonic 2800 MH, Branson Ultrasonic, USA); se analizó el contenido de grasa y proteína utilizando un analizador comercial (Lactoscan S, Milkotronic Ltd., Bulgary). Para demostrar el funcionamiento del esquema, se utilizaron seis muestras de leche de acuerdo con que la variación de grasas fuera pequeña (Tabla 1).

Muestra	Proteína (%)	Grasa (%)
P1	2.93	1.98
P2	3.02	1.99
P3	3.03	1.66
P4	3.21	2.16
P5	3.24	2.06
P6	3.25	2.12

Tabla 1. Muestras de leche utilizadas en el experimento.

Resultados

La respuesta del sistema de sensado, se muestra en la Figura 2. Se puede observar que la señal reflejada de la fuente con la interferencia generada presenta una oscilación con un rango espectral libre mínimo y máximo de 17.77 y 35.13 nm.

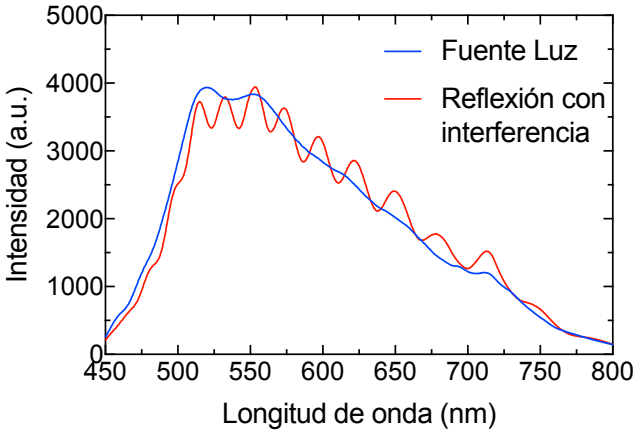


Figura 2. Respuesta espectral del esquema de interferómetro Fabry-Perot implementado.

El interferograma resultante arrojado por el sistema está mostrado en la Figura 3. Podemos destacar que los espectros de cada muestra de leche mantienen un mismo comportamiento a través de todo el rango visible.

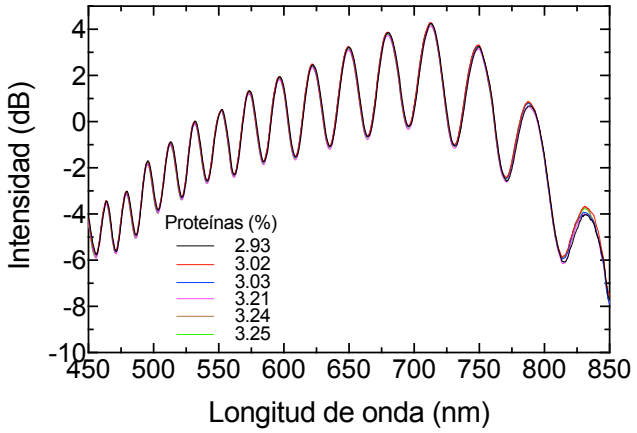


Figura 3. Interferograma de la señal de reflexión de las distintas muestras de leche.

Podemos destacar en la Figura 4, al hacer un acercamiento al área entre de 496 y 505 nm, que a medida que aumenta el contenido de proteínas, los espectros de reflexión se desplazan hacia la izquierda. Con esto podemos asegurar que el sistema óptico implementado es capaz de detectar cambios en el espectro de reflexión en el rango visible de la luz y relacionarlos con su contenido de proteínas.

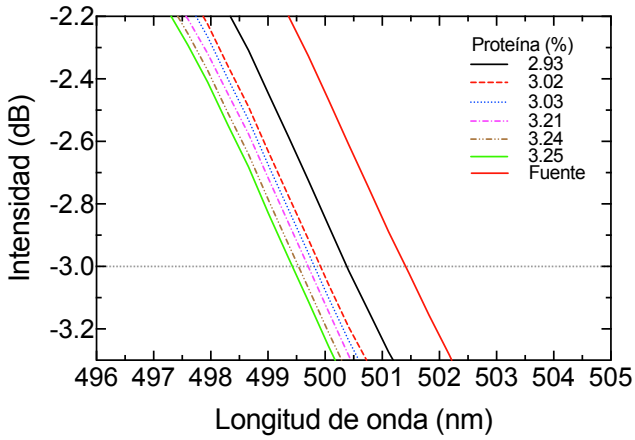


Figura 4. Desplazamiento de los espectros de reflexión del interferograma.

Con el fin de determinar la correlación que tiene el sistema de detección utilizando el desplazamiento que existe entre la fuente de luz y las distintas muestras de leche, se toma a una intensidad constante (-3dB), la longitud de onda. Los resultados se muestran en la Figura 5. Obteniendo un índice de correlación r^2=0.8604.

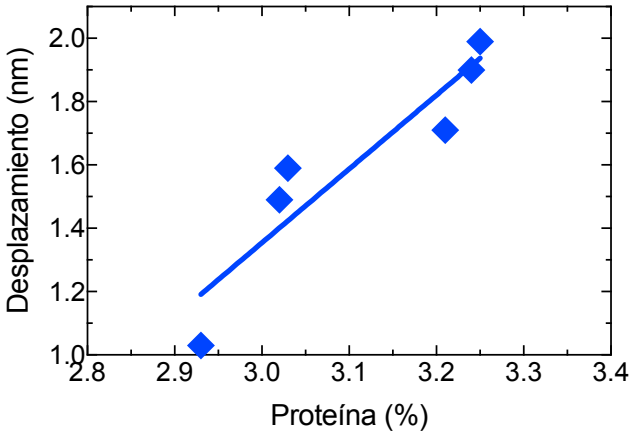


Figura 5. Desplazamientos entre la fuente de luz y los porcentajes de proteína a -3dB.

Discusión y Conclusiones

El sistema implementado introduce a un nuevo método para la detección de proteínas en muestras de leche de vaca. Los resultados muestran que el sistema es capaz de detectar pequeños cambios en la concentración de proteínas basado en espectros de reflexión en el rango visible de la luz. Utilizando el desplazamiento que existe entre la fuente de luz como referencia, y las muestras de leche, es posible detectar

cambios en la concentración de proteínas con un índice de correlación r^2=0.8604. Es necesario realizar más pruebas al sistema utilizando variaciones de proteínas mas alejadas, ya que las muestras disponibles contenían una variación de menos del 1%.

Este trabajo muestra la capacidad de utilizar un interferómetro Fabry-Perot para detectar pequeños cambios en la concentración de proteínas de leche de vaca. Con esta nueva metodología, es posible iniciar con el desarrollo de tecnologías para la detección no invasiva y evitar el uso de reactivos químicos, personal altamente capacitado y en general de laboratorios especializados.

Referencias

Aernouts B, Van Beers R, Watté R, Huybrechts T, Lammertyn J, y Saeys W. (2015). Visible and near-infrared bulk optical properties of raw milk. *Journal of Dairy Science*, *98*(10), 6727–6738. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9630

Bylund G. (1995). *Dairy processing handbook. Tetra Pak processing systems AB*. Sweden: Lund.

Garcia Mina D, Haus JW, Chong A, Khanolkar A, Sarangan A, y Hansen K. (2017). Bi-tapered fiber sensor using visible to near infrared light. *Sensors and Actuators, A: Physical*, *263*, 285–290. https://doi.org/10.1016/j.sna.2017.06.017

Gowri A, Rajamani AS, Ramakrishna B, y Sai VVR. (2019). U-bent plastic optical fiber probes as refractive index based fat sensor for milk quality monitoring. *Optical Fiber Technology*, *47*(November 2018), 15–20. https://doi.org/10.1016/j.yofte.2018.11.019

Kucheryavskiy S, Melenteva A, y Bogomolov A. (2014). Determination of fat and total protein content in milk using conventional digital imaging. *Talanta*, *121*, 144–152. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.12.055

Lee BH, Kim YH, Park KS, Eom JB, Kim MJ, Rho BS, y Choi HY. (2012). Interferometric fiber optic sensors. *Sensors*, *12*(3), 2467–2486. https://doi.org/10.3390/s120302467

Lee CE, y Taylor HF. (1991). Fiber-optic Fabry-Perot temperature sensor using a low-coherence light source. *Journal of Lightwave Technology*, *9*(1), 129–134. https://doi.org/10.1109/50.64932

Li X, Huo G, Wang Y, Sun H, y Kong Q. (2016). Research on Rapid Detection Method of Protein and Fat in Raw Milk Based on Mid-infrared Spectrum. *International Journal of Multimedia and Ubiquitous Engineering*, *11*(10), 131–142. https://doi.org/10.14257/ijmue.2016.11.10.12

Muñoz-Ossa HA, Reyes-Vera E, Causado-Buelvas JD, Lora-Jaramillo GJ, y Dominguez-Gómez DM. (2011). Medición Del Porcentaje De Grasa En Leche Líquida Usando "Tapers" De Fibra Óptica. *Revista Colombiana de Física*, *43*(3).

Niero G, Penasa M, Gottardo P, Cassandro M, y De Marchi M. (2016). Short communication: Selecting the most informative mid-infrared spectra wavenumbers to improve the accuracy of prediction models for detailed milk protein content. *Journal of Dairy Science*, *99*(3), 1853–1858. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10318

Regnima G-O, Koffi T, Bagui O, Kouacou A, Kristensson E, Zoueu J, y Berrocal E. (2017). Quantitative measurements of turbid liquids via structured laser illumination planar imaging where absorption spectrophotometry fails. *Applied Optics*, *56*(13), 3929–3938. https://doi.org/10.1364/AO.56.003929

Tian Z, Yam SSH, y Loock HP. (2008). Single-mode fiber refractive index sensor based on core-offset attenuators. *IEEE Photonics Technology Letters*, *20*(16), 1387–1389. https://doi.org/10.1109/LPT.2008.926832

Wang S na, Lv R qing, Zhao Y, y Qian J kai. (2018). A Mach-Zehnder interferometer-based High Sensitivity Temperature sensor for human body monitoring. *Optical Fiber Technology*, *45*(May), 93–97. https://doi.org/10.1016/j.yofte.2018.07.001

Sistema automatizado para síntesis química de películas delgadas

Adrián Levi González Rostro*, Eduardo Alexander Ordaz Fernández, Miguel Ángel Saldaña Salas, Giselle Hernández Pérez, Diana Laura García Antonio, Mónica Balvanera Ortuño López, Víctor Levi González Ajüech, Sara Castilla Rosell.

Resumen

En el ámbito industrial de producción de recubrimientos por síntesis química se ha vuelto necesaria la automatización de los procesos que se realizan, ya que estos métodos suelen ser tardados al realizarse de la manera tradicional por ello utilizando las tecnologías accesibles y materiales reciclados cercanos buscamos desarrollar un sistema de automatización de estos procesos mediante el diseño e implementación de un brazo robótico. Actualmente no se cuenta con modelos de brazos robóticos que satisfagan estas necesidades. La creación de este prototipo genera apertura hacia las nuevas tecnologías y disciplinas para mejorar su geometría, movilidad y utilidad constantemente, brinda un mejor control y eficiencia al proceso, ya que una de las mejoras del sistema es llevar acabo la inmersión de varios cristales de manera simultánea, con esto se logra una repetibilidad y reproducibilidad de manera eficiente. El conjunto de articulaciones con eslabones nos brinda 4GDL de manera rotacional, pensado en las necesidades que se tienen para realizar esta tarea. Creando este modelo con técnicas de CAD (Diseño Asistido por Computadora) en SolidWorks, simulando en este mismo los movimientos y los comportamientos que pueda tener al realizar sus actividades.

Introducción

El desarrollo de estos sistemas que de alguna manera simulan los movimientos de los brazos humanos nos facilitan la vida, con la diferencia de que estos no se cansan y pueden realizar sus tareas de manera continua por varias horas, puesto que estas pueden llegar a ser tediosas, inclusive se pretende reducir en gran parte el riesgo de accidentes por realizar estas actividades, pero además llevar a cabo estas tareas con una mayor precisión y control.

Tomando en cuenta que los materiales utilizados para este sistema son económicos y de fácil adquisición, a comparación de otros brazos que su estructura principal es fabricada por impresión 3D o manufacturada por métodos más complejos. Por esto mismo se busca generar un ensamble que nos brinde un modelo viable para este objetivo.

Esta alternativa se trabaja de manera artesanal, pero sin perder de vista que es un desarrollo tecnológico funcional y sustentable. El prototipo a escala, utiliza moto reductores que trabajan con voltajes de 4.8 a 6 Volts con fuerzas de torque que van de 1800mg*cm a 15500mg*cm respectivamente.

El brazo es controlado por un microcontrolador arduino (arduino nano) programado en el IDE del dispositivo, configurable por medio de una computadora puesto que la programación incluye una interfaz de usuario que recibe datos sobre los procesos que debe de realizar, guarda las instrucciones y repite los procesos que se agregan en la interfaz, esto lo vuelve un dispositivo bastante versátil y útil en más de un proceso.

La realización de este brazo es sencilla en su ensamble, en general las aplicaciones de este modelo pueden servir en diferentes campos puesto que el diseño de sus eslabones es favorable para

intercambiar piezas de diferentes tamaños, su manufactura es relativamente económica frente a los diversos brazos robóticos que existen.

Además de formar parte de un trabajo de investigación, este trabajo pretende tener un impacto a nivel local para que pueda ser apoyado por las diversas instituciones, empresas y centros de investigación.

Problema de investigación

Este trabajo se realizo de acuerdo a las necesidades que se tuvieron al realizar los recubrimientos se analizaron los tiempos la repetibilidad y los costos para optimizar estos mismos, para ello se partió de la hipótesis que podemos crear un sistema automatizado eficiente en la realización de recubrimientos por baño químico, que ayude a la disminución de horas de trabajo humano y permita hacer eficiente el proceso reduciendo los tiempos.

Metodología

El método manual convencional para realizar los recubrimientos por baño químico tiene un porcentaje a mejorar en repetibilidad y reproducibilidad, esta amenaza se convierte en una necesidad a resolver contemplando una falta de recursos económicos para el desarrollo de esta tecnología.

Tomando la iniciativa de realizar un sistema que satisfaga estas necesidades, de acuerdo a las dimensiones y movilidad que puede tener el mismo, por consiguiente, se tomó en cuenta los recursos disponibles para realizarlos y con base a esto buscamos adaptar el diseño a ellos.

Se selecciono un material reciclado para la estructura además de componentes electrónicos con los que ya se contaba, se pretendió gastar lo menos posible para la construcción de este sistema.

Posteriormente se realizo un bosquejo del diseño con las dimensiones principales de la geometría, y de acuerdo a las propiedades de nuestro material estructural se diseño un ensamble que trabaje en las condiciones de trabajo esperadas.

Utilizado técnicas de CAD (SolidWorks) se diseñaron los componentes, eslabones, la base y el tipo de articulación, para después crear un modelo ensamblado con todas las partes para analizar su movilidad.

En ocasiones fue necesario realizar modificaciones de algunas partes del sistema para la reducción del peso estructural y estabilidad del mismo.

Habiendo cumplido nuestras expectativas se procede a la fabricación de las piezas de un brazo robótico, dada las características de nuestro material estructural (MDF) se manufacturaron de manera manual con las herramientas disponibles.

De la misma manera se buscó un dispositivo microcontrolador que nos permitiera realizar las tareas de control de posición, tiempos y procesos a realizar, todo esto de la manera más económica posible, por ello se seleccionó la placa arduino nano que cuenta con 6 puertos pwm que nos permitirán controlar hasta 6 servomotores.

Como elemento final la programación en arduino fue desarrollada a partir de un algoritmo y la configuración por medio de sistemas de prueba de resistencia con carga y posicionamiento de los elementos de nuestro brazo.

Características del brazo

Podemos apreciar la evolución del brazo partiendo de un modelo diseñado para ser fabricado con impresión 3D. Fig.1

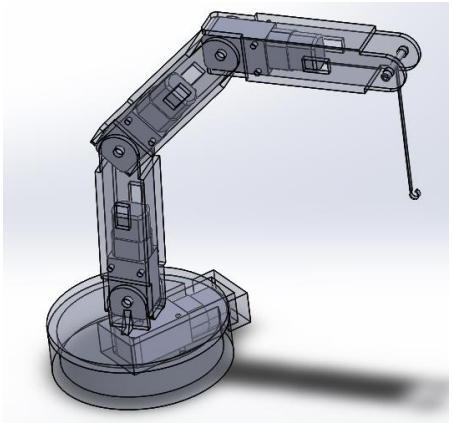


Fig. 1 Diseño del robot mediante SolidWorks

Pero estos eslabones y la base se adaptaron al material antes mencionado (MDF) en la imagen inferior el material es transparente para que se puedan ver mejor la composición de este mismo, este en forma de placa. Dado a la geometría de la materia prima, se procedió a diseñar un modelo ensamblado como el que se muestra a continuación. Fig. 2.

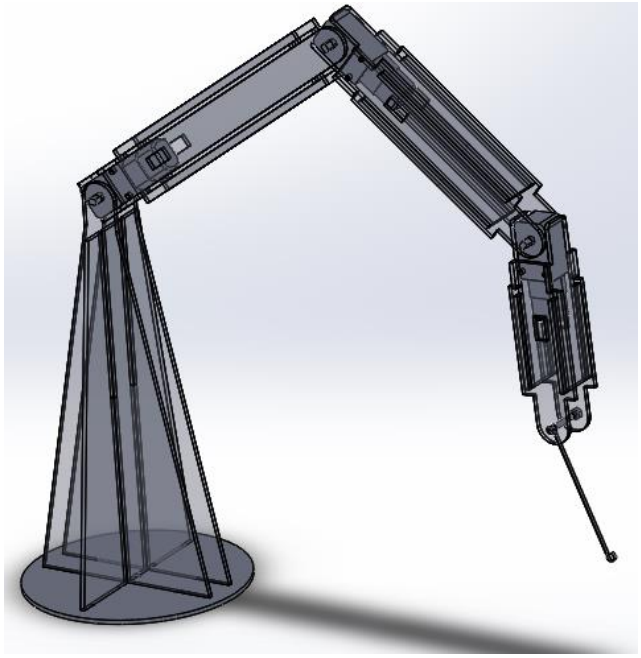


Ilustración 1 Fig. 2 Ensamble con placas de MDF

Este material fue de mucha utilidad puesto que es muy ligero y económico, la base va fijada al área de trabajo, es fácil de transportar. Algo que es importante destacar es que es desarmable y es aún más compacto ya desarmado.

Resultados

En la imagen se puede ver una parte del modelo planeado, mismo que tuvo modificaciones en el proceso para optimizar la movilidad y estética. Fig. 3.

Cabe mencionar que todo el ensamble fue fabricado a mano, es un trabajo artesanal, por ende, la precisión del mismo no es constante, pero el propósito era que se gastara lo menos posible en su realización, que sirviera de base para la fabricación de un modelo mejor, probar el control electrónico, movilidad, entre otros puntos.

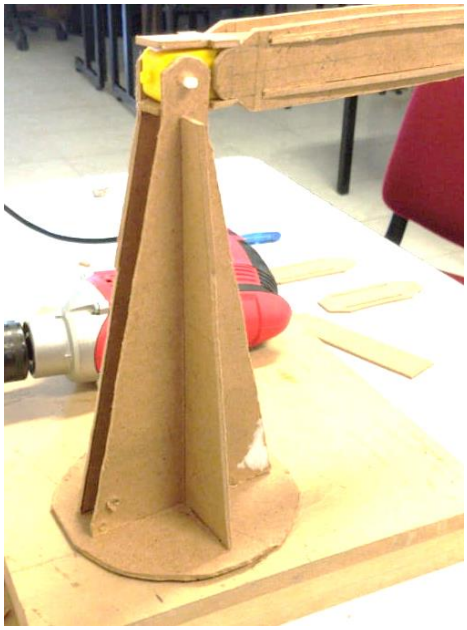


Fig.3. Modelo hecho a mano de MDF

Conclusiones

La realización de este sistema nos hace recordar la importancia que tienen los recursos limitados que podríamos tener en un futuro, reciclamos varios componentes, los gastos para la realización de este modelo fue mínimo.

En cuanto al trabajo en equipo, todos estamos satisfechos con lo que se logró, por el tiempo que involucro realizarlo, los estudiantes están convencidos que son capaces de aportar al desarrollo tecnológico y de promover el trabajo multidisciplinario.

Los conocimientos adquiridos por parte de todo el equipo de trabajo se agradecen y se pretende darles continuidad a los siguientes proyectos planeados, con esto practicar el pensamiento innovador, para la solución de problemas en la industria.

Referencias

Álvaro Ibañez Mariñelarena, A. M. (19 de Septiembre de 2018). *Programación de un brazo robótico basado en arduino y controlado remotamente* . Pamplona .

DÍAZ, S. G. (20 de Marzo de 2017). Diseño y simulación de un brazo de robot con músculos artificiales de McKibben. *Ingeniería Mecánica*, 1-9.

Moreno, E. G. (1999). *Automatización de procesos industriales.* Valencia: Byprint Percom.

Peña, C. A., Suárez, M. A., Santiago, E., & Rojas, J. S. (2012). *Diseño e implementación de un brazo robótico de bajo costo para la automatización en el proceso de análisis bacteriológico.*

Ruiz Vinyeta Marco, L. R. (2017). *control de brazo articulado mediante dispositivo movil .* Barcelona .

Aplicación IoT para el monitoreo del lubricante en una máquina troqueladora

Alejandro Guerra Guevara (aleguerrab@hotmail.com), Guillermo Maldonado Lora (gmaldonadolora@yahoo.com.mx), Rosa Elena Rojas Malagón (rojasmalagon.elena@outlook.es), Luis Ángel Fonseca Martínez (angel.fonsecamtz@outlook.com) y José Luis Avendaño Juárez (luis.avendano@uaq.mx) Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

La llegada de la Industria 4.0 ha permitido la solución de múltiples problemas en la industria. En particular la medición de niveles es un problema que se debe analizar dado que permite optimizar tiempo y gastos. La aplicación del IoT (Internet of Things, por sus siglas en inglés) ha permitido a supervisores y gerentes tomar mejores decisiones con base en la información generada. El objetivo de este trabajo es diseñar un sistema de monitoreo inalámbrico que permita almacenar la información del nivel del lubricante que se usa en una máquina troqueladora perteneciente a la empresa NASG (North American Stamping Group). La información se recaba del tanque de lubricación de la máquina troqueladora por medio del sensor LR8300 de la marca IFM que digitaliza el nivel del lubricante y lo transmite a un sistema de adquisición de datos desarrollado en la tarjeta Arduino UNO que muestra los niveles del lubricante mediante una torreta indicadora de cuatro niveles (vacío, en operación, lleno y desborde de líquido) además el sistema se intercomunica con el módulo de comunicación inalámbrica WIFI ESP8266 para transmitir los datos al servidor WEB de UBIDOTS donde se muestra la información mediante una interfaz de usuario simple y amigable para el operador.

Palabras clave: Aplicaciones de IoT, medición de nivel de líquido, sistema de comunicación inalámbrica, aplicación en servidores WEB.

Abstract

The arrival of Industry 4.0 has allowed the solution of multiple problems around industry. Particularly, measuring levels is a problem that should be analyzed since it allows optimizing time and expenses. IoT (Internet of things) has allowed supervisors and managers to make better decisions based on generated information. The objective of this work is to design a wireless monitoring system, which allows storing lubricant level information that is used on a die cutting machine at NASG (North American Stamping Group) enterprise. Information is recovered from the die cutting machine's lubrication tank through a LR8300 IFM sensor, which digitalizes lubricant level and transmits it to a data acquisition system developed on an Arduino UNO board, that shows levels at which the lubricant is positioned by a four level (empty, in operation, full, overflow) tower light. Also, the system intercommunicates with the WIFI wireless communication module ESP8266 to transmit data to the WEB server UBIDOTS, where it shows through a user interface simple and friendly to the operator.

Keyworks: IoT applications, liquid level measurement, wireless communication system, WEB server application.

Introducción

El proceso de troquelado que realiza la empresa NASG consta de lo siguiente: una lámina es colocada dentro del troquel, luego, a dicha lámina se le vierte un aceite especial para que al momento en que el troquel haga contacto con la lámina, no se presenten daños tanto en el troquel como en la pieza troquelada. La problemática se encuentra en que los operadores no tienen conocimiento del momento en que el tanque, que contiene el aceite, se queda vacío y deja de suministrar aceite a la lámina; ocasionando pérdidas monetarias ya que las piezas que se obtienen a partir de dicho punto, son defectuosas.

Hoy en día, existen múltiples instrumentos de medición de líquidos, los cuales en su mayoría trabajan midiendo la altura del líquido directamente con alguna línea de referencia o aprovechando las propiedades eléctricas del líquido a censar. Para la obtención de la medición se pueden utilizar dos métodos, tanto directo como indirecto y se debe tomar en cuenta las propiedades del líquido tales como la densidad, viscosidad, temperatura, etcétera de tal forma que el instrumento a utilizar sea el óptimo. En específico la empresa proveyó al equipo de trabajo el sensor LR8300 de la marca IFM que se basa en el principio de tiempo de tránsito por onda guiada para determinar el nivel, bajo ciertas condiciones que se van a explicar en la metodología.

Por otro lado, la llegada de la llamada cuarta revolución industrial o Industria 4.0 ha provocado que en la mayoría de los procesos de la industria se implementen sistemas electrónicos que permitan darle trazabilidad a los productos, monitoreo en tiempo real del estado de los sistemas de manufactura y la toma de decisiones en función de la administración y gestión de datos que son transmitidos por las líneas de producción. En ese sentido, se tiene un concepto adaptado a la industria que es el Internet de las Cosas o IoT y que trae como resultado la implementación de desarrollos electrónicos que permitan la adquisición de la información de los sensores conectados en los procesos productivos, el acondicionamiento de las señales para transformarlas de señales analógicas a digitales y finalmente la transmisión de la información a la red donde cualquier dispositivo interconectado puede acceder a la información prácticamente en tiempo real.

Basados en la información presentada en los párrafos anteriores se puede construir una propuesta de solución mediante la implementación de un sensor de nivel del lubricante contenido en una máquina de troquelado. Dicho sensor se conecta a un sistema electrónico de aislamiento y éste sistema se enlaza a una tarjeta de desarrollo Arduino Uno vinculado a un módulo de comunicación inalámbrica que transmite la información al servidor WEB de Ubidots.

Finalmente, el presente trabajo se presenta la metodología utilizada para el desarrollo del proyecto, la siguiente etapa es la presentación de los resultados y como última parte se hace la discusión y se presentan las conclusiones del trabajo desarrollado.

Metodología

La primera parte del trabajo presenta el funcionamiento del sensor LR8300 de la marca IFM y la configuración utilizada para el sistema desarrollado. La segunda parte explica el funcionamiento del programa implementado en la tarjeta Arduino tanto para la operación de la torreta indicadora como del envío de los datos al servidor WEB de UBIDOTS.

Funcionamiento del sensor LR8300

La estructura del sensor LR8300 consiste en una cabeza donde se encuentra toda la electrónica de su funcionamiento e interpretación de datos, enroscada esta cabeza está una varilla de 55 cm de largo, que para esta aplicación, será el único componente tocando el líquido a medir. Tal estructura se debe a que el sensor escogido se sustenta del censado por microondas, y se le conoce como un sensor de radar por onda guiada.

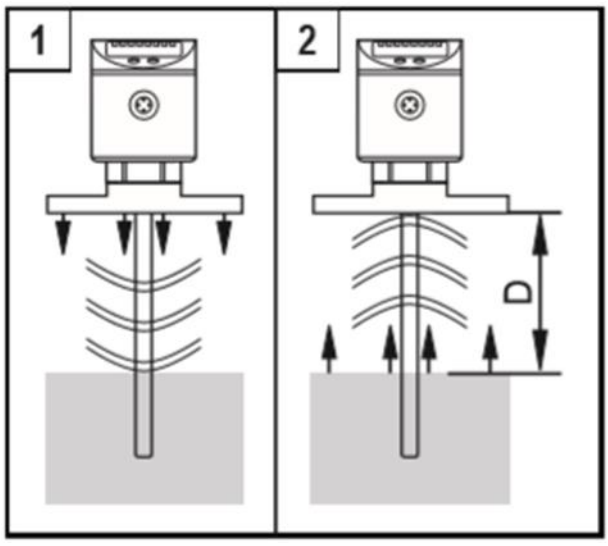


Figura 1. Descripción gráfica del comportamiento del sensor. Donde 1 es el estado de envío y 2 el de recepción.

La medición del sensor consiste en que éste envía pulsos que viajan por la varilla a cierta velocidad y de

acuerdo con esta misma velocidad, determina la distancia (D) en que estas ondas se reflejan en la sustancia, con base a tiempo en que tardo en reflejarse la misma onda. Esta reflexión es capaz de detectarse por volver con una cantidad considerable de energía que se envió.

El rango de tiempo en el sensor es de los nanosegundos. Los pequeños pulsos enviados son en una amplia banda de frecuencia que va desde los 200 kHz hasta 1.2GHz [1].

La naturaleza del líquido también es un factor importante, esto porque, sin importar cuál sea el fluido, éste poseerá una constante dieléctrica que, cuanto más alto sea, más fuerte será la reflexión de las ondas [2]. La constante dieléctrica de los fluidos se refiere a la propiedad adimensional que define el comportamiento del campo eléctrico en un material.

Interpretación de valores del sensor LR8300.

La distancia total por medir se debe configurar en el sensor (la longitud usada en el desarrollo fue A= 50 cm), esta distancia -la cual debe ser la misma que la longitud de la varilla- se dividirá en 15 segmentos, cada uno con un rango de activación de acuerdo con lo que se esté midiendo.

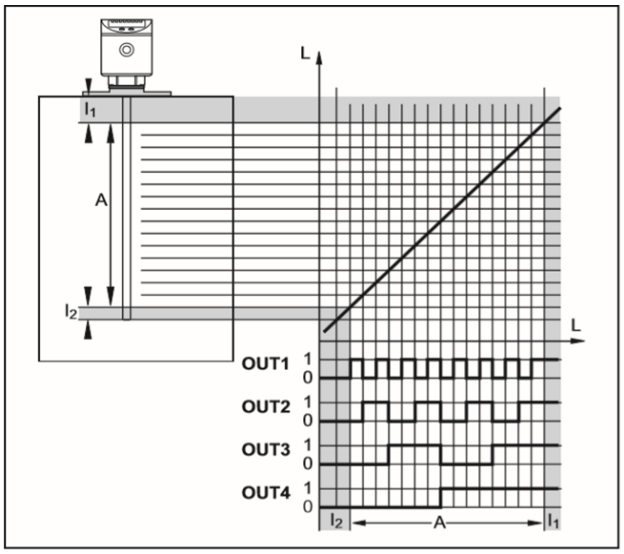


Figura 2. Diagrama de las zonas activa e inactiva del sensor, además de los valores que toman los OUTPUTS con respecto a estas.

Como se observa figura 2, además de los 15 niveles, la varilla del sensor tiene dos zonas donde no se realiza ninguna medición (I_1,I_2), por no tanto los 15 segmentos de información se le conoce como "zona activa" (A). La "zona inactiva" debe ser considerada al momento de solicitar la varilla, siendo que la misma es ordenada a la medida que se desee.

En la misma figura 2 se puede observar que el sensor cuenta con 4 salidas de datos, es decir que los valores salen en 4 bits y, de acuerdo con la forma en que cambian de estado, el OUTPUT 1 es el bit menos significativo, mientras el OUTPUT 4 es el más significativo. Para que exista un cambio en cualquiera de las OUTPUTS deberá existir una variación de 31.25 mm en el valor analógico leído. El sensor cuenta con dos métodos para convertir a un valor digital la lectura: Ventana o Histéresis. Por la sencillez de su implementación se decidió usar el de Ventana, mientras el valor esté entre el valor más alto (SP) y más bajo (rP) del rango, el sensor reconocerá esto como un "1" (24 volts) en el caso de ser normalmente abierto (Fno), o un "0" (0 volts) en caso de ser normalmente cerrado (Fnc). El funcionamiento del sensor por este método se presenta en la figura 3.

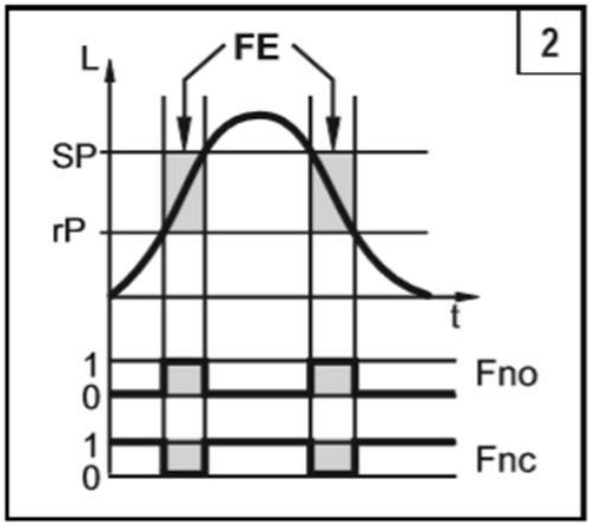


Figura 3. Descripción gráfica de la interpretación del nivel (L) por Ventana.

Una vez que se seleccionó el método de conversión se diseñó la sección de acoplamiento basada en transistores TIP-120 configurados como interruptores, la señal de entrada es de un valor de 24

volts que representa un 1 lógico y 0 volts que representa un 0 lógico; la salida de esta sección de acoplamiento será de 5 volts o 0 volts en correspondencia a los valores de entrada; el circuito se muestra en la figura 4. Una vez que las cuatro señales envidas del sensor se acondicionan a niveles que pueden ser leídos por la tarjeta de desarrollo Arduino Uno.

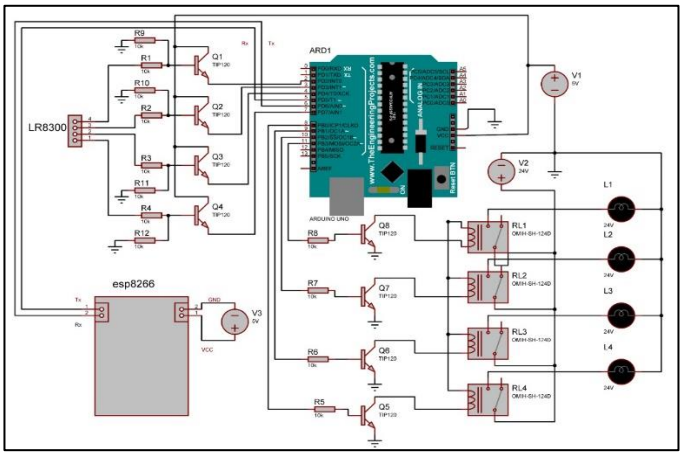


Figura 4. Tarjeta de acondicionamiento de entrada y salida para torreta y módulo de comunicación inalámbrica esp8266.

En la tarjeta de desarrollo se implementó un código basado en el lenguaje propio que maneja Arduino, en el diagrama de flujo mostrado en la figura 5 se describe la lógica que se ocupó para mostrar la señal en la torreta indicadora, dicha torreta representa cuatro niveles previamente establecidos: vacío, en operación, lleno y desborde de líquido. Cabe señalar en este punto que la torreta indicadora trabaja con 24 volts para activar cada una de sus 4 secciones En la figura 4 se representa mediante los indicadores L1, L2, L3 y L4, para activar la torreta fue necesario utilizar nuevamente transistores TIP-120 configurados como interruptores en conjunto con relevadores electromecánicos de la marca FINDER.

El código utilizado para el análisis de los datos recibidos por parte del sensor se encuentra programado en el Arduino UNO. Dicho código consta de cinco procesos clave; primero declara las variables a utilizar durante el funcionamiento del sistema y determina los pines de entrada y de salida en la placa Arduino. Los pines de entrada son D2, D3, D4 y D7, en cambio, los pines de salida son B0, B1, B2 y B3.

Segundo, se comienza la lectura de datos mediante los pines de entrada, sin embargo, el sistema no procede a realizar acción alguna si no se encuentra activado el módulo Wi-Fi; en el caso que se encuentre activo se procede al tercer paso, éste consta en la comparación de los estados activos del sensor. En el paso cuatro, se determina el nivel líquido dentro del contenedor. Dependiendo de estos valores, se activan determinados pines de salida que, a su vez, encienden luces específicas en la torreta indicadora. Finalmente, el quinto proceso consta del envío de la información analizada al módulo Wi-Fi para su envío a UBIDOTS, con su respectivo código utilizado.

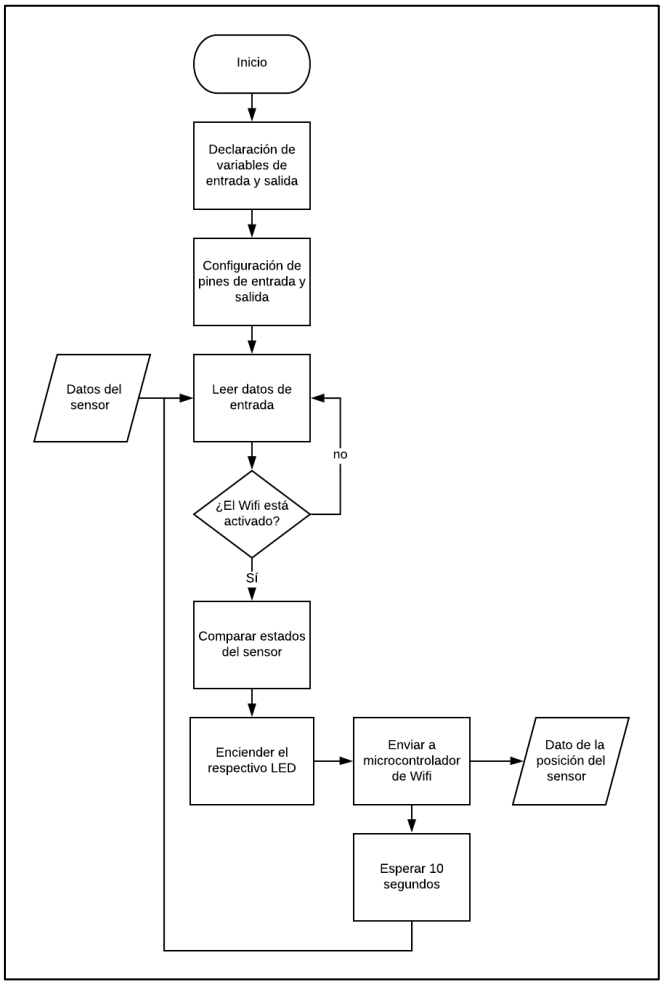


Figura 5. Figura 5. Diagrama de flujo del código programado en el Arduino UNO que analiza los datos enviados por el sensor.

En el código para el esp8266 consta de los siguientes procesos clave: Primero, Establece conexión con Internet, y para iniciar conexión con el Arduino UNO

se envía un carácter. Después, se establece conexión con el Servidor de Ubidots para seguir con la ejecución del programa. Una vez que se establecido la conexión con el servidor éste recibe los datos por parte de la tarjeta Arduino UNO, esto lo hace mediante los puertos seriales. El siguiente paso es interpretar los datos que recibe, los datos enviados son tipo char y se pasan a un valor entero que corresponde al valor del líquido.

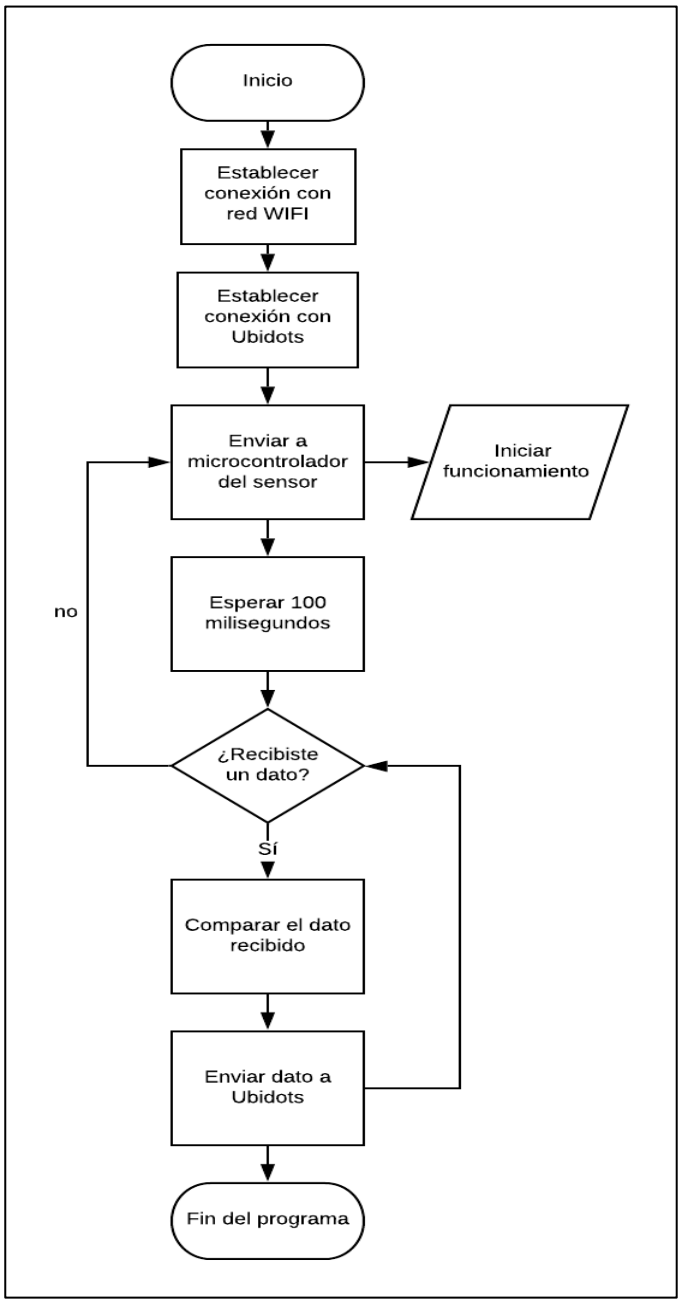


Figura 6. Diagrama de flujo del código programado en el módulo Wi-Fi ESP8266 realizando la conexión a la red de internet y a UBIDOTS.

Resultados

En la figura 7 se muestra una de las pruebas de funcionamiento del sensor LR8300 con el tanque que se usa para alimentar de lubricante a la máquina troqueladora.



Figura 7. Prueba de funcionamiento del sensor LR8300 en el tanque de almacenamiento del lubricante de la máquina troqueladora.

En la figura 8 se muestra la tarjeta desarrollada para la adquisición de las señales del sensor, y el acondicionamiento de las señales para que sean leídas por la tarjeta de desarrollo Arduino Uno. Aquí se pueden observar los transistores TIP-121 configurados como interruptores.

En la figura 9 se presenta la tarjeta de desarrollo Arduino Uno interconectada con el resto de los componentes electrónicos que componen la propuesta de solución.

En la figura 10 se muestra el sistema desarrollado para el acondicionamiento y procesamiento de la señal enviada por el sensor de nivel y la transmisión de

datos de forma inalámbrica al servidor WEB de UBIDOTS.

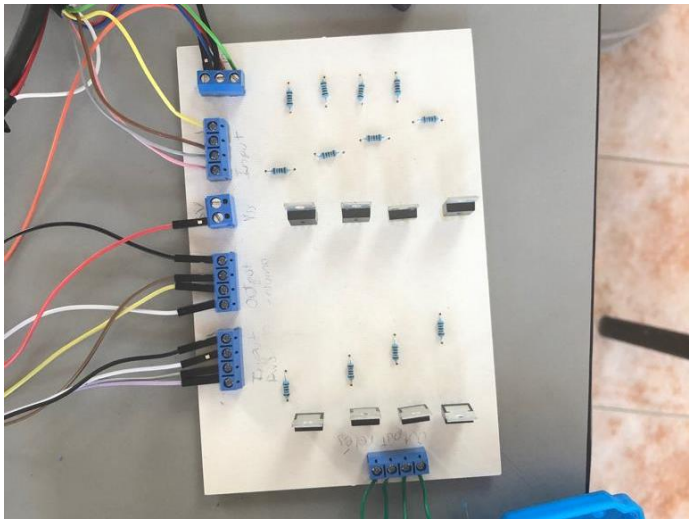


Figura 8. Tarjeta electrónica de transistores TIP-121 configurados como interruptores para el acondicionamiento y acoplamiento de las señales provenientes del sensor de nivel.

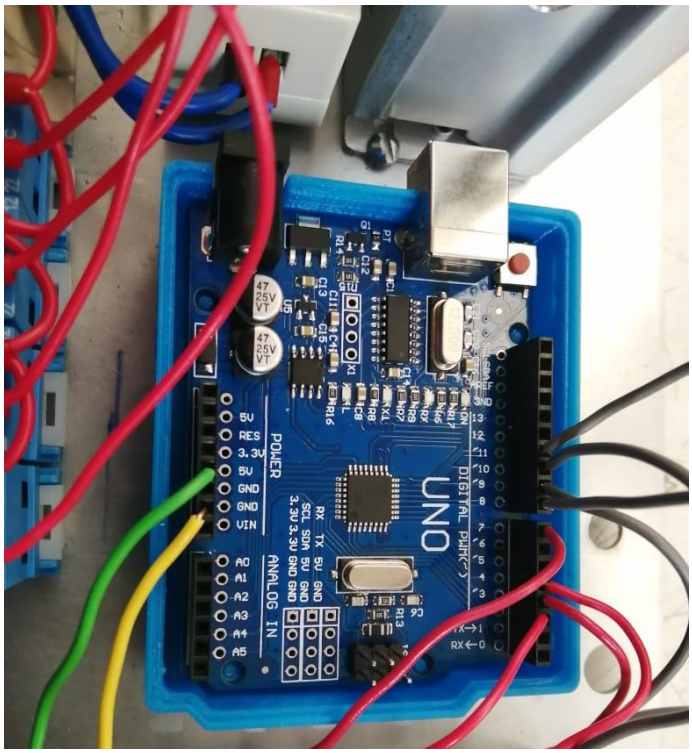


Figura 9. Tarjeta de desarrollo Arduino Uno utilizada para el procesamiento de señales y para la transmisión de datos al módulo de comunicación inalámbrica ESP8266.

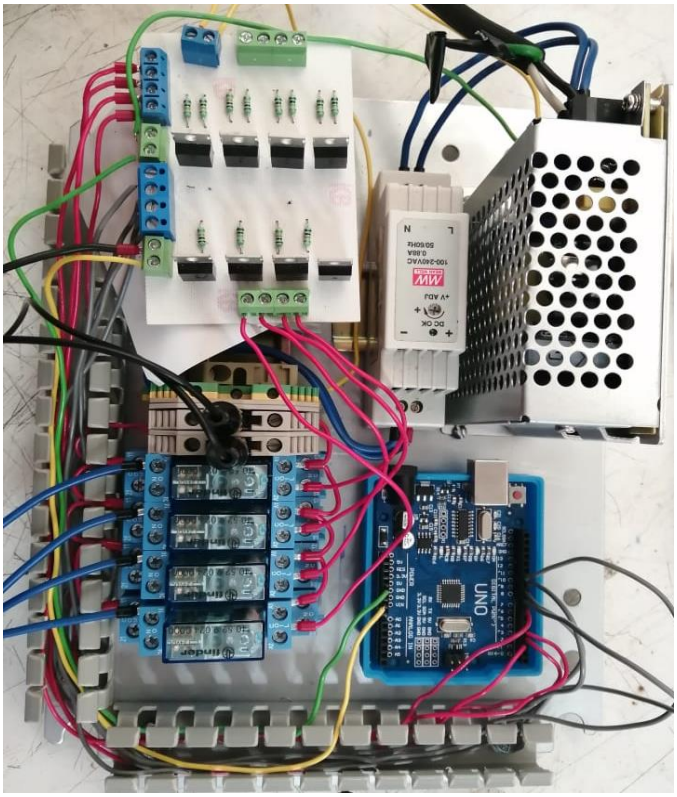


Figura 10. Sistema completo de acoplamiento, acondicionamiento y transmisión de datos para la propuesta de solución.

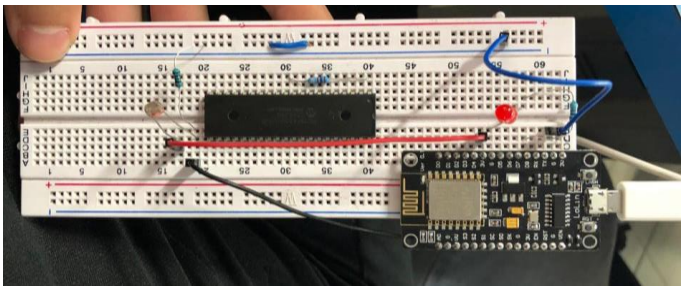


Figura 11. Tablilla de pruebas del módulo de comunicación inalámbrica ESP8266.

En la figura 12 se muestra la interfaz desarrollada en el servidor WEB en UBIDOTS. Además se muestra en operación la torreta indicadora. Mientras que en la figura 13 se muestra otra imagen donde solo se muestra la variable de nivel dentro de la interfaz diseñada en UBIDOTS.

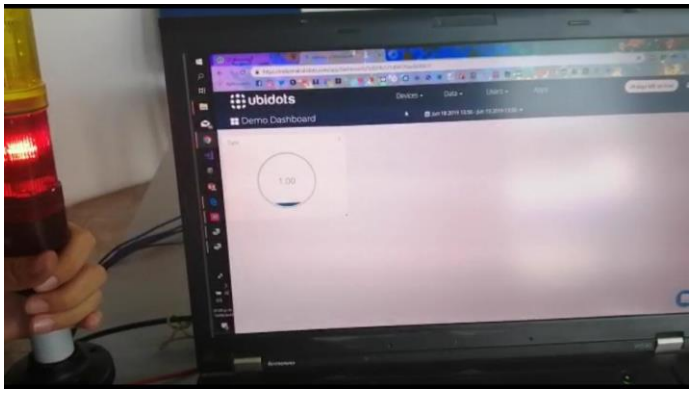


Figura 12. Interfaz diseñada en UBIDOTS y torreta indicadora de nivel en el estado de vacío.

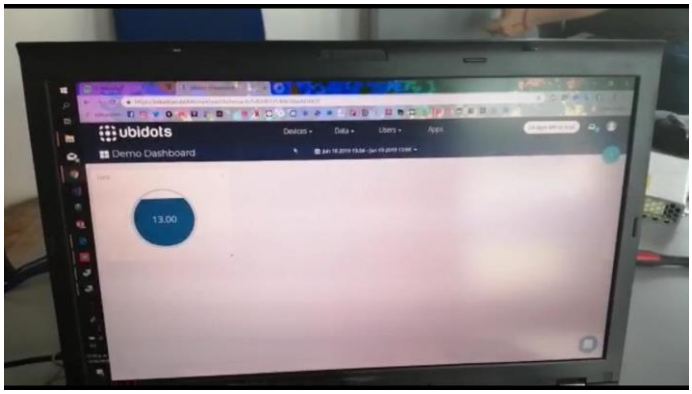


Figura 13. Interfaz diseñada en UBIDOTS con nivel máximo del tanque contenedor de lubricante.

Discusión y Conclusiones

En este trabajo se presenta una propuesta de solución para el monitoreo del nivel del lubricante que ocupa una máquina de troquelado de la empresa NASG. El desarrollo no solo contempla un sistema de aviso local mediante de una torreta indicadora, si no que mediante la aplicación de los conceptos del Internet de las Cosas aplicado a la industria se pudo interconectar el sistema a un servidor WEB en este caso a la plataforma de UBIDOTS. El sistema cuenta con la electrónica suficiente para acondicionar y acoplar las señales enviadas por el sensor a la tarjeta de desarrollo Arduino Uno. Finalmente esta tarjeta se interconectó con el módulo de comunicación Inalámbrica ESP8266 para transmitir los datos a Internet. Dentro de las pruebas realizadas al sistema se montó el sensor en el tanque que contiene al lubricante, lo anterior se muestra en la figura 7. Se realizaron varias pruebas del sistema para vrificar la comunicación entre el módulo de comunicación inalámbrico y el servidor WEB. Dentro de las mejoras que se pueden realizar esta en sustituir la tarjeta de desarrollo por un Controlador Lógico Programable (PLC, por sus siglas en inglés), esto daría la ventaja de tener un sistema robusto, es decir un sistema inmune al ruido que se presenta en la industria y una mejora sustancial es el utilizar la sub red IO link con la que cuenta el sensor de la empresa; esto llevaría a la empresa a estar trabajando en los conceptos de Industria 4.0

Referencias Bibliográficas

Acerca del radar por onda guiada.(s.f) Recuperado el 5 de septiembre del 2019 del sitio web EMERSON: https://www.emerson.com/es-es/automation/measurement-instrumentation/level/continuous-level-measurement/about-guided-wave-radar

Medición de Nivel de Líquidos (s.f) Recuperado el 5 de septiembre del 2019, de http://webdelprofesor.ula.ve/ingenieria/oscaror/CursosDictados/web%20instrumentacion%20industrial/1%20transductores%20para%20procesos%20industriales/libro%20pdf/CAP%203%20Medicion_nivel_2009_n.pdf

Provoste C. B. (s.f) Medición de nivel. Recuperado el 5 de septiembre del 2019, de http://www.infoplc.net/files/documentacion/instrumentacion_deteccion/infoPLC_net_MEDICION_DE%20_NIVEL.pdf

Sistema SCADA para control de Fluidos: Descubre las 8 características ideales. (s.f) Recuperado el 5 de septiembre del 2019, de TECTUUS: http://www.tectuus.mx/sistema-scada-control-de-fluidos/

Tecnologías de medición por tiempo de tránsito. (2012) *Electro Industria*. Julio 2012. Recuperado el 5 de septiembre del 2019 de http://www.emb.cl/electroindustria/articulo.mvc?xid=1867&edi=97&xit=tecnologias-de-medicion-por--tiempo-de-transito

Bloque de mucilago de nopal para la construcción: BLOPET

Autor: Ortíz Contreras Luis Diego.
Asesor: Dr. Mario Trejo Perea.
Institución: Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro.
Correo: meta0066@Gmail.com

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, enfocado a la innovación de materiales para la construcción que no afecten al medio ambiente, nace a partir de la responsabilidad que tenemos como ingenieros civiles al aprovechar los recursos y fuerzas naturales para lograr el bienestar progresivo de la humanidad y el papel que desempeñamos para mantener un equilibrio ambiental.

El Blopet es un nuevo modelo de bloque que se pretende que sea el sustituto del bloque tradicional en la construcción, debido que, a diferencia del bloque tradicional, el Blopet no requiere ningún proceso de horneado durante su producción, evitando así la emisión de dióxido de carbono. Y por si eso no fuera suficiente, el Blopet cuenta con características de resistencia, acústicas y térmicas superiores a las del block tradicional, las cuales proporcionarán mayor calidad y confort en las construcciones de casa-habitación, por ejemplo.

Tras un análisis de los insumos que podrían utilizarse para la creación de un bloque ecológico opté el por utilizar insumos como el mucilago de nopal mejor conocido como “baba de nopal”, éste es un recurso natural de fácil obtención debido a que México es el único país con las condiciones climatológicas ideales para el crecimiento del nopal; e insumos que se encuentren en gran cantidad y representen un foco de contaminación como el papel y PET y por último arcilla. Teniendo como resultado un Blopet.

ABSTRACT

This research work, focused on the innovation of construction materials that do not affect the environment, stems from the responsibility we have as civil engineers to take advantage of natural resources and forces to achieve the progressive well-being of humanity and role we play to maintain an environmental balance.

The Blopet is a new block model that is intended to be the substitute of the traditional block in construction, because, unlike the traditional block, the Blopet does not require any baking process during its production, thus avoiding the emission of carbon dioxide. carbon. And if that were not enough, the Blopet has resistance, acoustic and thermal characteristics superior to those of the traditional block, which will provide greater quality and comfort in house-room constructions, for example.

After an analysis of the inputs that could be used for the creation of an ecological block I opted to use inputs such as the nopal mucilage better known as “nopal baba”, this is an easily obtainable natural resource because Mexico is the only one country with the ideal weather conditions for the growth of the cactus; and inputs that are in large quantities and represent a source of contamination such as paper and PET and finally clay. Resulting in a Blopet.

Keywords – ecological block; block; walls; nopal mucilage.
Palabras clave – bloque ecologico; block; muro; mucilage de nopal.

INTRODUCCIÓN

Los primeros registros sobre la creación del primer block de concreto sólido es en 1833 y dos décadas más tarde, se creó bloque hueco. Ambas invenciones se deben al ingenio y creatividad de diseñadores ingleses. Con el paso del tiempo se ha tratado de innovar el block de hormigón tradicional que ocupa hornearse, buscar que su realización no produzca efectos secundarios en el medio ambiente.

Actualmente se han creado varios prototipos y bloques con la baba de nopal, por citar algunos ejemplos tenemos que en el Instituto Tecnológico Superior de Huichapan se elavoró un prototipo de bloque con baba de nopal, sellador, cemento, granzón y poma, la investigación sobre el proyecto menciona que es bueno para la construccion pero no menciona la reduccion de el dioxido de carbono que se genera con el horneado.

Los bloques ecológicos Blopet pueden sustituir al bloque tradicional ofreciendo una mayor resistencia, calidad y confort y también disminuirán las emiciones de dióxido de carbono y el volumen de materiales contaminantes como papel y PET en el medio ambiente. Por lo cual se trata de disminuir la emición de dióxido de carbono en la elaboración de materiales de construcción con la produccón de bloques ecológicos Blopet.

En el articulo ¨Efectos de la utilización de savias vegetales en los bloques de tierra comprimida con respecto a la prueba de abrasión¨ presentan información sobre el mucilago de nopal donde destacan sus caracteristicas mecanicas como la rigidez y la abrasion que produce en un bloque con materiales convencionales.

El uso del mucilago de nopal o mas bien conocido como baba de nopal es un material que apenas esta saliendo a flote en la construccion, se esta investigando y se esta experimentando, no existe mucha informacion sobre él, pero a un futuro sera un material con bastantes aplicaciones en la construccion.

El block más común en construcción de casa-habitación es de medidas 20x14x40, cuyas medidas tomamos como referencia para la creación de un block ecológico y que llega a hacer sustentable.

Un block de hormigón está constituido por una mezcla de diseño óptima la dosificación 1:5:2 (cemento: arena: piedra) en volumen, estas proporciones ya mencionadas las tomamos para la creación del blopet, donde usamos mucílago de

nopal o también conocido como baba de nopal, tereftalato de polietileno y papel reciclado con su respectivo porcentaje de arcilla.
Los materiales del Blopet son los siguientes:

1. MUCÍLAGO DE NOPAL.

Es un material natural que tiene características favorables para el uso en construcción, en investigaciones se demostró que el mucílago tiene una alta durabilidad cuando se usa en forma de coloide como un aditivo con agua destilada, después de diversas pruebas de laboratorio e investigaciones, se demostró que disminuye el transporte de agua dentro del material y aumenta su resistencia y de igual manera permitió una disminución en las grietas generadas por el tiempo.

2. TEREFTALATO DE POLIETILENO

El material tereftalato de polietileno o popularmente conocido como PET, es un material que se le puede sacar beneficio después de ser descechado y tener un segundo uso, en este caso lo aplicamos para la elaboración del Blopet.

Las características más importantes que podemos obtener de este material reciclado son:

- Tiene gran resistencia estructural en conjunto.
- Resistencia térmica.
- Aislamiento acústico.
- Una durabilidad aproximadamente a los 300 años por blopet.

3. PAPEL RECICLADO

Este material es abundante en escuelas e instituciones administrativas, por lo cual es un material que es fácil de conseguir para darle un uso en la construcción. No obstante que sea bastante signifique que nos genera mucha aportación, en investigaciones realizadas podemos encontrar que produce una baja conductividad térmica, que actúan como buenos aislantes

4. UNICEL

El unicel es un material que actualmente ha reducido su consumo pero sigue existiendo, se recurre al uso de este material ya que sea identificado propiedades como su enorme capacidad de aislante térmico, aislante acústico, prácticamente nula absorción de agua. Provocando su uso mas generalizado en la industria de la construcción en forma de muros divisorios, plafones, ductos de aire acondicionado, aislamientos, marinas flotantes, muros de carga, losas, etc. Pero este material se combinará con los materiales anteriormente mencionados.

METODOLOGÍA

El block más común en construcción de casa-habitación es de medidas 20x14x40, cuyas medidas tomamos como referencia para la creación

de un block ecológico y que llega a hacer sustentable.

Un block de hormigón está constituido por una mezcla de diseño óptima la dosificación 1:5:2 (cemento: arena: piedra) en volumen, estas proporciones ya mencionadas las tomamos para la creación del blopet, donde usamos mucílago de nopal o también conocido como baba de nopal, tereftalato de polietileno y papel reciclado con su respectivo porcentaje de arcilla.

Para realizar un blopet es necesario:

- Un molde de block convencional medidas 20 x14 x 40 con dos huecos en el centro para proporciona una capa de aire encerrada entre 2 paredes sólidas, la temperatura de un lado a otro del muro se ve reducida y así logra tener un buen aislamiento térmico.
- Recolectar botellas de PET, importante clasificar las botellas dependiendo su color y material para conseguir un PET aceptable.
- Recolectar las hojas de papel.
- Nopales de la región noreste del estado de Guanajuato, preferentemente, ya que existe un clima semiárido ayudando al crecimiento de esta planta cactácea.

La técnica para obtener el mucílago se aplicó con base en el artículo *Physical properties of mucilage prickly pear*, el cual nos explica de manera detallada lo siguiente: “El parénquima medular de los cladodios debe ser separado manualmente con navaja, para luego triturarlo.”

El procedimiento que continua luego de obtener el mucílago es el siguiente:

- Por cada 100 gr de parénquima se tienen que adicionar 250 ml de agua destilada a la mezcla.
- Posteriormente se agita el material a 100 rpm durante 12 h a temperatura ambiente.
- Luego se realiza el primer filtrado de la mezcla en un tapiz casero.
- Finalmente se repite el proceso de filtración adicionando el mismo volumen de agua, se deja reposando para después hacer el 2º, 3º y 4º filtrado.
- El mucílago obtenido en los filtrados presenta un pH ligeramente ácido con un valor de 6.6.

Los materiales RPET tienen que ser triturados junto con el papel reciclado para proceder a integrarlos en la mezcla con el coloide y formar una pasta espesa perfectamente mezclada. La pasta ya mezclada es vaciada en el molde de

yeso con forma del blopet y se aplica presión suficiente para obtener un molde totalmente lleno.

Como último paso se deja secar el blopet a una temperatura ambiente y expuesto al sol. Recordemos que este block ecológico y no requiere ningún tipo de horneado, esto con la finalidad de evitar la contaminación por bióxido de carbono [CO2] que emite la producción del bloque tradicional.

Se han hecho tres ejemplares de los cuales dos si lograron el secado completo y se logro lo esperado, en cambio el que no logro secado fue por una mala mezcla del coloide. De los ejemplares que fueron buenos, se tuvieron en pruebas y se presento para la clase de Desarrollo de Proyectos 1 donde se dio el visto bueno por el profesor.

RESULTADOS Y ANEXOS

Actualmente solo el bloque a tenido pruebas de laboratorio donde no se ha podido tener resultados muy complejos ya que no se cuenta con todo el instrumento necesario para hacer las pruebas necesarias para poder cubrir todas las normas que deben cumplir.

Por otro lado, en las pruebas que se tuvieron ha arrogado resultados buenos comparando con los resultados de boques normales.

Block	Comparación		
	Medidas	Materiales	Soporte
De hormigón	19x14x39	Cemento, arena, piedra partida	3-4 toneladas
blopet	20x14x40	Mucilago de nopal, RPET, papel reciclado	Resiste 4 o más toneladas

Tabla 1. Comparación generales.

Muestra	Tipo de bloque	Densidad aparente seca. (kg/m^3)	Coef. De variación.	Densidad saturada de agua. (kg/m^3)	Coef. De variación.
control	----------	2120	0.020	2290	0.010
15%	Hormigón	2070	0.019	2250	0.009
15%	Blopet.	2010	0.015	2202	0.005

Tabla 2. Densidad aparente de bloques.



Imagen 1. Papel triturado.



Imagen 2. Pet triturado.



Imagen 3. Nopal antes de sacar la baba.



Imagen 4. Pelando nopal.



Imagen 5. Colando el coloide.



Imagen 6. Producto de acetona y unicel.

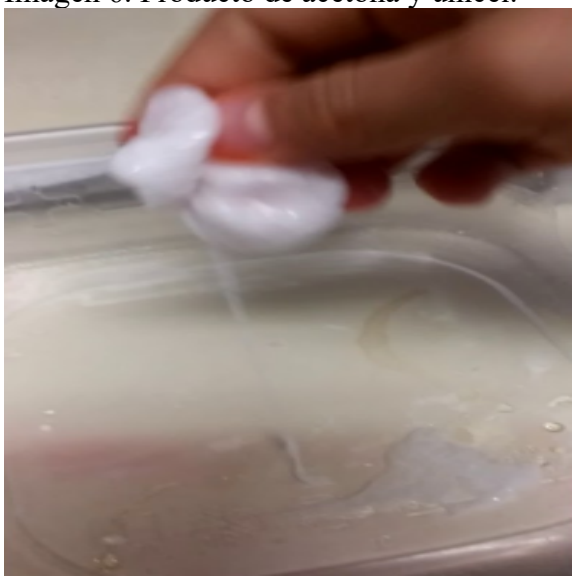


Imagen 7. Disolviendo



Imagen 8. Mezclando productos.



Imagen 9. Blopet. Semi-terminado

CONCLUSIONES

En la construcción se estado implementado nuevos materiales que vayan sustituyendo a los tradicionales, que sean sustentables y ecológicos ya que en algunos casos salen más baratos y con mejores cualidades que los materiales tradicionales. En la tabla 1 se muestra una comparación de medidas y materiales, pero en el aspecto de soporte se tiene una mayor resistencia en el blopet.

En el aspecto de precios un block tradicional tiene un costo de $12.00, un blopet tendrá un costo considerado a que éste puede ser hasta 70% más económico que el tradicional, dado que en su elaboración se utilizan materiales reciclados, por lo que este proyecto podrá tener alto impacto social, aunado a la generación de empleos necesarios para su producción y comercialización.

BIBLIOGRAFÍA

Yolanda Guadalupe Aranda-Jiménez Edgardo Jonathan Suárez-Domínguez. (abril 2014). Efecto de la impermeabilidad del Mucílago de Nopal en bloques de tierra comprimidos. Legado de Arquitectura y Diseño ISSN, 1, 19.

Aranda-Jiménez, Yolanda Guadalupe; García-Izaguirre, Víctor Manuel. (marzo 2016). Efectos de la utilización de savias vegetales en los bloques de tierra comprimida con respecto a la prueba de abrasión. Legado de Arquitectura y Diseño, 1, 19.

Gabriel Enriquez, Juan Mendoza. (13 de enero de 2016). Ensayos a mezclas de barro estabilizadas para el relleno y empañetado de paredes de Bahareque . Ingeniería Investigación y Tecnología , 2, 26.

Lorena Vargas-Rodríguez* , Gabriela Arroyo Figueroa*, Carlos Hernán Herrera Méndez*, Antonio Pérez Nieto*, María Isabel García Vieyra*, Jesús Rubén Rodríguez Núñez*. (117 de enero 2017). ropiedades físicas del mucílago de nopa. Elsevier, 2, 124.

A Study of Packaging Efficiency As It Relates to Waste Prevention. Prepared by the Editors of the ULS Report. Febrero 2014.

Estudio de propiedades ópticas y térmicas de puntos cuánticos de InP

Juan José Ortiz-Estrada[1], J. Martín Yañez-Limón[2], M. Lucero Gómez-Herrera[3], Daladier A. Granada-Ramírez[4], Julio G. Mendoza-Alvarez[5]

[1]Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro. juanjo950327@gmail.com

[2]Unidad Querétaro, Cinvestav-IPN. jmyanez@cinvestav.mx

[3]Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro. lucero.gomez@uaq.mx

[4]Doctorado en Nanociencias y Nanotecnología, Cinvestav-IPN. daladier.granada@cinvestav.mx

[5]Departamento de Física, Cinvestav-IPN. juliogma1@gmail.com

Resumen

La síntesis de nanocristales semiconductores, también conocidos como puntos cuánticos (PCs), ha generado un gran interés en los años recientes debido a las propiedades únicas de estos materiales nanoestructurados, debido a los efectos de confinamiento cuántico. Se sintetizaron una serie de PCs de fosfuro de indio (InP) de diferentes tamaños usando el método one-pot sin inyección de precursores variando la concentración de miristato de indio. La emisión y absorción óptica muestran cambios a mayores valores de energía a medida que el tamaño de PC disminuye. De los espectros de absorción UV-vis, se pueden calcular parámetros ópticos como el band gap de energía, obteniendo valores de 2.57 a 3.78 eV, y se puede ver un cambio en el borde de absorción de 230 a 300 nm a medida que la concentración de miristato de indio aumenta. El espectro de fotoluminiscencia (PL) presenta una amplia banda de emisión en la región del espectro visible con un pico máximo localizado entre 2.1 y 2.9 eV para las diferentes muestras. Por otro lado, la difusividad térmica de los PCs de InP se midió usando la técnica de resonador de cavidad de ondas térmicas (TWRC); obteniendo valores de difusividad térmica en el rango de 8.60 x 10^{-4} a 9.53 x 10^{-4} cm^2s^{-1}. Estos resultados muestran que la difusividad térmica disminuye cuando el tamaño de nanopartícula aumenta. Discutimos los efectos del tamaño del PC en estas propiedades ópticas y térmicas.

Palabras clave: Puntos cuánticos, absorbancia, fotoluminiscencia, difusividad térmica.

Abstract

The synthesis of semiconductor nanocrystals, also known as quantum dots (QDs), has generated a great interest in recent years due to the unique physical properties of these nanostructured materials, arising from quantum confinement effects. A series of indium phosphide (InP)-based QDs of different sizes were synthesized using the one-pot method without precursor injection by varying the concentration of indium myristate. The optical absorption and emission features shift to higher energies as the QD size decreases. From the UV-Vis absorption spectra, optical properties such as band gap energy can be calculated; obtaining values between 2.57 and 3.78 eV, and a shift in absorption edge can be seen from 230 to 300 nm as the concentration of indium myristate increases. Photoluminescence (PL) spectra present a wide emission band in the visible spectrum region with the maximum peak located between 2.1 to 2.9 eV for the different samples. On the other hand, the thermal diffusivity of InP QDs was measured by using the thermal-wave resonator cavity (TWRC) technique; obtaining thermal diffusivity values in the range from 8.60 x 10^{-4} to 9.53 x 10^{-4} cm^2s^{-1}. These results show that the thermal diffusivity decreases as the nanoparticle size increases. We discuss the effect of the QD size on these optical and thermal properties.

Keywords: Quantum dots, absorbance, photoluminescence, thermal diffusivity.

Introducción

Los puntos cuánticos (PCs) son cristales semiconductores a escala nanométrica compuestos de elementos de los grupos II-VI y III-V de la tabla periódica, y se definen como partículas con dimensiones físicas más pequeñas que el radio del excitón de Bohr (Mikhail, 2017). El efecto de confinamiento cuántico da lugar a propiedades ópticas y eléctricas únicas que no se encuentran en sólidos en volumen (Donegá, 2014). El interés del uso de PCs es debido a estas nuevas propiedades como el cambio en la estructura de bandas de energía. Cuando ocurren efectos de confinamiento las bandas de energía cambian de indirecta (en materiales en volumen) a directa (con la restricción de movimiento en las tres dimensiones espaciales, en PCs) y con esto se logra mejorar propiedades ópticas como la luminiscencia (Efros, 2016). Los nanocristales (NCs) de semiconductores de sulfuro de cadmio (CdS), selenuro de cadmio (CdSe), sulfuro de zinc (ZnS), antimoniuro de galio (GaSb), arseniuro de galio (GaAs), fosfuro de indio (InP), arseniuro de indio (InAs) se han utilizado en la síntesis de PCs con diferentes aplicaciones, particularmente en optoelectrónica (monitores, iluminación, fotovoltaicos, etc.), y así como en la formación de imágenes biológicas en la detección de enfermedades (Lui, et al., 2015). La importancia de trabajar con PCs de InP en el presente trabajo es debido a su baja toxicidad en comparación con PCs de CdS y CdSe, particularmente para sus aplicaciones como marcador molecular en medicina (Zhou, 2015). Algunos estudios de citotoxicidad en ratas han demostrado que PCs de CdSe y CdS no son completamente inocuos (Ma-Hock, et al., 2014).

El estudio de propiedades térmicas de fluidos por técnicas piroeléctricas ha mostrado buenos resultados para la medición de parámetros termo-cinéticos como el coeficiente de difusividad térmico, mostrando de los restados son confiables (Zammit, et al., 2015).

Se tiene la expectativa que a baja dimensionalidad los PCs de InP posean propiedades ópticas y electrónicas distintas con beneficios en sus aplicaciones como marcadores fluorescentes en biomedicina. Por ello, la información obtenida de medición por espectroscopia de fotoluminiscencia y el estudio fototérmico de estos nanocristales semiconductores es de gran relevancia para conocer parámetros tales como: coeficientes de absorción óptica, de conductividad y difusividad térmica que nos ayuden a decidir la viabilidad en la aplicación de PCs de uso biomédico como marcadores fluorescentes (Angayarkanni & Philip, 2015).

La difusividad térmica es la clave para evaluar el rendimiento térmico de los coloides bajo condiciones de flujo y aplicaciones basadas en mecanismos de transferencia de calor. En este estudio se presenta una técnica fotopiroeléctrica montada en laboratorio, fácil y sencilla de manejar para medir este importante parámetro térmico (Salazar, et al., 2016).

Metodología

Materiales

La síntesis de puntos cuánticos de InP se realizó utilizando los siguientes precursores químicos: acetato de indio (IA, 99.99%), ácido mirístico (MA, 99%), tris(trimetilsilil)fosfina (TTP, 95%), 1-octadeceno (ODE, 90%), 1-dodecanotiol (DOD, 98%), estereato de zinc (ZS, 90%). Todos los reactivos y solventes provienen de Sigma- Aldrich. La síntesis one-pot se siguió conforme al siguiente autor (Chen, et al., 2016).

Síntesis de PCs de InP

Los PCs coloidales de semiconductores de InP@ZnS se producen por un proceso de síntesis químico en un solo paso (One-Pot) sin inyección de precursores en caliente, en una cámara de guantes con atmosfera de N_2 (99.995% de pureza, Infra-México). En la tabla 1 se muestran las cantidades de reactivos y solventes utilizados en el proceso de síntesis, observando una variación en la concentración de MA utilizado para 5

muestras de PCs sintetizados. La temperatura fue de 240 °C y un tiempo de reacción de 2 h. Algunos otros estudios muestran técnicas químicas sencillas como la que se usa en este estudio obteniendo buena estabilidad química de las suspensiones coloidales de PCs (Tessier, et al, 2015).

Tabla 1. Parámetros experimentales usados en la síntesis de PCs de InP@ZnS.

Muestra	IA (mg)	MA (mg)	ODE (mL)	TTP (µL)	DOL (µL)	ZS (mg)
F1	58.39	205.524	14	29	23	63.2
F3	58.39	182.688	14	29	23	63.2
F5	58.39	159.852	14	29	23	63.2
F7	58.39	137.016	14	29	23	63.2
F9	58.39	114.180	14	29	23	63.2

Proceso de lavado de los PCs

Después de la síntesis, se lleva a cabo un proceso de lavado para obtener PCs bien dispersados. Se centrifuga una mezcla de acetona, etanol y PCs (25%/25%/50% en volumen, respectivamente) por seis veces en una centrifuga Eppendorf 5424 a 15000 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente. Y después las muestras se dispersan en tolueno.

Caracterización de los PCs

El estudio estructural de los PCs de InP@ZnS se realizó con un microscopio de transmisión de electrones de alta resolución (HRTEM) JEOL JEM-200 (JEOL Ltd, Tokio, Japón) de 80 a 200 kV. El espectro de absorción óptica de las muestras coloidales se midió en un rango de 200-800 nm. Se registraron usando una cubeta de cuarzo de 10 mm de longitud de camino en un espectrómetro de escaneo Perkin-Elmer UV-vis-NIR (Perkin-Elmer Inc., Shelton, CT, USA). El espectro de fotoluminiscencia se midió a temperatura ambiente usando como fuente de excitación un láser de He-Cd (Omnichrome-Series 56, Carlsbad, CA, USA) emitiendo a 325 nm con una potencia de excitación óptica de 15mW. Las mediciones de difusividad térmica de PCs se realizaron usando la técnica TWRC de un arreglo experimental diseñado en laboratorio a temperatura ambiente, figura 1. Se utiliza una intensidad de láser de 130mA y una frecuencia Chopper de 4 Hz. La regresión lineal de datos de voltaje y frecuencia ayudan a obtener los valores de difusividad térmica.

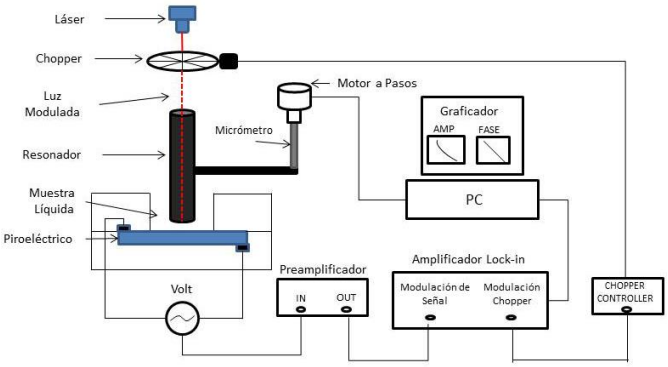


Figura 1. Esquema del sistema TWRC experimental para la medición de difusividad térmica de muestras líquidas.

Resultados

A continuación se presentan los resultados del análisis estructural y morfológico (Figura 2), medicines de espectros de absorción (Figura 3), emisión (Figura 4) y la dependencia de las propiedades ópticas y térmicas con respecto al tamaño de nanopartícula (Figura 5 y 6, respectivamente).

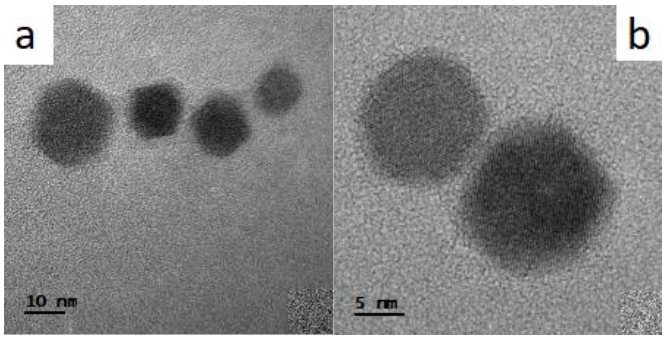


Figura 2. Micrografías HRTEM de puntos cuánticos de InP@ZnS. **a)** Muestras F1 y **b)** muestra F3.

En la figura 2 se presentan dos micrografías en las que se aprecia la morfología de los partículas de InP@ZnS con forma esférica. La figura 3 tiene un recuadro que muestra los espectros de absorción en un barrido de longitud de onda y la gráfica grande

muestra la correspondiente extrapolación para obtener los valores de energía óptica de band-gap.

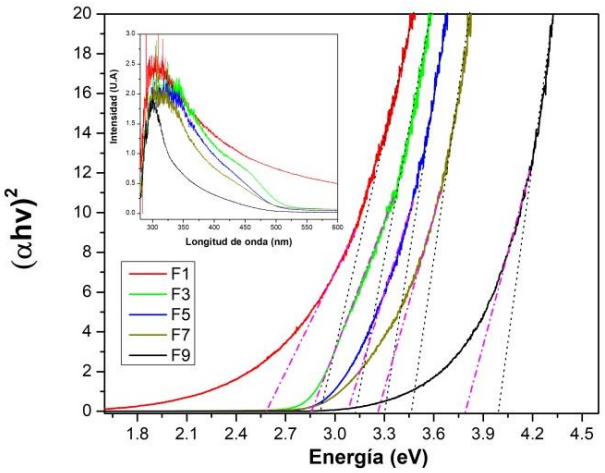


Figura 3. Espectro de absorción UV-vis de las muestras de InP@ZnS, en el recuadro. Se utilizó el modelo Tauc para determinar la energía de band-gap.

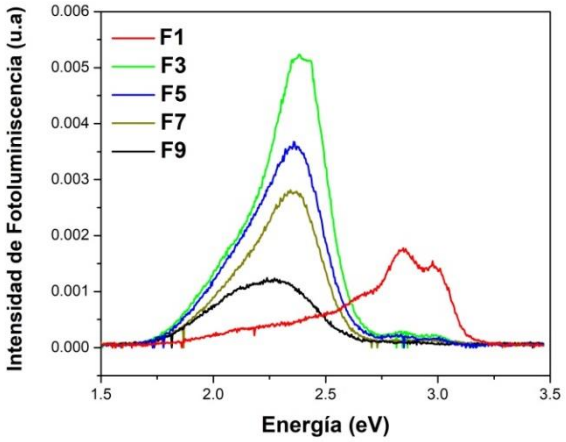


Figura 4. Espectroscopia de fotoluminiscencia de PCs de InP@ZnS. Mediciones a temperatura ambiente.

En los gráficos presentes en las figuras 5 y 6 se muestran los resultados de los valores de energías de band gap (E_g) contra el tamaño de partícula en nm y los valores de los coeficientes de difusividad térmica contra el tamaño de PCs de InP@ZnS. Se realizó un una regresión de datos que se ajuntan a los valores experimentales y se comprueba que a baja dimensionalidad los efectos de confinamiento cuántico efectivamente modifican las propiedades ópticas como algunos estudios teóricos lo confirman (Das, et al., 2016).

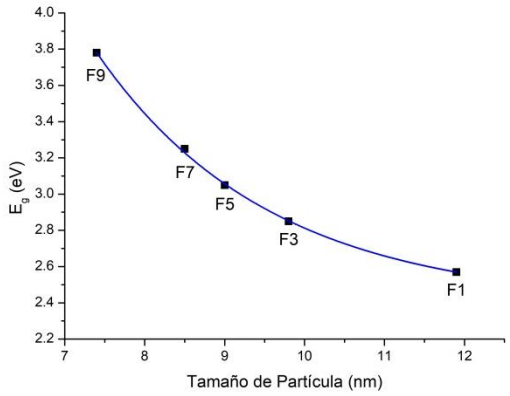


Figura 5. Dependencia del tamaño de PCs de InP@ZnS con la energía band-gap. La energía de band-gap aumenta cuando el tamaño de nanopartícula disminuye.

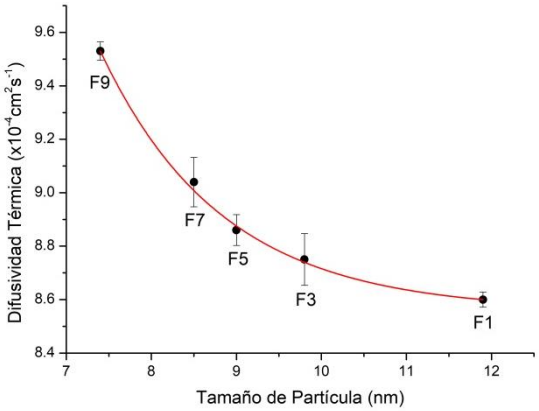


Figura 6. Dependencia de la difusividad térmica con el tamaño de los PCs de InP@ZnS. La difusividad térmica aumenta a medida que el tamaño de nanopartícula disminuye.

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en este estudio. Se presentan los parámetros ópticos y térmicos de las soluciones coloidales de PCs de InP@ZnS, así como la variación de la concentración de MA y el tamaño medido de los PCs.

Tabla 2. Resultados de los parámetros ópticos y térmicos de PCs de InP@ZnS.

Muestra	Tipo	MA (mg)	E_g (eV)	Tamaño Medido (nm)	Difusividad Térmica ($x10^{-4}$ cm^2s^{-1})
F1	InP@ZnS	205.524	2.57	11.9	8.60± 0.028
F3	InP@ZnS	182.688	2.85	9.8	8.75± 0.096
F5	InP@ZnS	159.852	3.05	9.0	8.86± 0.057
F7	InP@ZnS	137.016	3.25	8.5	9.04± 0.092
F9	InP@ZnS	114.180	3.78	7.4	9.53± 0.034

Discusión de Resultados

El análisis estructural de las muestras de PCs de InP@ZnS de la figura 2 muestra la morfología de los NCs. La morfología esférica predomina en los NCs como se aprecia las micrografías TEM de alta resolución. Las imágenes se procesan en un software de procesamiento digital. Las escalas de cada micrografía indican los tamaños correspondientes de los PCs obteniendo valores de 11.9 a 7.4 nm.

En la figura 3 se muestran los resultados del espectro de absorción para los PCs de InP@ZnS. A través de la ecuación de Tauc en la región de alta absorción para semiconductores se puede determinar la relación del coeficiente de absorción (α) y la energía incidente del fotón (hν):

$$\alpha h\nu = A\,(h\nu - E_g)^n \qquad (1)$$

en la Ecuación 1, A es una constante y E_g es la energía óptica del band-gap. Otra constante es n, el cual representa el factor de potencia del modelo de transición. El valor de n depende de la cristalinidad del material y de la transición del fotón, para transición electrónicas directas n= ½. La energía óptica del band-gap se calcula por la extrapolación de la línea recta de la gráfica de $(\alpha h\nu)^2$ contra la energía del fotón (hν), como en la figura 3 se muestra.

En el espectro de absorción de la figura 3 se observa que los bordes de absorción cambian a mayores valores de energía a medida que el tamaño de los PCs disminuye y en la figura 5 se tienen los datos graficados que muestran esta dependencia del tamaño de partícula con el valor de energía de band-gap obtenidos experimentalmente y que contrastan la teoría y otro estudio publicado recientemente (Granada, et al, 2019).

El espectro de emisión de fotoluminiscencia correspondiente los PCs de InP@ZnS se presenta en la figura 4. El rango de emisión de PL muestra que los PCs de InP@ZnS tienen un amplio rango de emisión en el espectro de luz visible. Podemos observar al menos dos bandas de emisión, una de baja región de energía y otra en una alta región de energía. Las bandas de emisión en la región de alta energía, que comprende entre 2.6 y 3.2 eV, se atribuyen a la presencia de óxido de indio (In_2O_3). Un proceso de desconvolución gausiano de los valores bajos de energía PL muestra las bandas de emisión relacionadas a los defectos de estados superficiales. Así mismo, se aprecia que las bandas de emisión cambian a mayores valores de energía a medida que la concentración de miristato de indio aumenta. Estos espectros de PL muestran también el efecto de la pasivación de la coraza de ZnS la cual contribuye a la neutralización de los defectos superficiales de los PCs de InP (Tamang, et al., 2016).

Los resultados de las mediciones de difusividad térmica presentes en la tabla 2 muestran una una estabilidad en el orden de magnitud para os valores de las muestras coloidales de PCs de InP@ZnS. Estos resultados van de los $8.60\pm 0.028\ x10^{-4}\ cm^2s^{-1}$ para la muestra de PCs de mayor tamaño hasta $9.53\pm 0.034\ x10^{-4}\ cm^2s^{-1}$ para la muestra de menor tamaño, mostrándose una relación de los valores de difusividad térmica con el tamaño de partícula. A medida que disminuye el tamaño de partícula (figura 6), aumenta el valor de difusividad térmica del coloide, por lo que podemos afirmar que las NPs modifican las propiedades de transporte térmico de los fluidos aumentando la velocidad de propagación de calor del medio donde estén dispersas. Este comportamiento se puede explicar de modo que cuando el tamaño de partícula disminuye, el área superficial efectiva incrementa, y el movimiento Browniano de las nanopartíulas mejora los mecanismos de transferencia de calor.

Conclusiones

Los puntos cuánticos de InP@ZnS se sintetizaron por el método One Pot mostrando una gran estabilidad con tamaños de partícula de 11.9 a 7.4 nm. Se demostró que disminuyendo la concentración

de miristato de indio, el tamaño de partícula de los PCs también disminuye.

Se obtuvieron las energías de band-gap (2.57-3.78 eV) y al emisión de fotoluminiscencia (2.1-2.9 eV) de los PCs coloidales. Demostramos que la energía de band-gap aumenta cuando el tamaño de nanopartícula disminuye como la teórica predice.

La caracterización térmica por TWRC muestra que la difusividad térmica aumenta cuando el tamaño de partícula se reduce. Mientras el tamaño de partícula disminuye, la relación área superficial efectiva-volumen aumenta, y el movimiento Browniano de las nanopartículas mejora los mecanismos de transferencia de calor por convección.

Referencias

1. Mikhail I. Dyakonov. (2017). Spin Physics in Semiconductors. Springer. Segunda edición.
2. Donegá C. M. (2014). Nanoparticles: Workhorses of Nanoscience. Springer. Berlin.
3. Efros, A. L., & Nesbitt, D. J. (2016). Origin and control of blinking in quantum dots. Nature Nanotechnology, 11(8), 661–671.
4. Liu, J., Hu, R., Liu, J., Zhang, B., Wang, Y., Liu, X. Yong, K.-T. (2015). Cytotoxicity assessment of functionalized CdSe, CdTe and InP quantum dots in two human cancer cell models. Materials Science and Engineering: C, 57, 222–231.
5. Zhou, J., Yang, Y., & Zhang, C. (2015). Toward Biocompatible Semiconductor Quantum Dots: From Biosynthesis and Bioconjugation to Biomedical Application. Chemical Reviews, 115(21), 11669–11717.
6. Ma-Hock, L., Farias, P. M. A., Hofmann, T., Andrade, A. C. D. S., Silva, J. N., Arnaud, T. M. S., … van Ravenzwaay, B. (2014). Short term inhalation toxicity of a liquid aerosol of glutaraldehyde-coated CdS/Cd(OH)2 core shell quantum dots in rats. Toxicology Letters, 225(1), 20–26.
7. Zammit, U., Mercuri, F., Paoloni, S., Marinelli, M., & Pizzoferrato, R. (2015). Simultaneous absolute measurements of the thermal diffusivity and the thermal effusivity in solids and liquids using photopyroelectric calorimetry. Journal of Applied Physics, 117(10), 105104.
8. Angayarkanni, S. A., & Philip, J. (2015). Review on thermal properties of nanofluids: Recent developments. Advances in Colloid and Interface Science, 225, 146–176.
9. Salazar, A., Oleaga, A., Shvalya, V., & Apiñaniz, E. (2016). Improved thermal effusivity measurements of solids using the photopyroelectric technique in the front configuration. International Journal of Thermal Sciences, 100, 60–65.
10. Chen, X., Peng, L., Huang, K., Shi, Z., Xie, R., & Yang, W. (2016). Non-injection gram-scale synthesis of cesium lead halide perovskite quantum dots with controllable size and composition. Nano Research, 9(7), 1994–2006.
11. Tessier, M. D., Dupont, D., De Nolf, K., De Roo, J., & Hens, Z. (2015). Economic and Size-Tunable Synthesis of InP/ZnE (E = S, Se) Colloidal Quantum Dots. Chemistry of Materials, 27(13), 4893–4898.
12. Das, R., Dhar, N., Bandyopadhyay, A., & Jana, D. (2016). Size dependent magnetic and optical properties in diamond shaped graphene quantum dots: A DFT study. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 99, 34–42.
13. Granada-Ramirez, D. A., Arias-Cerón, J. S., Gómez-Herrera, M. L., Luna-Arias, J. P., Pérez-González, M., Tomás, S. A., Mendoza-Alvarez, J. G. (2019). Effect of the indium myristate precursor concentration on the structural, optical, chemical surface, and electronic properties of InP quantum dots passivated with ZnS. Journal of Materials

Science: Materials in Electronics. doi:10.1007/s10854-019-00783-6.
14. Tamang, S., Lincheneau, C., Hermans, Y., Jeong, S., & Reiss, P. (2016). Chemistry of InP Nanocrystal Syntheses. Chemistry of Materials, 28(8), 2491–2506.

DESPLIEGUE DE MÁQUINAS VIRTUALES EN UN CLIENTE LIGERO CONTROLADO MEDIANTE IDENTIFICACIÓN DE RADIO FRECUENCIA UTILIZANDO EL PROTOCOLO SPICE Y GTK.

[1] Eric Octavio Rodríguez García, [2] José Martin Carrillo Morales, [3]Sandra Luz Canchola Magdaleno, [4] Ricardo Chaparro Sánchez.

Eric Octavio Rodríguez García. Universidad Autónoma de Querétaro. Erodriguez35@alumnos.uaq.mx
José Martin Carrillo Morales. Universidad Autónoma de Querétaro. jose.carrillo@jozzzz128.com
Sandra Luz Canchola Magdaleno. Universidad Autónoma de Querétaro. sandra.canchola@uaq.mx
Ricardo Chaparro Sánchez. Universidad Autónoma de Querétaro. rchapa@uaq.mx

RESUMEN

Día con día el uso de tecnologías basadas en la nube ha ido en incremento, ya que los beneficios otorgados como lo son la seguridad, redundancia, centralización de servicios, y acceso global, han propiciado la preferencia por el tipo de tecnologías SAS (Software as a Service).

Otro tipo de tecnologías que han ganado auge en estos últimos años, han sido los clusters de máquinas virtuales, los cuales permiten el uso de diversos SO, con el fin interactuar de una forma más flexible entre múltiples servicios y aplicaciones.

La tecnología de máquina virtual (VM) se ha convertido recientemente en un elemento esencial de los centros de datos modernos, principalmente debido a sus capacidades de aislamiento, consolidación y migración de la carga de trabajo.

En este artículo se explica cómo se realizó una mezcla entre la tecnología de la nube y las máquinas virtuales, con el fin de aprovechar de una forma más demandante los recursos de un servidor que dispone de múltiples GPUs a diferencia de otros servicios que implementan tecnología basada en la nube. A su vez se proporciona un fácil acceso remoto a un cluster de máquinas virtuales dentro de un servidor distribuido a través de una interfaz gráfica básica e intuitiva para el usuario. Este sistema es seguro, ya que hace uso de llaves públicas y privadas (RSA) para hacer el intercambio de datos. Y además gracias al protocolo SPICE, permite el acceso a diferentes SO de forma veloz y eficiente.

Gracias al uso de servidores distribuidos, el usuario tiene a su disposición el poder cambiar entre máquinas virtuales con distintos SO conservando su información, y permitiéndole acceder y modificar desde cualquier distribución en uso. Y a su vez, el hecho de trabajar sobre un cluster de máquinas virtuales permite alterar sus recursos conforme estas se vuelven más o menos demandantes.

ABSTRACT

Day by day the use of cloud-based technologies has been increasing, since the benefits granted such as security, redundancy, centralization of services, and global access, have led to the preference for the type of SAS technologies (Software as a service).

Another type of technologies that have gained boom in recent years, have been the virtual machines clusters, which allow the use of various OS, with the purpose of having a more

flexible interactión between multiple services and applications.

Virtual machine technology (VM) has recently become an essential element of modern data centers, mainly due to its isolation, consolidation and workload migration capabilities.

This article explains how we made a mix between cloud technology and virtual machines, in order to use the resources of a server with multiple GPUs in a more demanding way, unlike other services that implement cloud-based technology. In turn, easy remote access to a virtual machines cluster is provided within a distributed server through a basic and intuitive graphical user interface. This system is safe, since it makes use of public and private keys (RSA) to exchange data. And also thanks to the SPICE protocol, it allows access to different OSs quickly and efficiently.

Thanks to the use of distributed servers, the user gets the option of switching between virtual machines with different OS preserving their information, and allowing them to access and modify it from any distribution in use. And in turn, the fact of working on a virtual machines cluster allows to alter its resources according to its more or less demanding turns.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día hacemos uso de sistemas y aplicaciones en las que diariamente ingresamos información a través de internet.

Las computadoras modernas se encuentran entre las estructuras de ingeniería humana más avanzadas, y su uso sólo es posible debido a nuestra capacidad para gestionar la extrema complejidad. Los niveles de abstracción están organizados en una jerarquía, con niveles más bajos implementados en hardware, y los niveles más altos en software. La clave para poder gestionar la complejidad en los sistemas informáticos es su división en niveles de abstracción separados por interfaces bien definidas.

Una máquina es una combinación del sistema operativo y aquellas partes del hardware accesibles a través de instrucciones binarias a nivel de usuario. La virtualización nos provee de una forma de reducir las limitaciones anteriores y a su vez incrementar la flexibilidad.

Cuando un sistema (o subsistema), e.j., un procesador, una memoria, o algún otro dispositivo es virtualizado, su interfaz y todos los recursos visibles a través de esta, son mapeados virtualmente junto con los recursos del sistema que lo están actualmente implementando.

Consecuentemente, el sistema real es transformado, para que aparente ser un sistema virtual diferente, o incluso un grupo de múltiples sistemas virtuales diferentes. Formalmente la virtualización involucra la construcción de un isomorfismo que mapea un sistema invitado virtual a un host real (Popek y Goldberg 1974).

El concepto de virtualización puede ser aplicado no solo a subsistemas como lo son los discos, sino también a una máquina entera. Una máquina virtual es implementada añadiendo una capa de software a una máquina real para poder soportar la arquitectura deseada de la máquina virtual.

OBJETIVOS

Crear un prototipo de cliente ligero que permita la interacción con máquinas virtuales remotas añadiendo recursos de GPU y gestionando su control con el uso de tarjetas de radio frecuencia. Para lograrlo es necesario

cumplir con un conjunto de objetivos más específicos:

- Buscar un framework para desplegar máquinas virtuales.
- Implementar el framework en el servidor del laboratorio de cómputo paralelo de la facultad de informática.
- Generar un almacenamiento compartido entre máquinas virtuales.
- Crear un programa que lea y autentifique a los usuarios que usen identificación de radiofrecuencia.
- Crear base de datos con la información de los usuarios.
- Crear una interfaz gráfica para el despliegue de la máquina virtual.

MÉTODOS Y MATERIALES

oVirt es una solución de virtualización distribuida de código abierto, diseñada para administrar el hipervisor KVM, se instaló el framework en el servidor Centzon que se encuentra en el "Laboratorio de Cómputo Paralelo" de la "Facultad de Informática" de la Universidad Autónoma de Querétaro" esto nos permitió desplegar máquinas virtuales con una interfaz de administración sencilla de usar. También oVirt nos ofrece una API que se puede usar con requests de Http y Https, las cuales nos va a permitir encender y apagar máquinas virtuales desde cualquier cliente que le haga la petición. Se instaló CentOS 7 Minimal 1810 y seguimos las instrucciones de la página web oficial de oVirt: https://ovirt.org/documentation/install-guide/Installation_Guide.html



Fig. 1. oVirt y su consola de administración en Centzon. Elaboración propia.

Nuestro siguiente reto es lograr que se pueda compartir datos entre máquinas virtuales para así ofrecer al usuario una experiencia de uso más fluida cuando el usuario cambie entre sistemas operativos.

Active Directory(AD) es una tecnología que combina varios protocolos como DNS, SAMBA, LDAP, Kerberos y DHCP que facilita la gestión de equipo y de usuarios en un solo lugar. En el servidor Huitzilopochtli se configuró este servicio, esto facilita que el usuario pueda iniciar sesión en cualquier máquina virtual sin importar en qué sistema operativo esté entrando.



Figura 2. oVirt y su consola de administración en Centzon. Elaboración propia.

Nuestro siguiente objetivo es empezar a crear el prototipo de cliente ligero, para poder leer las tarjetas de radiofrecuencia, conseguimos el módulo de MFRC522 y lo conectamos a un Raspberry Pi 3B+. Usamos la biblioteca de BCM2835, esta es una biblioteca C para Raspberry Pi (RPi). Proporciona acceso a GPIO y otras funciones de E / S en el chip Broadcom BCM 2835, como se usa en RaspberryPi, lo que permite el acceso a los pines GPIO en el enchufe IDE de 26 pines en la placa RPi para que pueda controlar e interactuar con varios dispositivos externos. Esta biblioteca proporciona funciones para leer entradas digitales y configurar salidas digitales por lo que la usaremos para acceder al módulo de MFRC522 y para poder identificar las tarjetas de radiofrecuencia se creó una clase en C++ que facilita la conexión con el módulo y consigue el ID de la tarjeta asíncronamente. Al momento de instanciar la

clase, se manda a ejecutar un hilo el cual ejecuta un ciclo que busca RFIDs disponibles e intente identificar.

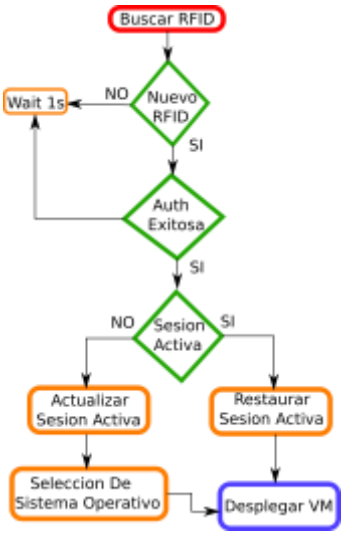


Figura 3. Flujo del hilo atendiendo peticiones de las tarjetas de RFID. Elaboración propia.

Ya creado el programa para leer las tarjetas de radiofrecuencia es necesario crear una base de datos que almacene los datos de los usuarios y los vincule a un ID de la tarjeta de radiofrecuencia. Para lograr esto vamos a usar una DB estructurada como MySQL que se encargará de analizar y almacenar las peticiones solicitadas por el usuario.

Del lado del servidor vamos a crear un servicio REST ("REpresentational State Transfer") que será el que responda las peticiones del cliente y las consulte en la base de datos, de esta forma reducimos el tamaño de los datos enviados.

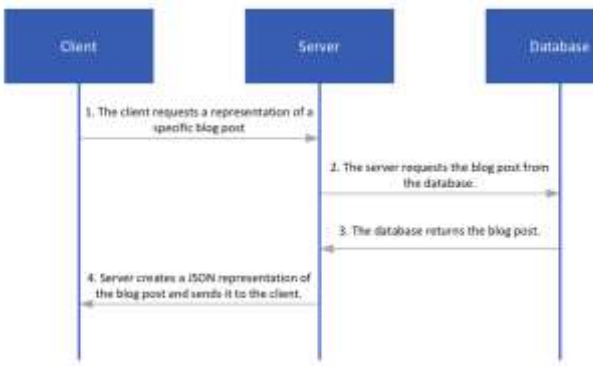


Figura 4. Modelo del servicio REST. LITTLE BOOK ON REST SERVICES by Kenneth Lange.

Para el despliegue de la interfaz gráfica se hizo uso del kit de herramientas de GTK, específicamente haciendo uso de la librería GTKmm (librería para el uso de gtk en c++), así como el uso de la herramienta para desarrollo de interfaces en GTK+ GLADE. Utilizando la interfaz de desarrollo de glade se genero el XML de cuatro vistas principales para la interfaz:

1. La pantalla principal con instrucciones de uso.
2. La pantalla de lectura para los sensores de radiofrecuencia.
3. La pantalla de autenticación.
4. El menú de selección de sistema operativo.

La pantalla principal es la ventana que se muestra en caso de que ningún usuario esté utilizando el equipo en ese momento, ya que, esta posee instrucciones para su correcta identificación, con el fin de ayudar al usuario a entender el uso básico del sistema. Cuenta con la instrucción sobre el uso de los sensores de radiofrecuencia en el sistema, una imagen, la cual, es el logo del proyecto, y un botón de ayuda, para mostrar las acciones que se pueden realizar dentro del sistema.



Figura 5. A la espera de RFID. Elaboración propia.

La pantalla de lectura para los sensores de radiofrecuencia es la encargada de notificar al usuario, mediante una instrucción en la parte superior de la interfaz, de que el sensor está en uso, siendo decodificado por el sistema, con el fin de realizar una búsqueda y verificación en la base de datos, para comprobar si el ID del sensor se encuentra registrado, de lo contrario el sistema notifica al usuario que el ID del sensor no se encuentra registrado, por lo que regresa a la pantalla principal ya que no se realizó un login adecuado.



Figura 6. Realizando peticiones al servidor REST. Elaboración propia.

La pantalla de autenticación se encarga de solicitar al usuario (una vez encontrado el ID de su sensor en la base de datos de usuarios registrados) que ingrese una contraseña previamente establecida, con el fin de verificar que es realmente la persona asignada la que está tratando de ingresar en el sistema. Posteriormente en caso de ingresar incorrectamente la contraseña, el sistema se bloquea, impidiendo que el usuario pueda volver a ingresar la contraseña por los próximos sesenta segundos. Posteriormente, al usuario se le permite volver a ingresar la contraseña una vez más, y en caso de volver a introducir una clave incorrecta, el sistema se bloquea por otros sesenta segundos, repitiendo este proceso hasta que el usuario logre colocar la contraseña correcta para poder ingresar al menú de selección de SOs, o retire el sensor, lo que lo devolverá a la pantalla principal.



Figura 7. Ingresando la clave de autenticación. Elaboración propia.

Una vez autenticado el usuario, este tendrá acceso a la interfaz de selección se SOs, esta le permitirá elegir tres opciones de sistemas operativos diferentes, los cuales al ser seleccionados mandaran una petición a través del protocolo SPICE, el cual devolverá un conjunto de pixeles que a continuación se verán desplegados en pantalla, mostrando de esta forma, el estado actual de la GUI del SO instalado en la máquina virtual, permitiendo reanudar las tareas efectuadas en el último momento en el que fue consultada. en caso de retirar el sensor, automáticamente se congelara la máquina virtual, regresando al usuario a la pantalla principal.



Figura 8. Selección de sistema operativo. Elaboración propia.

Materiales

Para elaborar de manera adecuada el proyecto que se realizó durante el verano, se usaron:

1. Servidor Coatlicue (@coatlicue.uaq.mx):
    a. Intel® Xeon® CPU E5-2630 v3 @ 2.40GHz 32 núcleos
    b. 64 GB de RAM DDR4
    c. NVIDIA, una GeForce GTX 1080 y Tesla K40c
    d. Sistema Operativo CentOS 7
    e. 2 TB de almacenamiento
2. Servidor Huitzilopochtli (Synology NAS DS1817) (@huitzil.pascal.uaq.mx):
    a. Tipos de unidades de almacenamiento admitidas: Unidad de disco duro, SSD.
    b. Interfaz de unidad de almacenamiento: M.2, SATA.
    c. Tamaño de la unidad de almacenamiento: 2.5/3.5".
    d. Frecuencia del procesador: 2,4 GHz.
    e. Familia de procesador: Intel® Atom™.
3. Raspberry Pi 3B+:
    a. Tipos de unidades de almacenamiento admitidas: Micro SD 16GB.
    b. Memoria: 1GB.
    c. Frecuencia del procesador: 1.4GHz.

d. Familia de procesador: ARMv8 64-bit.

RESULTADOS

Conseguimos combinar la interfaz gráfica con el programa que se encarga de analizar las tarjetas de radiofrecuencia, se pudo conectar el programa con el servidor REST y realizar una petición de despliegue de máquina virtual, faltan crear funciones para que restauren la sesión previa del usuario, como también crear un log de las máquinas virtuales usadas por los usuarios. Tuvimos problemas al hacer que el programa funcione durante un rato, ya que se desincroniza la información con el hilo que analiza las tarjetas de radiofrecuencia.



Figura 9. Video donde se muestra la combinación del módulo MFRC522 con GTK. Elaboración propia.
https://youtu.be/f1l-B2eAcFk

CONCLUSIONES

Este cliente prototipo de cliente ligero parece ser funcional, se desarrollo con lenguajes C, C++ y se sospecha que una parte de la visualización de la máquina virtual puede acelerarse con CUDA-C. Buscamos en un futuro poder probar esta teoría. También tenemos que buscar una forma más específica de poder cambiar los atributos de la ventana usando diferentes hilos sin que haya problemas de desincronización.

AGRADECIMIENTOS

¡Sin la Dra. Sandra Luz Canchola no sería posible este proyecto, muchas gracias de corazón maestra!

BIBLIOGRAFÍA

- Virtual Machines by James E. Smith, Ravi Nair. ISBN:1-55860-910-5
- Spice Protocol for dummies, https://www.spice-space.org/static/docs/spice_for_newbies.pdf
- oVirt Documentation and Installation https://www.ovirt.org/documentation/
- GTKMM Programming with gtkmm, Murray Cumming, Bernhard Rieder, https://papers.harvie.cz/unsorted/programming-with-gtkmm.pdf
- The Little Book on REST Services by Kenneth Lange. https://www.kennethlange.com/books/The-Little-Book-on-REST-Services.pdf
- Sanders, J., & Kandrot, E. (2010). CUDA by Example. Review Literature And Arts Of The Americas. https://doi.org/10.1073/pnas.1010880108/-/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/

7 ENCUENTRO
DE JÓVENES INVESTIGADORES
2019

IDEAS JÓVENES PARA IMPULSAR EL CRECIMIENTO DEL PAÍS

VI

Humanidades, Psicología y Educación

CONCYTEQ

Índice

Prevalencia de consumo de drogas en adolescentes de San Juan del Río, Qro.
Berenice Viridiana Banda Anaya, Pamela Garbus

Atención ejecutiva y consumo de tabaco en universitarios
Cecilia Montserrat Callejas Rojo, Daniela Flores Varela, Melisa Jiménez Hernández, Jesús Antonio Ramos García, Daniela Reséndiz Saldaña, Víctor Francisco Rojas Villegas, Cintli Carolina Carbajal Valenzuela

Violencia estructural y Derechos Humanos de los migrantes
María Magdalena Castro Alvarado, José Alberto Posadas Juárez

Innovación de un instrumento para evaluar el diseño e implementación de una oferta de educación continua en modalidad a distancia
María De Guadalupe Godorníz González, Anahí Isabel Arellano Vega

Prevalencia de conducta suicida adolescente y sus características
Karla Sugey González Zamora, Pamela Garbus

Marcadores, animacidad y orden de palabras en japonés como L2
Ana Sofía Márquez Valencia, Brenda Vargas Vega

Concientización en Facebook sobre la problemática actual del agua
Dulce Aidee Barraza González, Claudia Marlen Hernández Soto, Jimena Guadalupe Martínez Alvarado, Andrea Nisa Olvera Hernández, Jatziri Santos Moreno, Evelyn Diez-Martínez

¿Cómo se forman las actitudes democráticas?
María Concepción Padilla González, Héctor Gutiérrez Sánchez

Concientización sobre calidad del aire a través de Facebook
Andrea Constanza Castañeda Gutiérrez, Ana Cecilia Pacheco Quevedo, Karina Lizet Carrillo Matamoros, Gabriela Itaí Mauricio Ledesma, Lucía Benítez Compagny, Belén Pérez Espinosa, Verónica Jacqueline Cruz Villegas, Evelyn Diez-Martínez-Day

Impacto de Facebook al brindar información del calentamiento global
Lucero Cabrera Reséndiz, Iryanely Lizbeth Cortés Sánchez, Diana Laura García Martínez, Mariana Pineda Muñoz, Eliazar Iván Rico Cárdenas, Evelyn Diez-Martinez Day

Prevalencia de sintomatología depresiva en adolescentes
Ana Lucero Rangel Amado, Pamela Garbus

La ironía del cerebro adolescente: un estudio electrofisiológico
Josué Romero Turrubiates, Lucero Díaz Calzada, Silvia Ruiz Tovar, Hugo Corona Hernández, Gloria Nélida Avecilla Ramírez, Karina Hess Zimmermann

La interdisciplinariedad: Una oportunidad de enseñanza en telesecundaria
Felipe de Jesús Santiago Flores, M. Erika García Torres, Melissa Calderón Carrillo

¿Ironía para qué? Reflexiones metapragmáticas en adolescentes
Andrea Minerva Silva López, Karina Hess Zimmermann, Graciela Fernández Ruiz

Efectos subjetivos en niñas y niños con un familiar desaparecido
Luis David Soriano Herrera, Luis Fernando Rodríguez Lanuza

Reducción de Residuos: Impacto de un curso universitarios
Alexia Paulina Soto Díaz, Maricela Hernández Mandujano, Ariadna Perales Soto, Mónica González Márquez, Jocelyn Cárdenas Mosqueda, Ethan López, Evelyn Diez-Martínez

Expectativas de inclusión laboral en jóvenes de escuelas técnicas
Irving Said Vázquez Huerta, Rolando Javier Salinas García

¿Escuchar música interfiere en la comprensión lectora?
Luis Ignacio Vega Barrios, Josué Romero Turrubiates, Gloria Nélida Avecilla Ramírez

La diversificación de actividades de matemáticas en un aula multigrado
Gabriela Zepeda Padilla, Erika García Torres

Prevalencia de consumo drogas en adolescentes de San Juan del Río, Qro.[i]

Autor: Berenice Viridiana Banda Anaya, Asesor: Pamela Garbus *
Coordinadora de la MSMIA-UAQ, msmia@uaq.mx

Resumen

El consumo de alcohol, tabaco y drogas se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial. Los programas de intervención en San Juan del Río, Querétaro tratan de hacer frente a estas dificultades, sin embargo tales programas no están basados en datos epidemiológicos de esta población. Esta investigación se realizó en el marco de la MSMIA, con apoyo becario del sistema FOFI y con apoyo de rectoría de la UAQ, y se trata de un estudio epidemiológico con una muestra representativa de 992 alumnos de nivel secundaria que contestaron un cuestionario autoaplicable utilizado en diversos estudios a nivel nacional, el cual contiene varias escalas incluyendo las de consumo de sustancias. El objetivo fue determinar la prevalencia del consumo de alcohol, tabaco y otras drogas en esta población, además de comparar y correlacionar tales prevalencias con algunos factores asociados al consumo. La prevalencia de consumo de por lo menos una sustancia es de 63.3%. De estos el 58.3% han consumido alcohol, 22.2% han consumido tabaco, seguido por inhalables con 14.9%, para marihuana es un 13% y dejando a otras drogas con un porcentaje menor a 5%. En cuanto a las relaciones con factores psicológicos se encontró una relación significativa entre los puntajes superiores de impulsividad y el consumo de casi todas las drogas, así como también entre un autocontrol asociado a la suerte con el consumo de la mayoría de drogas, y de factores psicosociales se encontró que la relación con los padres es la más significativa.

Palabras clave: Prevalencia, alcohol, tabaco, drogas, correlación.

Summary

The consumption of alcohol, tobacco and drugs has become a public health problem worldwide. The intervention programs in San Juan del Río, Querétaro try to deal with these difficulties, however, such programs are not based on epidemiological data of this population. This research was carried out as in the framework of the MSMIA, with grant support from the FOFI system and with rectory support from the UAQ, and it is an epidemiological study with a representative sample of 992 secondary level students who answered a self-applied questionnaire used in various studies nationwide, which contains several scales including substance use. The objective was to determine the prevalence of alcohol, tobacco and other drugs in this population, in addition to comparing and correlating these prevalences with some factors associated with consumption. The prevalence of consumption of at least one substance is 63.3%. Of these 58.3% have consumed alcohol, 22.2% have used tobacco, followed by inhalants with 14.9%, for marijuana it is 13% and leaving other drugs with a percentage less than 5%. Regarding the relationships with psychological factors, a significant relationship was found between the superior impulsiveness scores and the consumption of almost all drugs, as well as between a self-control associated with luck with the consumption of most drugs, and factors Psychosocial was found that the relationship with parents is the most significant. Keywords: Prevalence, alcohol, tobacco, drugs, correlation.

Introducción

Datos de la OMS (2015) indican que el consumo de alcohol, tabaco y drogas ilegales y sus complicaciones, constituyen una gran carga para la salud pública a nivel mundial, ejemplos de ello es que se le deben el 1.5% de la carga de enfermedades, además de que se les atribuye a las drogas inyectables en un 30% las nuevas infecciones de VIH, hepatitis B y C, además de que el consumo de drogas se relaciona directamente con 450,000 muertes al año con el consumo de sustancias.

Fortalecer la capacidad de respuesta a los problemas de salud pública y proporcionar el apoyo técnico requerido relacionado con el consumo de alcohol, tabaco y drogas, son tareas importantes que debe llevar a cabo la OMS, ya que si no se da la prioridad adecuada a las medidas de salud pública y se adoptan medidas urgentes, la mortalidad, y enfermedades

relacionadas y discapacidad relacionadas con las drogas y el impacto en el bienestar seguirán siendo un importante problema mundial de salud pública (OMS 2016).

El informe sobre la Situación Mundial del consumo de Alcohol y Salud 2014 de la OMS refiere que las prevalencias más altas de la población entre 15 y 19 años para consumo en el último mes las registraron: América con una prevalencia de 52.7%, Europa con 69.5% y el pacifico Occidental con un 37.5%, presentando porcentajes por arriba del promedio mundial que es de 34.1%. Según el mismo informe en 2012, el 5.9% del total de muertes a nivel mundial (3.3 millones) se debieron a consumo de esta sustancia.

El Observatorio Interamericano de Drogas de la OEA (OID, 2015) da cuenta de que el consumo de tabaco es muy variado en el continente, desde una prevalencia de 1.8% en Antigua y Barbuda hasta un 24% en Chile. En cuanto a la distribución por zonas se puede saber que Sudamérica tiene la mayor prevalencia con 13.5%, y la más baja es en la región del caribe con 5.1%. Se encontró que en la mayoría de los países fueron los hombres los que tuvieron mayores prevalencias que las mujeres; siendo solo diferente en Uruguay, Chile y Antigua y Barbuda, donde el consumo femenino fue mayor en comparación con los hombres.

Según el informe Mundial sobre Drogas 2017 (UNODC) estima que alrededor de 250 millones de personas entre 15 y 65 años de edad han utilizado alguna droga ilícita al menos una vez en el año 2015 y que cerca de 29.5 millones de estos consumidores padece algún trastorno por causa del uso de drogas. El informe también dice que la sustancia más consumida es la marihuana, con una prevalencia de 3.8% en el último año, lo cual equivale a 183 millones de personas en el mundo, seguida de las anfetaminas y estimulantes de tipo anfetamínico, los opioides se consumieron por 35 millones de personas y las drogas inyectables las utilizaron 12 millones de personas

México cuenta con un Observatorio Nacional de Tabaco, Alcohol y Otras Drogas (OMEXTAD) que mantiene al tanto de las prevalencias a nivel nacional y en la Encuesta Nacional de Adicciones (2011) mostró un aumento significativo entre los años 2002 y 2011 en las prevalencias de consumo de alcohol alguna vez en la vida (64.9% a 71.3%), en el último año (46.3% a 51.4%) y en el último mes (19.2% a 31.6%), siendo esta última la que presentó el mayor crecimiento.

En 2011 la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA) encontró un 21.7% de fumadores activos (17.3 millones), 31.4% fueron hombres y 12.6% mujeres. El 8.9% de la población de entre 12 y 65 años reportó ser fumador diario (7.1 millones). En los adultos, la edad de inicio promedio del consumo diario de tabaco se encontró en 20.6 años, en los hombres fue de 20.1 años, mientras que en las mujeres fue de 21.9 años.

En adolescentes de 12 a 17 años, la encuesta encontró una prevalencia de fumadores en el último año de 12.3%, correspondiente a 1.7 millones de personas, el 16.4% hombres y el 8.1% mujeres. Este porcentaje se constituyó en su mayoría por fumadores ocasionales (10.4%), aquellos que han fumado en el último año, pero que no fuman diario, y 2% de fumadores diarios. Con relación al 2002, en la población total el consumo en el último año en esta población pasó de 9.0% a 12.3%, solo en el caso de las mujeres el aumento fue estadísticamente significativo (de 3.7% a 8.1%).

La ENCODE (2014) revela que la prevalencia alguna vez de consumo de cualquier droga en los estudiantes de secundaria y bachillerato es de 18.6% para los hombres y de 15.9% para las mujeres, de manera que la prevalencia total de consumo es de 17.2%. En tanto, el consumo en el último mes es de 7.6% para los hombres y de 5.8% para las mujeres. En particular, en los hombres la prevalencia total cambia del 12.8% en secundaria al 28.4% en el bachillerato. Para las mujeres, el cambio es del 12.1% al 21.9%.

A nivel regional se cuentan con pocos datos al respecto del consumo de alcohol, tabaco y drogas, a pesar de que se llevan a cabo encuestas nacionales, al ser una región de un consumo promedio no se tiene en la mira para la realización de más estudios, sin embargo se cuentan con datos de la ENCODE (2014), con una prevalencia de consumo de alcohol alguna vez en la vida de 41.1% en total, de esto el 43.5% es para los hombres y 38.5% corresponde a las mujeres de nivel secundaria.

En cuanto al consumo de tabaco, Querétaro muestra una prevalencia mayor al promedio nacional en la población de primaria con un 11.1%, siendo de 6.5% el valor general del país y bachillerato con un 35.4%, seguido por Tlaxcala con un 34.8%, siendo los estados con mayor consumo a nivel nacional de esta población.

Igualmente para la población de niños de primaria el consumo en el último mes Querétaro muestra una prevalencia mayor a la nacional (2.5%) con un 4.9%, seguido de Quintana Roo con un 5.4%.

Existe un estudio reciente (Meza-de-Luna 2018) que habla sobre el consumo de alcohol en estudiantes de bachillerato de San Juan del Río, Qro. en el cual se muestra una prevalencia muy alta de consumo de alcohol en las modalidades de consumo en algún momento de su vida de 85.3%, en cuanto al consumo en el último año una prevalencia de 82.3% y en el último mes un consumo de 38.3% de los adolescentes. En el último año el 64.1% de los adolescentes han tenido un alto consumo de alcohol con seis copas o más y el 20.7% está en una situación de consumo de riesgo. El promedio de edad de primer consumo fue de 13.03 años.

En cuanto a las consecuencias por el consumo de alcohol en estudiantes de bachillerato de San Juan del Río, Qro. se encontró que el 22.2% en el último mes se había subido a un vehículo automotor que era consumido por alguien alcoholizado, y el 12.5% han tenido algún accidente vehicular donde participó alguna persona alcoholizada. Los estragos sociales relacionados con el consumo que se encontraron fueron que el 15% de los adolescentes sostienen peleas con su madre después de alcoholizarse, seguido por el 13.1% los que tienen problemas con su novio(a) y el 12.4% con su padre (Meza-de-Luna 2018).

Objetivo general

Identificar la prevalencia de consumo alguna vez en la vida y en el último mes de alcohol, tabaco, marihuana, inhalables, cocaína, crack o piedra y tachas en estudiantes de secundaria en San Juan del Río, Qro del ciclo escolar 2018-2019 y su relación con factores psicológicos y psicosociales.

Objetivos específicos

1. Identificar la prevalencia de consumo alguna vez en la vida y en el último mes de alcohol, tabaco, marihuana, inhalables, cocaína, crack o piedra y tachas.

2. Identificar la prevalencia de consumo de alcohol, tabaco y drogas alguna vez en la vida y en el último mes por nivel de marginación y tipo de escuela alguna ven en la vida.

3. Identificar, describir y analizar la relación existente entre consumo de alcohol, tabaco y drogas con aspectos psicológicos: autoestima, impulsividad, locus de control, sintomatología depresiva, ideación e intento suicida y respuesta de enfrentamiento ante estresores familiares

4. Identificar, describir y analizar la relación existente entre consumo de alcohol, tabaco y drogas ilegales con aspectos psicosociales: factores psicosociales, relación con padre y madre, recursos de apoyo y estrés cotidiano social

Metodología

Se trata de un estudio epidemiológico, el cual cuenta con un enfoque cuantitativo y de corte transversal, cuyo diseño y alcance es exploratorio, descriptivo y correlacional.

La población del estudio fueron adolescentes que se encuentran cursando secundarias públicas de San Juan del Río, Qro. El universo constaba de un total de 13,371 estudiantes.

USEBEQ brindo el apoyo necesario para poder acercarnos a esta población, ya que proporcionó los datos para la elaboración de la muestra y los permisos para ingresar a las escuelas con el fin de cumplir con los objetivos de este estudio.

La muestra fue estratificada y bietápica por conglomerados, la variable de estratificación fue nivel de marginación de la zona en la que se encuentra la escuela y el tipo de escuela. La primera etapa fue para la selección de las escuelas y, la segunda, los grupos de estudiantes dentro de ellas.

La muestra fue calculada con un margen de error de 3% y una confiabilidad del 95% a través de STATA.

El número de participantes requerido fue de 992 adolescentes hombres y mujeres de 12 a 16 años de edad pertenecientes a escuelas generales, técnicas y telesecundarias de diferentes comunidades de San Juan del Río, Querétaro y cuyo nivel de marginación comprendía bajo, medio, alto y muy alto.

Instrumento

Se trabajó con un cuestionario autoaplicable y anónimo, el cual se administró a una muestra representativa de adolescentes que se encontraban cursando el nivel secundaria en San Juan del Río, Qro. El instrumento, Cuestionario de Indicadores Psicosociales para Depresión y Riesgo Suicida (CIP-DERS) construido por Catalina González-Forteza y colaboradores (2017), está validado y estandarizado para la población mexicana.

Procedimiento

El diseño operativo de la encuesta estuvo conformado por un equipo de estudiantes de licenciatura y compañeros de la maestría en Educación para la Ciudadanía de la UAQ, así como compañeros de nuestra maestría de otra generación. Se contó con el apoyo de la directora de la presente tesis y se nos fue facilitada la camioneta de la facultad de Psicología.

Se diseñó la muestra en dos etapas: en primer lugar, se seleccionó al azar las escuelas en las que se aplicó el instrumento y después, los grupos dentro de ellas.

Se llevó a cabo una reunión informativa con los directores de las secundarias públicas de San Juan del Río seleccionadas, con el fin de dar a conocer el modo de trabajo y el objetivo de este estudio.

Posteriormente se proporcionó a las escuelas seleccionadas para participar, el consentimiento informado para que fuera entregado a los padres de los estudiantes de los grupos seleccionados el cual firmaron al menos uno de los padres del estudiante.

El día de la aplicación del instrumento se aplicó el cuestionario a todo el grupo seleccionado siempre que hubiesen presentado su consentimiento informado firmado por sus padres. Si algunos integrantes del grupo no lo presentaban ese día, se pospondría la aplicación en una próxima visita hasta cumplir la cuota. El consentimiento informado no está relacionado de ninguna forma con el instrumento que se aplicó al estudiante, de esta manera se garantizó el anonimato de los participantes.

Posterior a la aplicación se codificaron los instrumentos en una base de datos que nos fue supervisada por investigadores del Instituto Nacional de Psiquiatría, y posteriormente se hizo una depuración de los cuestionarios que se consideraron inválidos por incongruencia y escalas en blanco. Los instrumentos se archivaron en un espacio seguro y al cuidado necesario.

Resultados

Se encontró que el 3.4% de los adolescentes encuestados dicen haber consumido más de 3 drogas distintas, y 63.3% reportan haber consumido al menos una droga en su vida. Las drogas que se consumieron más fueron el alcohol con 58.3% y tabaco con 22.2%, seguidas por inhalables con 14.9% y marihuana con 13% (Ilustración 1).

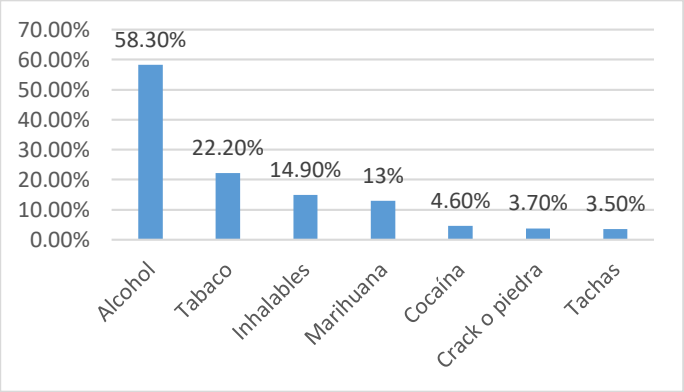


Ilustración 1Prevalencia de consumo de Drogas en adolescentes de San Juan del Río

La edad promedio de comienzo de consumo para el alcohol es de 11.16 años de edad, para tabaco de 11.94 años de edad, de inhalables es de 11.37 años de edad y para marihuana es de 11.97 años de edad, subiendo el promedio de edad para otras drogas. Las desviaciones estándar más grandes se encuentran en crack o piedra con 3.1, manteniéndose estable en las demás entre 1.6 y 2.1.

En la diferencia por sexo, se observa que la edad promedio de primer consumo los hombres comienzan

el consumo antes para casi todas las drogas; sin embargo son ellas las que han consumido en mayores porcentajes como lo muestra la Tabla 9.
Las desviaciones estándar se encuentran entre 1.6 para los consumidores de cocaína y 3.1 para los consumidores de crack o piedra. Se mostró una diferencia significativa entre hombres y mujeres solo en las prevalencia de consumo de marihuana de < .01 y para tabaco < .05, en las demás sustancias no se encuentra ninguna diferencia.

Se ha registrado que el 1.4% de los adolescentes encuestados han consumido por lo menos tres drogas en el último mes. En general se observa que en el último mes la opción de "te emborrachaste" es de un 18.2%, el consumo de tabaco es de 16.6%, de Inhalables de 6%, el consumo de marihuana es de 9.8%, de cocaína un 3.6%, de crack o piedra es de un 2.5% y el de tachas 2.9% y en consumo.
El consumo de alcohol sigue siendo el que encabeza la lista para la opción en el cuestionario "pocas veces" con 14.7%, y con la opción "bastantes veces" con un 5.5%, seguido del consumo de tabaco y marihuana, pero se muestra un cambio en la opción "casi todos los días" en donde el tabaco es el que tiene un mayor porcentaje de prevalencia de consumo con un 2.5%, seguido por la marihuana con 2.1% y dejando atrás al alcohol que presenta un 1.3%.

El consumo de sustancias en los diferentes tipos de escuelas secundarias se distribuyen de una forma muy parecida, ya que del total de los que han consumido alcohol en las secundarias generales es del 59%, mientras que en las técnicas se muestra un 56.2% y en las telesecundarias es un 57%, siendo no significativa esta diferencia pues se encuentra un valor p >.05, así también para las demás sustancias muestran una un valor p correlación >.05.
Se encontró que el alcohol y el tabaco tiene una relación significativa de P=<.05 con el consumo de casi todo el resto de las demás drogas, además de que en todas ellas el tabaco y las drogas son predictores de consumo con un Exponente B mayor a 1 (OR>1), lo cual indica que presentando ese factor es más probable que el otro factor aparezca, por lo tanto hasta cierto grado se vuelve predecible.

Se encontró que la relación del consumo de sustancias se ha asociado a diferentes factores psicológicos y psicosociales y se encontró que en cuanto a la relación de consumo en el "último mes" el factor "relación con madre" muestra una correlación significativa para todas las sustancias, seguida por la impulsividad que se relaciona de forma muy significativa con cinco de siete sustancias estudiadas, además de que presentan un factor B (OR>1) lo cual indica cierta predicción
En cuanto a las correlaciones de factores psicológicos y psicosociales con el consumo "alguna vez en la vida" de siete sustancias estudiadas se encuentra que los factores que más se relacionan al consumo son impulsividad, relación con su madre y autoestima.
Por medio de la regresión logística también se pudo correlacionar el consumo entre sustancias, encontrando una relación significativa entre el consumo de tabaco y el de alcohol de un valor de p < .01 y un coeficiente predictivo de OR=14.5, lo cual indica que es más probable que tomar alcohol desencadene fumar y viceversa. También se encontró una correlación de valor de p <.05 con Marihuana y un valor predictivo de OR=6.16. La impulsividad elevada predice el consumo de alcohol en un coeficiente de OR=16.74.
En cuanto al consumo de tabaco, el consumo de marihuana predice ampliamente su empleo con un coeficiente de OR=55.99, seguido del consumo de alcohol y de la baja autoestima con un coeficiente de OR=20.98 y OR=10.80 respectivamente, además de sintomatología depresiva con un coeficiente de OR=7.63, todos con un valor de p<a.05.
Para inhalables se encontró como factor predictivo el consumo de marihuana y la sintomatología depresiva con un coeficiente de OR=63.88 y OR=37.28 respectivamente. Para marihuana el resultado predictivo está presente en el consumo de tabaco con un coeficiente de OR=106 y una correlación significativa de un valor p<.01.
Las correlaciones y predicciones más probables del consumo de drogas con aspectos y factores que rodean al adolescente permite tratar de entender este espectro de la relación que se puede tener con el mundo de las drogas, es necesario seguir tomando en cuenta lo encontrado en este estudio y seguir analizándolos a fondo.

Discusión y conclusiones

El objetivo de esta investigación fue dar a conocer la prevalencia de consumo de alcohol, tabaco y drogas en estudiantes de secundarias de San Juan del Río, Qro. y sus características. El dato más relevante es que el 63.3% de los estudiantes de secundaria ya han consumido por lo menos alguna droga en su vida. De estos el 58.3% han consumido alcohol, el 22.2% han consumido tabaco, seguido por inhalables con 14.9%, para marihuana es un 13% y dejando a otras drogas con un porcentaje menor a 5%.

Alcohol

La prevalencia de consumo de alcohol alguna vez en la vida es de 58.3%, que está por encima de la prevalencia nacional de 39.8% (ENCODE 2014), y también por encima de la estatal que es de 41.1% para la población adolescente, sin embargo se mantiene por debajo de la prevalencia para la población en general de todas las edades del país de 71.7%. En consumo de alcohol en el último mes (21%) es también superior a la prevalencia nacional (16.1%) para la población adolescente según la ENCODE (2014).

El estado de Querétaro cuenta con características de crecimiento poblacional que avanza con pasos constantes siendo el tercer lugar a nivel nacional con una tasa de crecimiento del 2.4% y el municipio de San Juan del Río a su vez cuenta con un crecimiento anual de 2.2%, llegando a duplicarse la población en un periodo de 30 años según datos de la COESPO (2017).

San Juan del Río en un periodo de 25 años ha pasado de ser una población con actividad económica agropecuaria a ser una población ocupada entre la industria, los servicios y el comercio. Tales características generan un ambiente parecido a las ciudades con mayor consumo de alcohol en el país, como lo son Guadalajara, Ecatepec y Cuautla en las modalidades de consumo alguna vez en la vida, y Acapulco, Cancun-Playa del Carmen y Tijuana para consumo en el último mes (ENCODE 2014).

En diversos trabajos de investigación se ha comprobado que las expectativas positivas del consumo de alcohol están ya presentes en los niños, antes incluso de que tengan su primera experiencia de consumo de alcohol, y que tales expectativas se van incrementando con la edad hasta llegar a la adolescencia (Dunn y Goldman, 2000; Hipwell et al., 2005). A este respecto, Hampson, Andrews, Barckley y Severson (2006) comprueban que conforme los niños crecen, van desarrollando impresiones más positivas del consumo de alcohol, creencias acerca de que es normal beber en la adolescencia (Pons 2011). Siendo una de las explicaciones para la prevalencia de consumo y de la edad prematura de consumo en San Juan del Río, posteriormente en la adolescencia las expectativas positivas hacia el alcohol predicen el consumo, reafirmándolo con las primeras experiencias o incluso el abuso en la ingesta (Pons y Berjano, 1999; Randolph, Gerend y Miller, 2006; Zamboaga, 2005).

Las expectativas de gratificación en los adolescentes que han consumido se fortalecen entonces con su propia experiencia de consumo, ya que esto les permite conocer un mundo que hasta el momento solo se especulaba, tales gratificaciones pueden ser los tipos de relaciones sociales que el alcohol le permiten y las convivencias que se generan de esta práctica (Allen, 2003).

En cuanto a la relación del consumo de alcohol con factores psicológicos y psicosociales se encontró que la impulsividad es el factor psicológico más significativo ($< .01$), seguido del locus de suerte ($<.05$), esto se puede explicar a que el consumo de alcohol se asocia según Bousoño (et al 2019) principalmente a factores externalizantes como lo son el locus de suerte, el cual atribuye la fatalidad, los hechos desfavorables o el logro de objetivos a la suerte, dejando los sucesos preocupantes o complicados en un sitio que aparentemente no puede controlar el consumidor.

Entre los factores psicosociales relacionados al consumo de alcohol se halló en este estudio que la relación con padre y madre son los más significativos ($< .05$), encontrado también en otros

estudios (Rodríguez et al 2018), en donde entre más negativa es la relación con los padres existe más consumo, asociado también al factor de recursos de apoyo, el cual también se registró significativamente negativo (< .05).

Con ayuda de las correlaciones se puede entender que los adolescentes consumidores son impulsivos y tienden a tomar riesgos que ponen en peligro su bienestar, que dejan a la suerte o al destino muchas de sus decisiones, y que además perciben una mala relación con sus padres; sin saber realmente que parte es la que origina la mala relación, si los padres, o las acciones de los hijos, pudiendo tomar este factor en cuenta para el desarrollo de programas que fortalezcan tales lazos, y que puedan prevenir quizá el consumo excesivo en los adolescentes.

Tabaco

Encontramos que la prevalencia de consumo de tabaco en San Juan del Río es de 22.2%, quedando por debajo del promedio nacional de 42.8% que reportó la Encuesta de Tabaquismo en Jóvenes México (Reynales-Shigematsu LM, Rodríguez-Bolaños R, Ortega-Ceballos P, Flores Escartín MG, Lazcano-Ponce E, Hernández-Ávila M. 2011), siendo el 24.4% del total de hombres y el 20% de mujeres.

Para consumo en el último mes se encontró en este estudio que el 17% de los estudiantes fumaron, siendo un porcentaje mayor a los encontrados a nivel nacional con un 14.6% reportado en la Encuesta de Tabaquismo en Jóvenes (Reynales-Shigematsu LM, et al 2011), siendo incluso más altas que las prevalencias en ciudades con mayor consumo alguna vez, como Zacatecas, León y Durango, que también presentan porcentajes altos en consumo del último mes, dato que sería importante estudiar a fondo, ya que es peculiar, ya que parece indicar que son relativamente pocos lo que comienzan a fumar, sin embargo se convierten en fumadores regulares la mayoría de ellos, resultando una prevalencia de 2.8% los que fuman casi a diario.

Datos de la ENCODE (2014) indican que Querétaro (sin tener datos previos para San Juan del Río) tiene un consumo de tabaco en bachillerato por encima de la media nacional, lo que puede explicar que en la secundaria es donde comienzan a ser regular su consumo hasta llegar a fumar cada vez más. Esto puede ayudar a enfocarse en la información preventiva en secundaria.

En cuanto a la relación con factores psicológicos y psicosociales se encontró en este estudio que existe una relación estadística muy significativa con impulsividad, seguido de autoestima para factores psicológicos, y con la relación con la madre en datos psicosociales, y esto puede comenzar a explicarse sabiendo que al tabaco se le considera como una drogas de inicio, entonces se asocia a riesgos que van desde el consumo de drogas ilícitas, adicciones, accidentes, dificultades interpersonales, deserción escolar y enfermedades (Alvarez-Aguirre; Alonso-Castillo; Guidorizzi 2014).

Drogas

Se encontró que el 14.7% de los estudiantes de secundaria de San Juan del Río han consumido por lo menos una droga ilegal en su vida, prevalencia menor a la nacional que es de 17.2%(ENCODE 2014) y se encontró que el 1.5% del total de adolescentes han consumido hasta 5 drogas ilegales.

Existe una diferencia nacional con respecto al consumo de inhalables en los encuestados en San Juan del Río, ya que las encuestas nacionales muestran porcentajes más altos en el consumo de marihuana, además sigue aumentando.

Las prevalencias de consumo más bajas de cualquier droga ilícita en hombres y mujeres estudiantes de secundaria se encontraron en Tijuana (6.3% y 6.1%, respectivamente), y las prevalencias más altas fueron en la Ciudad de México, (cerca de un 11%) sin embargo estas cifras están por debajo de lo encontrado en esta investigación (ENCODE 2014).

Con respecto al uso de inhalables, en el continente se encontró gran variabilidad en las prevalencias de

consumo en el último año (entre 0.5% y 11%). Honduras, Perú y República Dominicana tienen prevalencias inferiores a 1.5%. Los países del Caribe presentan las mayores prevalencias de uso de inhalables entre los estudiantes. A diferencia de la mariguana, el consumo de inhalables no siempre es mayor en hombres de todos los países; en Antigua y Barbuda el consumo de inhalables en mujeres duplica al de los hombres. El uso de esta sustancia tiende al aumento gradual en Chile y Argentina, mientras que en Uruguay y Perú se mantuvo estable. En Estados Unidos se ha observado una tendencia a la baja desde 1995, datos que es importante tomar en cuenta con respecto a esta investigación, pues se encontró una prevalencia de 14.9% para el consumo alguna vez en la vida, sin embargo no contamos con la variable de consumo en el último año, por lo tanto no es posible comparar

Al observar los datos a nivel estatal, encontramos que del consumo de cualquier droga, los estados con las prevalencias totales significativamente mayores al promedio nacional que es de 17.2%, son Ciudad de México (25%), Quintana Roo (22%), Estado de México (21.1%), Jalisco (20.1%) y Chihuahua (19.8%), dejando por abajo el promedio en San Juan del Río del 14.7%.

Los datos del informe 2015 del Observatorio Interamericano de Drogas, señalan que la prevalencia en el último año de mariguana en secundaria y bachillerato de México, es menor que la de Estados Unidos, Canadá, Belice, Costa Rica, Argentina, Chile y Uruguay; pero mayor que otros países como Honduras, el Salvador, Panamá, Brasil, etc. Con respecto al consumo de cocaína, el consumo es menor al de Canadá, Chile, Argentina y Colombia y Uruguay, pero similar al de Estados Unidos y mayor al de Costa Rica, Honduras, Perú y Paraguay, entre otros.

En cuanto al consumo de inhalables, México es la segunda prevalencia más alta, junto con Estados Unidos, en América Central. Por su parte, Brasil y Chile presentan una prevalencia mayor de consumo en esta sustancia en comparación con México.

En secundaria los estudiantes de Acapulco y de Cancún y Playa del Carmen superan el valor nacional de consumo de crack y los estudiantes de Guadalajara superan la de consumo de cualquier droga y del consumo de mariguana e inhalables. Cuautla está también por arriba en la prevalencia de consumo alguna vez de cualquier droga.

Referencias bibliográficas

Alvarez-Aguirre, Alicia, Alonso-Castillo, María Magdalena, & Zanetti, Ana Carolina Guidorizzi. (2014). Factores predictivos del uso de alcohol y tabaco en los adolescentes. Revista Latino-Americana de Enfermagem, 22(6), 1056-1062. https://dx.doi.org/10.1590/0104-1169.3570.2516

Aguilar-Gaxiola, S. & Deeb-Sossa, N. (2009). La investigación en epidemiología psiquiátrica y la encuesta mundial de salud mental de la organización mundial de la salud en américa latina y el caribe. En Rodriguez, J., Khon, R., Aguilar-Gaxiola, S. Epidemiología de los trastornos mentales en América Latina y el Caribe. OPS. Recuperado de http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/166275/1/9789275316320.pdf?ua=11

COESPO. (2017) Información demográfica municipal San Juan del Río. Consejo Estatal de la Población. https://gobqro.gob.mx/coespo/wp-content/uploads/2016/01/16-San-Juan-del-Ri%CC%81o.pdf

CONAPO. (2017). Proyecciones de la población 2010-2050. Datos de proyecciones para localidades de México. Recuperado de http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Proyecciones_Datos

Encuesta Nacional de Consumo de Drogas en Estudiantes 2014: Resultados de Querétaro. México: INPRFM, 2015 http://www.conadic.salud.gob.mx/pdfs/investigacion/ENCODE_DROGAS_2014.pdf

González-Forteza, C., Hermosillo, A. E., Vacio, M. A., Peralta, R. & Wagner , A. (2015). Depresión en adolescentes. Un problema oculto para la salud pública y la práctica clínica. Boletín Médico del Hospital Infantil de México. 2(72), 149-155. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.bmhimx.2015.05.006

González-Forteza, C., Juárez, C. E., Montejo, L. A., Oseguera, G., Wagner, F. A. & Jiménez, A. (2015). Ideación suicida y su asociación con drogas, depresión e impulsividad en una muestra representantiva de estudiantes de secundaria del estado de Campeche, México. Acta Universitaria Multidisciplinary Scientific Journal. 25(2), 29-34. doi:10.15174/au.2015.862

Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz; Instituto Nacional de Salud Pública; Secretaría de Salud. Encuesta

Nacional de Adicciones 2011: Reporte de Alcohol. Medina-Mora ME, Villatoro-Velázquez JA, Fleiz-Bautista C, Téllez-Rojo MM, Mendoza-Alvarado R, Romero-Martínez M, Gutiérrez-Reyes JP, Castro-Tinoco M, Hernández-Ávila M, Tena-Tamayo C, Alvear-Sevilla C y Guisa-Cruz V. México DF, México: INPRFM; 2012. Disponible en: www.inprf.gob.mx, www.conadic.gob.mx, www.cenadic.salud.gob.mx, www.insp.mx

OMS. (2012). Guía de intervención mhGAP para los trastornos mentales, neurológicas y por uso de sustancias en el nivel de atención de la salud no especializada. Organización Mundial de la Salud, 2ª edición. Recuperado de http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44498/1/9789243548067_spa.pdf

OMS. (2019) Informe Mundial de Drogas 2018: crisis de opioides, abuso de medicamentos y niveles récord de opio y cocaína. Organización Mundial de la Salud. Recuperado de https://www.unodc.org/wdr2018/index.html

OMS. (2013). Proyecto de Plan de Acción Integral sobre Salud Mental 2013-2020. Informe de la Secretaría. Consejo Ejecutivo 132.a reunión http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/97488/1/9789243506029_spa.pdf

OMS. (2014). La salud de los adolescentes del mundo. Recuperado de http://apps.who.int/adolescent/second-decade/files/WHO_FWC_MCA_14.05_spa.pdf

OMS. (2016). Adolescentes: riesgos para la salud y soluciones. Recuperado de http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs345/es/

OMS. (2017). Desarrollo en la adolescencia. Recuperado de http://www.who.int/maternal_child_adolescent/topics/adolescence/dev/es/

OMS. (2017). Salud Mental: Un estado de bienestar. OMS. Recuperado de http://www.who.int/features/factfiles/mental_health/es/

OMS. (2017). Trastornos mentales. Recuperado de http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs396/es/

OMS. (2017). Adolescentes: Riesgos para la salud y soluciones. Recuperado de http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs345/es/

OPS. (2014-2020) Plan de acción en Salud Mental. Recuperado de http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2009/SALUD_MENTAL_final_web.pdf

Pons, Javier, & Buelga, Sofía. (2011). Factores asociados al consumo juvenil de alcohol: una revisión desde una perspectiva psicosocial y ecológica. Psychosocial Intervention, 20(1), 75-94. https://dx.doi.org/10.5093/in2011v20n1a7

Reynales-Shigematsu (2011) LM, Rodríguez-Bolaños R, Ortega-Ceballos P, Flores Escartín MG, Lazcano-Ponce E, Hernández-Ávila M. Encuesta de Tabaquismo en Jóvenes. México: Instituto Nacional de Salud Pública,. Recuperado de: spmediciones.mx/ebook/8529/free_download/

Rodríguez, C; Caño, A. (2012) Autoestima en la adolescencia: análisis y estrategias de intervención. International Journal of Psychology and Psychological Therapy, vol. 12, núm. 3, 2012, pp. 389-403. Recuperado de: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=56024657005

USEBEQ, (2017). Cantidad de alumnos nivel secuandarias Mpio. De San Juan del Río. Subjefatura de Planeación Educativa. Departamento de servicios regionales III San Juan del Río.

[i] Esta investigación se llevó a cabo con el financiamiento de FOFI y gracias a la beca otorgada por rectoría de la UAQ para llevar a cabo los estudios de maestría de la autora.

Autores: Callejas Rojo Cecilia Montserrat, Flores Varela Daniela, Jiménez Hernández Melisa, Ramos García Jesús Antonio, Reséndiz Saldaña Daniela, Rojas Villegas Víctor Francisco. .
Asesora: Carbajal Valenzuela Cintli Carolina.
Afiliación: Facultad de Psicología, Universidad Autónoma de Querétaro.

Correo de contacto: montse_rojo@outlook.com

Atención Ejecutiva y consumo de tabaco en universitarios.

Resumen

Objetivo: Comparar el funcionamiento de la Atención Ejecutiva entre estudiantes universitarios Fumadores y No Fumadores.
Metodología: Se realizó un estudio comparativo, no experimental, con una muestra no probabilística de 70 estudiantes con una media de edad de 21 años de ambos sexos de la Facultad de Psicología (FP) de la UAQ. Se aplicó la prueba Fägerstorm test para medir el nivel de dependencia a la nicotina y una subprueba del Neuropsi para medir la Atención Ejecutiva.
Resultados: La muestra fue dividida en dos grupos, 35 fumadores y 35 no fumadores. Los universitarios que formaban el grupo de Fumadores fueron clasificados por medio del Fägerstrom test en tres niveles de dependencia nicotínica; Baja (28.57%), Media (7.14 %) y Alta (0%). El 14.28% fue ubicado en la categoría No Medible dado que su nivel de consumo es tan bajo que la prueba no los clasificó en ninguno de los niveles establecidos.
Tras la medición de la Atención Ejecutiva con la aplicación de la subprueba (Atención y Memoria) del Neuropsi se encontró que los universitarios fumadores obtuvieron un promedio de 43.77 puntos con una desviación estándar de 3.42, mientras que los universitarios No Fumadores obtuvieron un promedio de 43.74 con una desviación estándar de 3.25. Esta diferencia mínima entre los puntajes no es estadísticamente significativa ($t=-0.01$ $p \geq 0.05$).
Conclusión: Los resultados muestran que no hay diferencia entre la Atención Ejecutiva de universitarios Fumadores y universitarios No Fumadores.

Abstract

Aim: To Compare Executive Attention in university students Smokers and Non Smokers.
Methodology: A comparative, non experimental, non probabilistic sample was carried out. 70 male and female university students of the psychology faculty were included. Median age of the participants were 21 years. Fägerstorm Test for nicotine dependence, a standard instrument for assessing the intensity of physical addiction to nicotine, and a Neuropsi sub test, to assess Executive Attention were applied.
Results: The sample were divided in two groups, 35 Smokers and 35 Non Smokers. The participants in Smokers group were classified by the Fägerstorm Test on 3 nicotinic dependency levels, Low (28.57%), Medium (7.14%) and High (0%). 14.28% of Smokers were classified as Not Measurable because of their low cigarette intake level.
We found on the Neuropsi (Attention and Memory) sub test application a mean of 43.77 points with a standard deviation of 3.42 for Smokers and mean of 43.74 points a 3.25 standard deviation from Non Smokers. The difference between groups is not statistically significant ($t=-0.01$, and $p \geq 0.05$).
Conclusion: Results show there is no difference between the Executive Attention of University Smokers and Non-Smokers.

Palabras Clave: Atención Ejecutiva, Tabaco, Estudiantes Universitarios.

Keywords: Executive Attention, Tobacco, University Students.

Introducción

Una encuesta global, realizada en 2015, arrojó como, que el 16.4% de la población en México de 15 años o más, son personas fumadoras activas entre las que se encontró que 10.6 millones son hombres y 3.8 millones son mujeres, sin contar que aproximadamente 3.9 millones de personas sin ser fumadoras, están expuestas a la inhalación del humo de tabaco. (Andrade, C., 2015).

El humo de cigarrillo es el producto de la combustión de moléculas propias de los vegetales, en este caso del tabaco, una de las sustancias más dañinas que produce aproximadamente 5000 compuestos químicos. Expertos han dividido en 3 grupos estas sustancias:
a) Aquellos productos que afectan el sistema inmune
b) Los que pueden inducir la formación de cáncer
c) Y los que inducen y promueven la adicción (García, 2015)

El consumo de tabaco ha sido vinculado a múltiples padecimientos en el cuerpo de aquellos que lo consumen; cataratas, neumonía, cáncer, especialmente el de pulmón, boca, faringe, laringe, esófago, estómago, páncreas, cérvix, riñones, uretra, vejiga, y leucemia. Se le atribuyen también enfermedades del corazón, ataques cerebrovasculares y afecciones en general al sistema nervioso central. (Volkow, D. 2002)

Una investigación realizada por Benwell, M. (1988) describió que las consecuencias más relevantes del consumo de tabaco son: el deterioro cognitivo acelerado (función ejecutiva, memoria verbal, velocidad de procesamiento), y un mayor riesgo de demencia, además de tener efectos tóxicos en los sistemas cardiovascular, cerebrovascular, y pulmonar.

Por su parte, Fuster, J. (2008) define la atención como la asignación selectiva de recursos ilimitados para optimizar el procesamiento de la información, lo que implica la inhibición de elementos sin relación o que interfieran con el foco de atención.
Posner, M. (2006), en una revisión de estudios de neuroimagen demostró que existen redes específicas de áreas neuronales, las cuales están involucradas en tipos de atención, estas redes tienen como propósito principal influir en otras redes cerebrales; a su vez divide en tres funciones de atención que son: alerta, orientación y función ejecutiva.
Kropotov (2009) mencionó que las funciones ejecutivas han sido utilizadas como sinónimo de funciones del lóbulo frontal.

Las estructuras cerebrales involucradas en el funcionamiento de la AE son el giro cingulado anterior y el cortex pre-frontal. De acuerdo a varios modelos, hay un subsistema que incluye el córtex temporoparietal y el córtex frontal anterior lateralizado al hemisferio derecho, encargado de detectar novedad y estimulación saliente e inesperada, por otro lado, existe un sistema formado por el córtex intra-parietal y el córtex frontal superior, que es el responsable de las funciones de desarrollo de expectativas. (Corbetta, Shulman. 2002). Botvinick. et. al. (1999) detectaron que el córtex cingulado anterior, participa específicamente en la detección de situaciones en conflictos de respuesta.

La AE, se encarga de inhibir factores externos que la dificulten, esto permite enfocar dicha atención hacia una actividad específica. (Moraine, P., 2014).
Es además una capacidad cognitiva característica de las especies más avanzadas filogenéticamente. Requiere de un esfuerzo dirigido desde la corteza hacia el resto de las estructuras, influyendo incluso en

los procesos de sensopercepción. La psicología cognitiva ha denominado a este tipo de procesos top-down (Fuster, 2008).

Las afectaciones del consumo de tabaco en los procesos cognitivos ya se han explorado antes con resultados contradictorios. Por un lado, hay investigaciones que reportan que no hay diferencias entre fumadores y no fumadores, mientras que hay otras que encuentran diferencias consistentes entre un grupo y otro (Flaudias, V. et al, 2016 & Meyers. C. et. al. 2013). Algunos estudios han demostrado que la alta dependencia a la nicotina tiene una afectación directa sobre algunos tipos de operaciones ejecutivas como la inhibición y los procesos de actualización, no así, con los procesos de cambio del foco de atención.

En un estudio realizado por Hyman,S. y Malenka. R. (2001) se demostró que el consumo de nicotina, así como la dependencia a la misma, genera una reorganización en los circuitos neuronales; los cuales pueden ocurrir debido a cambios en la plasticidad sináptica y las neuro-adaptaciones asociadas con una actividad anormal de la dopamina.

Una investigación realizada por Benwell, M. (1988) describió que las consecuencias más relevantes del consumo de tabaco son: el deterioro cognitivo acelerado (función ejecutiva, memoria verbal, velocidad de procesamiento), y un mayor riesgo de demencia, además de tener efectos tóxicos en los sistemas cardiovascular, cerebrovascular, y pulmonar.
Encontraron en estudios post mortem que en los fumadores existe una alta propagación de los receptores nicotínicos de acetilcolina por todo el cerebro en áreas como el tálamo, los ganglios basales, el córtex cerebral, el hipocampo, y el cerebelo.
Flaudias, V. et. al (2016), realizaron una investigación con 134 participantes; 81 moderados y 53 dependientes altos de la nicotina. Los investigadores usaron el Fägerstorm Test, para establecer una clasificación al nivel de dependencia nicotínica.
Los participantes, realizaron el Stroop test y el Hayling test para medir los parámetros inhibitorios, el Trail making Test para medir los procesos de cambio de foco de atención y en n-back test, para la medición de los procesos de actualización. Los resultados arrojaron que existe una afectación directa en la corteza prefrontal, que afecta las capacidades inhibitorias en los participantes con una alta dependencia a la nicotina. Se demostró, además, que dichos participantes poseen una capacidad inhibitoria más pobre que aquellos que tienen una dependencia moderada a la nicotina.

Por otro lado, Meyers. C. et. al. (2013) realizaron un experimento que fue aplicado a 60 personas, 30 fumadores y 30 no fumadores de ambos sexos. Se les aplicó una prueba de Representación Visual en Serie Rápida (RSVP), esta prueba arrojó como resultado que la nicotina no tuvo ningún efecto en la atención ejecutiva. También aplicaron la Continuous Performance Test o Prueba de Rendimiento Continuo (CPT), en la cual se mostró que se mejoró la atención que disminuía los errores de identificación con el consumo de la nicotina, puesto que se estaba más alerta a los estímulos que presentaban las pruebas.

Dados los antecedentes y estudios anteriores, la presente investigación se propone comparar el funcionamiento de la Atención Ejecutiva (AE) entre estudiantes universitarios fumadores y no fumadores.

Metodología

Se realizó un estudio comparativo, no experimental transeccional de muestra no probabilística.
Se incluyeron a 70 estudiantes universitarios de ambos sexos, con un rango de edad entre los 17 y los 40 años, una edad promedio de 21 años y desviación estándar de 2.76. La muestra estaba compuesta por 35 universitarios Fumadores y 35 universitarios No Fumadores.

A los estudiantes Fumadores se les aplicó la prueba de Fägertstorm Test, (Becoña, E., y Vázquez, F.,

1998) para medir el nivel de dependencia a la nicotina. Esta prueba clasifica a los fumadores como con Alta, Media o Baja dependencia. Sin embargo, algunos de nuestros estudiantes tuvieron un nivel de dependencia tan bajo que no pudieron ser clasificados en ninguno de estos tres niveles. Por lo que conformaron el grupo No Medible.

Ambos grupos contestaron además una subprueba del Neuropsi (Ostrosky F. et al. 2012) consiste en una serie de tests destinados a valorar el funcionamiento cognitivo global incluye tests de orientación, atención, memoria, lenguaje, visoespacialidad, viso-percepción y funciones ejecutivas, es una prueba que permite detectar trastornos cognitivos en una población de un amplio rango de edad, consta de ocho escalas que evalúan diferentes dominios cognitivos (Querejeta A, et al. 2012). La sección aplicada "Atención y Memoria" es para personas de 17 a 40 años. Consta de cinco fases: 1) Retención de dígitos en progresión, 2) Cubos en progresión, 3) Detección visual, 4) Detección de dígitos total, y 5) Series sucesivas.

Resultados

Se incluyeron a 70 estudiantes universitarios, entre los cuales el 74.28% son mujeres, y el 25.71% son hombres, cuya edad promedio fue de 21 años.
Al medir el nivel de dependencia en el grupo de fumadores se encontró que ningún estudiante presentó niveles altos de dependencia, el 7.14% de los fumadores se clasificaron en un nivel de dependencia media, mientras que el 28.57% se encontró con un nivel de dependencia bajo, finalmente, en la categoría de no medibles se ubicó el 14.28% de los universitarios fumadores, (Figura 1).

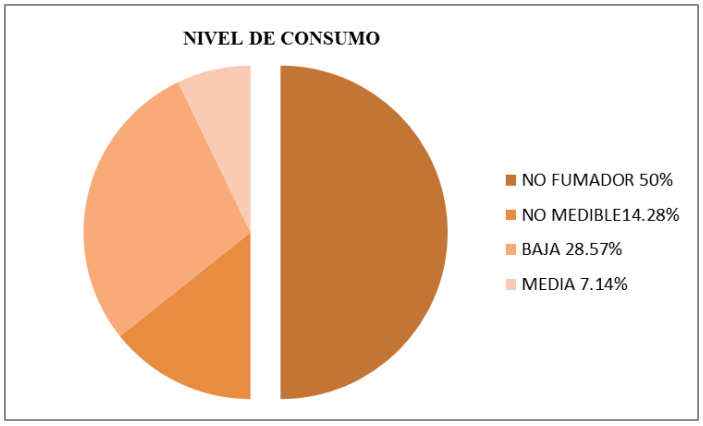


Figura 1.0. Nivel de consumo de tabaco.

Los puntajes obtenidos en la subprueba "Atención y memoria" de la prueba "Neuropsi" para medir la Atención Ejecutiva, aplicada a los 70 sujetos, se ubicaron en un rango de 36 a 55 aciertos, una media de 43.75 y una desviación estándar de 3.31.
Los universitarios no fumadores obtuvieron una media de 43.74 y una desviación estandar de 3.25, en un rango de 38 a 53. Los puntajes de este grupo se distribuyeron de la siguiente manera: 12 sujetos (34.2%) entre 44-46 aciertos, 11 sujetos (31.4%) entre 41-43, 6 sujetos (17.1%) entre 38-40 aciertos, 5 sujetos (14.2%) entre 47-50 aciertos, y 1 sujeto (2.8%) entre 51-53 aciertos (Figura 2).

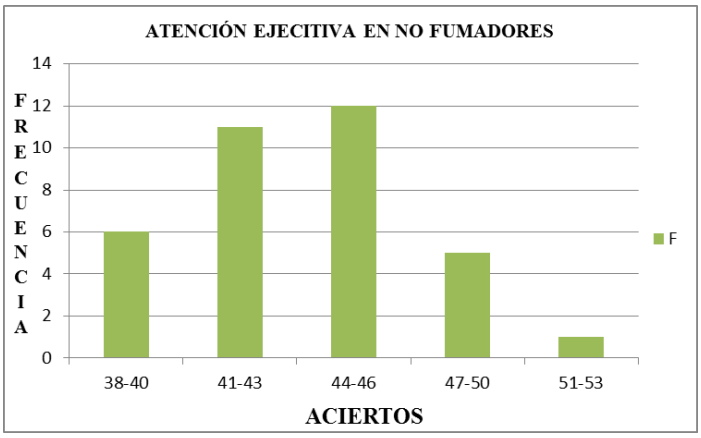


Figura 2. Atención ejecutiva en no fumadores.

Los universitarios fumadores, por su parte, obtuvieron una media de 43.77. Se distribuyeron de la siguiente manera: 14 sujetos entre 42-44 aciertos, 9 sujetos entre 45-47 aciertos, 6 sujetos entre 39-41

aciertos, 4 sujetos entre 48-50 aciertos, y 2 sujetos entre 36-38 aciertos (Figura 3).

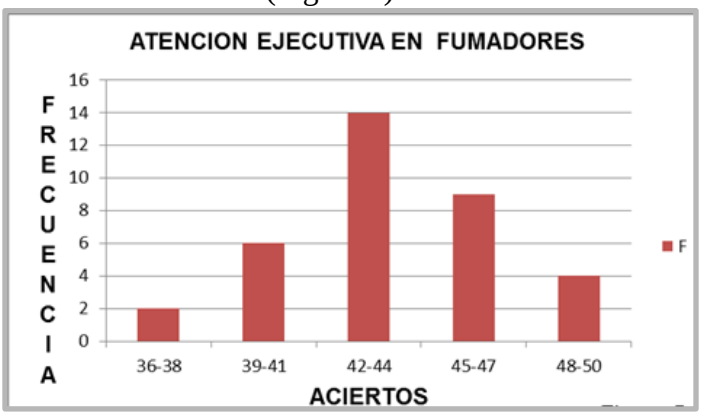


Figura 3. Atención ejecutiva en fumadores.

Se realizó una prueba t para comparar la media de dos grupos independientes. Se obtuvo un valor de t=-0.01 p≥ 0.05y se encontró que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de ambos grupos en la Atención Ejecutiva, lo que implicó aceptar la hipótesis nula de igualdad entre los grupos (Figura 4**).** Posteriormente, se realizó una comparación únicamente entre los estudiantes universitarios No Fumadores y los estudiantes universitarios Fumadores con Dependencia Media**,** los cuales obtuvieron una media de 43.97, y una desviación estándar de 3.19 (Figura 5).

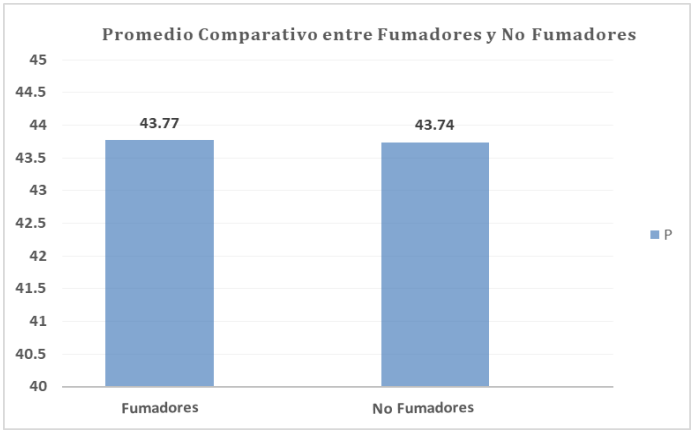


Figura 4 Promedio comparativo entre fumadores y no fumadores.

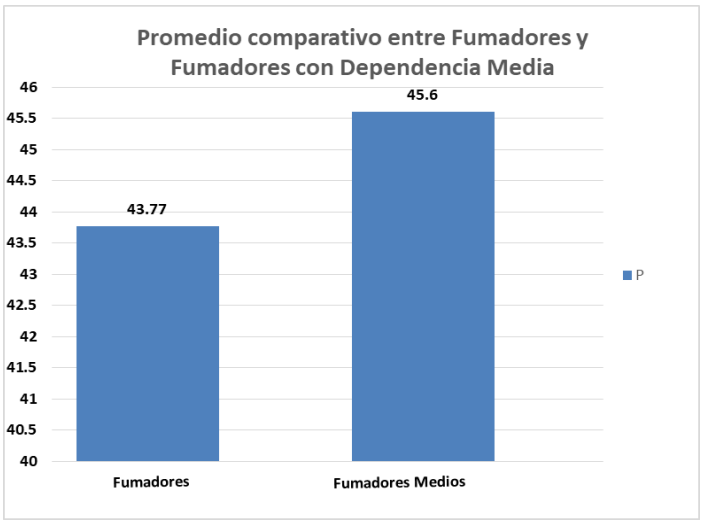


Figura 5. Promedio comparativo entre no fumadores y fumadores con dependencia media.

Discusión y conclusiones

El principal objetivo de esta investigación fue comparar el funcionamiento de la atención ejecutiva en estudiantes universitarios con consumo frecuente de tabaco y estudiantes universitarios con consumo nulo de tabaco. De acuerdo a los resultados obtenidos, se concluye que no hay diferencias significativas en el funcionamiento de la atención ejecutiva entre estudiantes universitarios con Fumadores y No Fumadores. Este resultado coincide con lo planteado por Meyers. C. et. al. (2013), quien no encontró diferencias entre el grupo de fumadores y no fumadores. Con los datos obtenidos llegó a la conclusión de que la nicotina no tenía ningún efecto en la atención ejecutiva. Así mismo, una investigación realizada por Dinur-Klein L. et al, (2019) demostró que no había una diferencia significativa entre el desempeño de los fumadores y no fumadores en la atención ejecutiva.

Sin embargo, el equipo de investigación sostuvo durante el estudio la hipótesis de diferencia entre los grupos que se había encontrado en distintos antecedentes (Benwell, M. (1988) & Flaudias, V. et al, 2016). Una posible explicación a los resultados obtenidos, es que la población de fumadores a la que tuvimos acceso, es una población muy joven que

podría no haber desarrollado aún los efectos sobre el sistema nervioso central de los que se habla en distintos artículos, por ejemplo Flaudias, V. et al, (2016), y Mashhoon, Y. et al., (2018), puedan aún no ser observables.

Otra de las razones que pueden estar influyendo en el resultado es que hay una serie de variables externas difíciles de controlar en estudios con humanos, como las horas de sueño, la alimentación, el descanso y el estrés de los participantes durante la aplicación de la prueba.

Para futuras investigaciones, debiera tomarse en cuenta acceder a una población con parámetros más altos de dependencia nicotínica, para que existan mayores probabilidades de encontrar diferencias significativas.

Bibliografía

Benwell, M., (1988) Evidence that tobacco smoking increases the Density ok (-)-(3.H) Nicotine Binding Sites in Human Brain. Journal of Neurochemistry, Volume 5, Issue 4.

Botvinick, M., Nystom, L.E., Fissell, K., Carter, C.S y Cohen, J.D. (1999). Conflict monitoring versus selection-for-action in anterior cingulated cortex. Nature, 402, 179-181.

Corbetta, M. y Shulman, G. (2002). Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. Nature Reviews Neuroscience, 3, 201-215.

Flaudias V, Picot, M., Lopez-Castroman, J., Pierre M., Schmitt. A.,

Perriot, J., Georgescu, V., Courtet, P., Quantin, X., Guillaume. S. (2016). Executive Functions in Tobacco Dependence: Importance of Inhibitory Capacities. Francia: PLOS ONE. 2019, de PubMed

Hyman S., Malenka R., "Addiction and the brain: The neurobiology of compulsion and its persistence. Nat Rev Neurosci (2001) pages 295-703.

Kropotov. Juri, D. (2009). Quantitative EEG, Event-Related Potentials and Neurotherapy. Estados Unidos: ELSEVIER. Pp. 253-254

Mashhoon, Y., Betts,J., (2018) Stacey L., Farmer, Scott E., Lukas. "Early onset tobacco cigarette smokers exhibit deficits in respons inhibition and sustained attention". Drug and Alcohol Dependence. Pages 48-56, Volume 184.

Moraine, P. (2014). Las funciones ejecutivas del estudiante. Madrid: Narcea.

Ostrosky F., Gómez E., Matute E., Rosselli M., Ardila, A., Pineda D. (2012) NEUROPSI: "ATENCION Y MEMORIA" sub-prueba de Atención y concentración. ed. Manual moderno

Posner. Michael I. Brad E. Sheesea (2006). Neural Networks. En Analyzing and shaping human attentional networks (1422-1429). USA: ELSEVIER.

Querejeta, A., Farías, Y., Moreno, M., Crostelli, A., Stecco, J., Venier, A., Godoy, J., Pilatti, A. (2012). Cuadernos de Neuropsicología. Pan American Journal of Neuropsychology. Chile P.p. 48-58

Volkow, D. (2002) ¿Cuáles son las consecuencias del consumo de tabaco? NIDA. Número 11-4342(5). Pág.4.

.

Violencia estructural y Derechos Humanos de los migrantes

Autoría: María Magdalena Castro Alvarado, asesor Dr. José Alberto Posadas Juárez, estudiante de la Licenciatura en Criminología en la Universidad Autónoma de Querétaro, mcastro30@uaq.alumnos.mx

Resumen: La intención de este ensayo fue conocer los tratos y violaciones de Derechos Humanos que sufren los migrantes centroamericanos por parte de ciudadanos mexicanos, autoridades y miembros de organizaciones criminales, en su recorrido desde la frontera sur del país hasta aquí en Querétaro. La información recabada por entrevistas realizadas en el Centro de Apoyo Marista al Migrante (CAMMI), en las viejas vías del ferrocarril y también en el jardín Guerrero resultó en que son más violentados por las autoridades mexicanas que la demás sociedad mexicana. Lo que se concluye es que son cuestionables las estrategias actuales para combatir la migración, además de encontrar campos de oportunidad para que los criminólogos creen estrategias para ayudar de mejor forma en cuestiones de seguridad y obviamente prevención de delitos.

Palabras clave: Criminólogos, derechos humanos, migrantes, violencias.

Abstract: The intention of this essay was to learn about the treatment and violations of human rights suffered by Central American migrants by Mexican citizens, authorities and members of criminal organizations on their way from the country's southern border to here in Querétaro. The information gathered through interviews conducted at the Centro de Apoyo Marista al Migrante (CAMMI), on the old railroad tracks and also in the Guerrero garden resulted in them being more violated by Mexican authorities than other Mexican society. What we conclude is that current strategies to combat migration are questionable, in addition to finding fields of opportunity for criminologists to create strategies to better help with security issues and obviously crime prevention.

Keywords: Criminologists, human rights, migrants, violence.

Introducción

La migración en México ha tomado más fuerza en los últimos años, ya que se ha notado más la presencia de centroamericanos a lo largo del país, provenientes de los países de Honduras, Guatemala, El Salvador, Haití, Nicaragua, entre otros. Su destino es llegar a la frontera norte para cruzar a Estados Unidos debido a las problemáticas que existen en sus países de origen como la violencia, la presencia de pandillas, el crimen organizado o su situación económica en desventaja. Sin embargo, es necesario saber de forma verídica cuáles son las causas por las que migran hacia el norte o, en caso contrario, establecerse en México de manera permanente o temporal. Querétaro es una de las ciudades que forman parte de una ruta para llegar a la frontera norte, por lo que usan el ferrocarril comúnmente llamado “la bestia”, para acercarlos a su destino que por esa misma razón se ha notado más presencia de los migrantes en diferentes puntos de la ciudad de Querétaro. Por lo que es de interés para un criminólogo cuál es la razón por la que se logren ver a más migrantes, además también es importante recalcar y dar a conocer cuáles son los riesgos a los que se exponen estas personas en su camino para que los criminólogos puedan crear estrategias favorables para los migrantes que pasan por Querétaro. Es por ello que resulta necesario ir a campo para recolectar la información necesaria para crear esas estrategias y de alguna forma contribuir a prevenir o disminuir los riesgos a los que se enfrentan en su paso por México.

Objetivo: Conocer los tratos y violación de Derechos Humanos que padecen los migrantes, por parte de ciudadanos mexicanos, agentes migratorios y miembros de organizaciones criminales, en su

recorrido desde la frontera sur del país hasta su estancia en Querétaro.

Metodología

En esta investigación se utilizaron entrevistas semi-estructuradas grabadas en audio con su debido consentimiento ya que se necesitaba información verídica sobre las situaciones que padecen los migrantes en su camino hasta llegar a la frontera de nuestro país.

Discusión

Las discrepancias que existen entre México y Estados Unidos por cuestiones económicas, además de políticas han hecho que algunos temas como la migración sea un tema de interés para ambos países porque de alguna u otra manera los involucran estos porque mientras uno funge de país de tránsito, el otro es el destino al cual buscan llegar los migrantes respectivamente. Dado esta visión, ambos países buscan estrategias para que no les afecten porque la migración tiene un impacto de diferentes aristas como social, político, económico… dependiendo de lo que puede aportar a los países y estados de la República a los que exploren en su camino. Partiendo de ese impacto que pueden y generan los migrantes de otros países como estados de nuestro país, es bueno poner atención en este tema porque es importante analizarlo debido a cierta importancia que puede tener para la Criminología y el Estado que está al pendiente de las posibles problemáticas que pueden causar fenómenos sociales como los resultados de la xenofobia y discriminación que existe en el país hacia los migrantes centroamericanos por el estigma que se ha transmitido en cuanto a ellos por la primera impresión que dan a la demás población mexicana.

De acuerdo a la información recabada de diferentes personas que se encuentran en una situación migrante residentes en Querétaro, los resultados fueron que una de las razones por las cuales deciden migrar de sus lugares de origen es por la mejora de su calidad de vida como la de sus familiares como por ejemplo: “yo emigré de mi país… por las razones que son muy fuertes y pues por las que yo soy refugiado aquí en México “(El misionero, 2019).
Existe un enfoque que se le da está relacionado con la escuela neoclásica de la economía que plantea que los orígenes de la migración radican en el aspecto económico con especial atención a la diferencia salarial que existe en sus países en relación con su país de destino, tomando una “elección racional” porque hacen un análisis entre costos y beneficios de migrar hacia otro país, que Michael P. Todaro menciona en su teoría, aunque el maneja el concepto de “racionalidad económica “ en su obra “Migration, unemployment and development: a two-sector analysis” (1970). Sin embargo, varios autores agregan más factores a las causas de la migración como George J. Borjas que es la familia, ésta se une a la toma de la “racionalidad económica” que debe realizar el individuo que quiera migrar como lo menciona Alberto Gómez en su artículo: “…ya que la emigración es una estrategia en la obtención de ingresos para cubrir los gastos de la familia y poder garantizarles una mejor calidad de vida, bienestar y prosperidad” (Gómez, 2010, pág. 93).

Entonces ya se tiene una idea de las causas principales por las cuales los migrantes deciden emigrar, pero es importante también conocer más sobre su contexto social en el que se desarrollan o desarrollaban en sus lugares de origen porque como menciona el artículo anterior, la migración es multicausal, es decir, que existen muchos factores aparte de los mencionados que impulsan la migración, en este caso, de personas centroamericanas hacia México y Estados Unidos principalmente. Y otro factor que debe influirse es la inseguridad que existe en sus países que lo mencionaron las personas entrevistadas: ”¿qué es lo que ellos hicieron? no se ensañaron conmigo, se ensañaron con mi hermano. A él me lo mataron”. (El misionero, 2019).

Si se toma en cuenta lo que nos dijo esta persona, además de otros detalles como: “…en cambio allá en El Salvador pues llegaban. Sí, así de fácil y si no querías andar con ellos, les ponían la renta por ti…”. (El misionero, 2019).

Y eso quiere decir, que existe una renta que deben pagar las personas de algunas regiones de El Salvador que les imponen otras, en este caso, refiriéndose a las pandillas porque en la entrevista realizada, esta persona comentó que la violencia y delincuencia es impartida por las pandillas, convirtiéndolo en otro factor por el cual los centroamericanos deciden migrar a otro país. Entonces John Galtung con su teoría "el triángulo de la violencia" (1969) se centra en 3 elementos: la violencia estructural, la violencia cultural y la violencia directa. De acuerdo a estos elementos, la violencia estructural significa que el Estado está fallando en sus funciones porque existe una desigualdad y pobreza porque las personas centroamericanas sufren esto en su país, haciéndolos migrar a otros países donde puedan brindar lo que ellos necesitan y cubrir sus necesidades. Además se presume que este tipo de violencia también lo padecen estando en el territorio mexicano porque no se les respetan sus derechos humanos como también sufren de desigualdad y pobreza.

Otro elemento que es parte de este triángulo, es la violencia cultural, que de acuerdo al autor se refiere al uso del poder y la legitimación del poder para transformarse después en la utilización de la violencia y su legitimación, que se va de la mano con la violencia directa. Y colocándolo en la migración esa utilización de violencia la emplean las pandillas residentes en los países centroamericanos cuando los individuos deben de pagar cierta renta para permitirles seguir viviendo y no existan represalias que te acaben con la vida de alguien. Y ese tipo de violencia también puede presenciarse cuando los mirantes se encuentran en México porque de acuerdo a la información recabada, son autoridades mexicanas las que son responsables de ejercer esa violencia hacia los migrantes que transitan por el país. Es decir que los migrantes de alguna forma sufren por diferentes re-victimizaciones de parte de diferentes actores porque las padecen por las pandillas, autoridades, etc.

Siguiendo con el aspecto de las violencias que padecen los migrantes centroamericanos y también los migrantes del propio país, debe cuestionarse cuál es la postura que tiene la demás sociedad, cómo percibe a los migrantes debido a que como se mencionó antes, pueden ser víctimas de desigualdad como de xenofobia, ese desagrado por las personas que no son de la región y que son extraños al contexto al que se ven inmersos cuando ya se encuentran en México. Ahora cuáles serían las consecuencias de esa discriminación por parte de la sociedad mexicana, una de ellas es el etiquetamiento de las personas porque se ha esparcido la ideología que alguien externo a la región es porque hará algo malo. Sin embargo, la realidad puede ser distinta como lo menciona Anthony Platt (2006): "el delito no depende exclusivamente de la pobreza, sino que más bien es producto de ciertas condiciones ideológicas, de las relaciones sociales y de la ética individualista".

Que ciertamente ya no se considera la pobreza como signo de criminalidad en el ámbito legal, pero aún sigue latente esa ideología que puede explicar esta desigualdad que hay hacia los migrantes, traducido en malos tratos por parte de la ciudadanía y de autoridades. Aunque también es cierto que solo se está dando a conocer una parte de este fenómeno que aún sigue vigente en todo el mundo. Es por eso que los criminólogos debemos interesarnos por este tema porque de alguna u otra forma también están involucrados otros factores como las víctimas de delitos que se presentan en todo el recorrido que transitan hasta llegar a la frontera norte del país, las organizaciones criminales que invaden las rutas establecidas por los migrantes, entre otros riesgos que siguen y necesitan crearse acciones para disminuirlos.

Resultados

Los datos que se obtuvieron con esta investigación fue que los migrantes centroamericanos en su paso por el territorio mexicano padecen más de las acciones efectuadas por las autoridades entiéndase como policías. Mientras que la sociedad mexicana en general les ha ayudado en su camino en los diferentes estados. Pero se hace notar que se necesitan mejores estrategias para deportar a los migrantes que no cuenten con papeles, además de

crear propuestas para disminuir los riesgos a los que se enfrentan en su recorrido por el resto del país.

Conclusiones

La migración que existe entre los países involucrados que son varios, pero los que reciben más el impacto de ésta, son México y Estados Unidos que cada vez más están al pendiente de este tema pero son cuestionables las estrategias de ambos gobiernos para saber qué hacer con aquellas personas que están huyendo de sus países de origen por su contexto social envuelto en diferentes problemáticas. Aunque también hay muchos campos de oportunidad para que los criminólogos ideen estrategias y el objetivo fundamental sea procurar la seguridad de esta población porque la función de un criminólogo es prevenir cualquier conducta antisocial, entonces es válido que se esté trabajando más en el tema, como también se tomen en cuenta los derechos hablando en el ámbito legal y hasta poder evaluar las políticas que se hagan respecto a la migración porque eso un criminólogo lo puede realizar. Todavía falta mucho por trabajar en el tema, aunque de igual manera poco a poco se está abordando.

Agradecimientos

Agradezco primeramente a las personas que colaboraron con la investigación que fue el Centro de Apoyo Marista al Migrante (CAMMI) que nos brindaron la oportunidad de acercarnos a los migrantes como a los migrantes que participaron, también agradezco al maestro Alberto Posadas por estar al pendiente de la investigación y a mis compañeros con los que estuve trabajando en este Verano de la Ciencia 2019.

Referencias y fuentes consultadas

Franco, L. (2012). Migración y remesas en la ciudad Ixmiquilpan [PDF]. Recuperado el 08 de agosto de 2019, de: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/migracion_y_remesas_en_la_ciudad_de_ixmiquilpan.pdf

Gómez, J. (2010). La migración internacional: teorías y enfoques, una mirada actual. *Semestre Económico* , 92-93.

Castro M. (2019). Entrevista audio SAP. [Grabadora de celular]. Querétaro.

Innovación de un instrumento para evaluar el diseño e implementación de una oferta de educación continua en modalidad a distancia.

María de Guadalupe Godorníz González, Universidad Autónoma de Querétaro. mgodorniz02@alumnos.uaq.mx

Anahí Isabel Arellano Vega, Universidad Autónoma de Querétaro. anahi.isabel.arellano@uaq.mx

Resumen

La presente investigación adquiere su relevancia en el campo de la educación virtual, específicamente en los procesos de evaluación de una oferta educativa en una modalidad a distancia; este trabajo se desarrolló durante la instancia en el programa del verano de la ciencia, que promueve la Dirección de Investigación y Posgrado, de la Universidad Autónoma de Querétaro; Cabe mencionar que este trabajo forma parte del proyecto de investigación Competencias digitales docentes de profesores universitarios del área de ciencias sociales y humanidades a cargo de la Mtra. Anahí Isabel Arellano Vega, docente de la Facultad de Psicología, de la Universidad Autónoma de Querétaro.

El diseño metodológico fue de corte cualitativo-analítico, se empleó la entrevista como técnica para la recolección de datos con expertos en el diseño e implementación de programas educativos a distancia. Como producto del trabajo científico, se obtuvo el rediseño del instrumento para la evaluación del nivel 1 de un curso impartido en la Facultad de Derecho, en la misma institución.

Algunos de los resultados relevantes que se obtuvieron son la exhortación a continuar con la formación de docentes para la capacitación como diseñadores y facilitadores más competentes en ambientes de aprendizaje virtual, así mismo hacen un énfasis en el desarrollo de habilidades digitales en los estudiantes para que interactúen en estos espacios alternativos de aprendizaje, debido a que son espacios que demandan al estudiante un proceso más autónomo y metacognitivo durante su experiencia formativa en esta modalidad.

Abstrac

This research acquires its relevance in the field of virtual education, specifically in the evaluation processes of an educational offer in a modality to distance; This work was developed during the instance in the summer program of the science, which promotes the Directorate of Research and Postgraduate, of the Universidad Autónoma Querétaro; It is worth mentioning that this work is part of the project of research Digital competencies of university professors in the area of social sciences and humanities by Mtra. Anahí Isabel Arellano Vega, teacher of the Faculty of Psychology, of the Universidad Autónoma de Querétaro.

The methodological design was qualitative-analytical, the interview was used as technique for data collection with experts in the design and implementation of programs distance education. As a product of scientific work, the redesign of the instrument for the evaluation of level 1 of a course taught at the Faculty of Law, In the same institution. Some of the relevant results that were obtained are the exhortation to continue teacher training for training as designers and more competent facilitators in virtual learning environments, likewise make a emphasis on the development of digital skills in students to interact in these alternative learning spaces, because they are spaces that demand the student a more autonomous and metacognitive process during his formative experiedemand this mode.

Introducción

En la actualidad las instituciones educativas de nivel superior se enfrentan una serie de transformación y mejora en los procesos de formativos, en donde los procesos de enseñanza y aprendizaje se han innovado para responder a las necesidades y demandas en diferentes espacios educativos en instituciones de educación superior.

Uno de los diferentes tema a abordar de estas instituciones es generar programas educativos que permitan fortalecer el desarrollo del conocimiento, actualización disciplinar y capacitación a la sociedad en general, considerando las necesidades del contexto (local, regional, nacional, y global), a través de la participación en diferentes cursos, diplomados, talleres, etc. que se ofertan a través de cualquiera de sus modalidades: presencial, semipresencial y a distancia (Guzmán, T., Escudero, A., Ordaz, T., Chaparro, R., y García, T., 2016).

Derivado del avance tecnológico, las interacción en una dinámica digitalizada demanda la creación de escenarios alternativos de formación continua para la comunidad académica y sociedad en general; esto ha generado que las Instituciones de Educación Superior (IES) ofrezcan programas educativos, principalmente en una modalidad a distancia; la incorporación de las tecnologías de la información y comunicación (TIC) a espacios formativos, promueven que estos sean más flexibles y autónomos, para que la comunidad académica y la sociedad en general puedan continuar formándose en cualquier campo disciplinar (Guzmán, T., Escudero, A., Ordaz, T., Chaparro, R.,y García, T., 2016).

En este contexto, la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) , a través de su Modelo Educativo Universitario (MEU) pretende orientar las prácticas de la comunidad universitaria, con fines orientados hacia una educación humanista, ética y con compromiso social; donde la comunidad contribuya a las funciones sustantivas como la investigación, docencia, vinculación y extensión, mismas que permitirán el desarrollo de la institución.

Dentro de los tres componente del MEU, se encuentra el de innovación educativa; para Navarro, Jiménez, Rappopot y Thoilliez (2017) la innovación educativa es la puesta en marcha de procesos, estrategias e ideas de forma planificada y sistematizada, con el objetivo de introducir cambios en las prácticas educativas, es decir pretenden la transformación de la realidad educativa para la mejora en los procesos de enseñanza y aprendizaje.

Para la UAQ (2017) la innovación educativa, implica el desarrollo de diversos sistemas educativos flexibles, capaces de llegar a los estudiantes independientemente de su entorno; por lo que es necesario que desarrolle programas educativos que rompan las barreras del tiempo y espacio, a través de plataformas de aprendizaje virtual, que promueven el trabajo autónomo y autorregulado; Aunado a la evaluación y actualización de los planes de estudio, siempre haciendo un énfasis en los procesos de enseñanza y aprendizaje situado.

La propuesta del Sistema Multimodal de la UAQ presenta un avance institucional en relación al campo de la educación virtual; en este documento se establecen algunos fundamentos teóricos para incorporar la modalidad de educación a distancia, abierta y mixta a la comunidad universitaria.

En el sistema de educación multimodal se definen los principios y lineamientos para la implementación de nuevos modelos educativo; para fines de este proyecto nos centraremos únicamente en la oferta educativa con modalidad a distancia.

Para (Guzmán, Escudero, Ordaz, Chaparro, y García, 2016) el sistema de educación a distancia es una actividad de enseñanza-aprendizaje que se desarrolla fuera de un espacio físico, temporal, a través de una intranet o de internet, ofreciendo una diversidad de medios y recursos dirigidos apoyar la enseñanza. Ésta modalidad pretende ampliar la atención educativa a personas que requieren trabajar y estudiar al mismo tiempo; además permite el desarrollo de competencias tecnológicas, y reconoce que los programas educativos se internacionalizan y especialicen al profesorado en los nuevos procesos de enseñanza- aprendizaje.

Esta modalidad se encuentra dentro del sistema educativo no presencial, sistema que justifica los factores de competitividad, cobertura, credibilidad e internacionalización de la oferta formativa; es importante mencionar que cada sistema tiene su modalidad educativa, está puede ser escolarizada, no escolarizada y mixta.

La oferta educativa en esta modalidad ha adquirido su popularidad en los espacios académicos, sin embargo es necesario valorar y comentar todo el trabajo que implica el diseñar e implementar este tipo de oferta educativa; a decir de los expertos en el campo de la educación virtual, la educación virtual, entendida como el conocimiento y socialización con la tecnología y los espacios virtuales de aprendizaje son poco valoradas para innovar las prácticas de enseñanza-aprendizaje.

Hace falta trabajar un poco más en el desarrollo de las competencias digitales, tanto en estudiantes como docentes, esto permitirá que la cultura digital y sus implicaciones en las instituciones educativas sean más significativas y valoradas por la comunidad universitaria; y así potencializar el desarrollo de la oferta educativa a distancia, partiendo de la oferta y demanda que tenga la propuesta curricular.

Los entornos virtuales son espacios de comunicación que permiten el intercambio de información, y que según sea su utilización podrían concretarse en espacios de enseñanza-aprendizaje que faciliten el trabajo cooperativo entre el docente y estudiante, en el marco de la interacción, a través de diferentes contenidos y materiales seleccionados, mediantes los procesos de comunicación propios del medio tecnológico y cultural de la era digital (Guzmán, Escudero, Ordaz, Chaparro, y García, 2016).

Como toda propuesta educativa, la evaluación es uno de los procesos importantes para mejorar el proceso de enseñanza-aprendizaje.

La evaluación es una actividad fundamental en el proceso educativo, la incorporación de las tecnologías de la información y la telecomunicación (TIC) en la educación superior, pretende investigar teorías para la evaluación del aprendizaje en entornos virtuales, o bien para conocer el desempeño de los estudiantes durante su participación en una oferta educativa a distancia.

También la evaluación nos permite verificar la pertinencia y confiabilidad del programa educativo, o dar a conocer las necesidades educativas y metodológicas en ambientes virtuales (González, 2004). Para fines de esta investigación, la evaluación es concebida como un proceso reflexivo y participativo, de esta forma podemos obtener información sobre el aprendizaje de los estudiantes, el desempeño del docente, y el nivel de calidad que puede tener el programa educativo ofertado; por lo que la presente investigación pretende desarrollar el proceso metodológico para llevar a cabo el rediseño de un instrumento de evaluación, de una oferta educativa en modalidad virtual.

Objetivo

Objetivo general

- Innovar un instrumento de evaluación para el diseño e implementación de una oferta de educación continua en modalidad a distancia

Objetivo específico

- Analizar qué y cómo evalúan diferentes instancias, la calidad de una oferta de educación continua en modalidad a distancia a través de la opinión de sus participantes
- Analizar el fundamento teórico y el diseño de un instrumento de evaluación diseñado para conocer la calidad de una oferta de educación continua en modalidad a distancia a través de la opinión de sus participantes
- Diseñar propuestas de mejora a un instrumento de evaluación diseñado para valorar el diseño e implementación de una oferta de educación continua en modalidad a distancia.

Metodología

El diseño de la investigación se realizó partiendo del modelo de diseño y desarrollo propuesto por Revees (2000), donde el proceso de investigación se concreta mediante ciclo continuo de diseño, validación, análisis y rediseño. Esto para mejorar la oferta educativa a partir de propuestas creativas que mejoren los procesos de intervención educativa (citado por Durán, 2014). Por lo que el proceso de investigación es de carácter cualitativo, debido a los objetivos definidos para esta investigación.

El diseño de esta investigación se desarrolla en tres fases, que corresponden al modelo de referencia. Estas fases son análisis, rediseño y validación. Para realizar el rediseño del instrumento de evaluación, de la oferta educativa a distancia en modalidad virtual; se inició con el análisis del instrumento vigente de la

oferta formativa que actualmente se dirige a profesores de la Facultad de Derecho, de la Universidad Autónoma de Querétaro en modalidad a distancia.

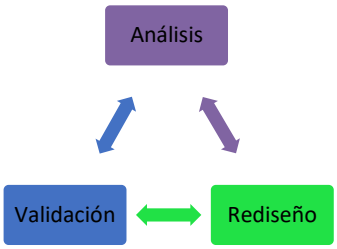


Figura 1. Proceso metodológico, elaboración propia, 2019.

Para el análisis del instrumento se realizó la búsqueda documental sobre el diseño de instrumento para la evaluación de oferta educativa en modalidad a distancia o mixta; el cual se elaboró retomando dos documentos base. El primero es la *tarjeta de puntuación (SCCQAP) evaluación de programas de pregrado en línea*, elaborado por la organización **Online Learning Consortium** (OLC) y el **Instituto Latinoamericano y del Caribe de Calidad en Educación Superior a Distancia** (CALED); Ambos organismos dedicados al asesoramiento de instituciones e individuos para mejorar la calidad de la Educación Superior a Distancia en toda Hispanoamérica.

El segundo documento titulado *sistema de educación multimodal*, de la Universidad Autónoma de Querétaro; el cual proporciona los principios y lineamientos para poder ofertar programas formativos en modalidad a distancia, abierta y mixta. Como resultado de la revisión documental de ambos títulos, se planteó la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué elementos cualitativos se pueden mejorar para innovar los instrumentos de evaluación actual, de la oferta formativa continua a distancia?

Para retroalimentar la búsqueda documental, se empleó la entrevista (Sampieri, 2014) como una técnica para recolección de datos, su diseño es semi-estructurado, esto con objetivo de identificar algunos indicadores que permitan conocer si la oferta educativa cumplió o no con sus fines formativos; la entrevista se aplicó a cinco participantes, cuatro de ellos expertos en el campo de la educación virtual, y un última a un docente con experiencia como implementador de un curso en esta modalidad (virtual).

Las entrevistas fueron analizadas por el programa Atlas.Ti (figura 2), realizando una codificación abierta, misma que permite codificar datos y construir teorías, a partir de la relación entre conceptos-categorías-temas (Sampieri, 2014); Una vez construida la matriz de análisis de dos propuestas metodológicas de evaluación de la oferta educativa en línea, se trabajó en el diseño de los criterios a considerar para evaluar el nivel de calidad de esta modalidad formativa, para mejorar los procesos didáctico-pedagógicos, tecnológicos y multimedia para que se brinde una oferta educativa a distancia de calidad.

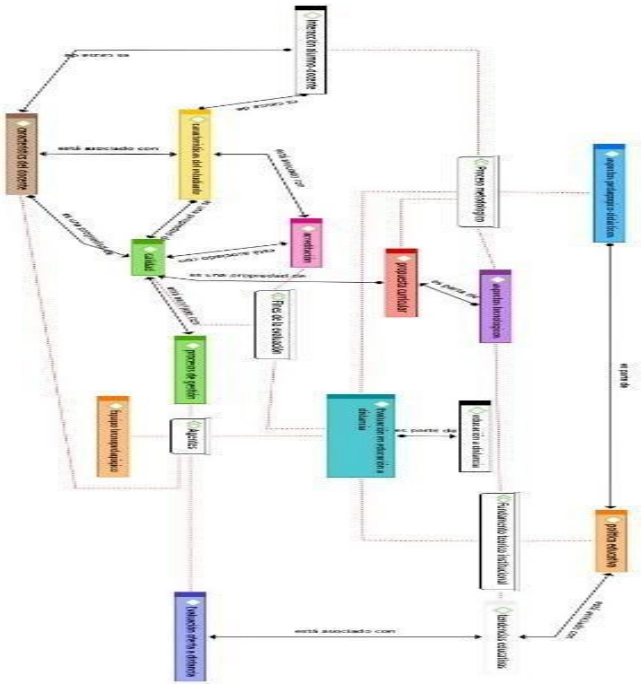


Figura 2. Red de códigos, elaboración propia, 2019.

Inmediatamente se trabajó con el rediseño en el instrumento de evaluación actual; para ello se identificaron las categorías, criterios e indicadores necesarios, que nos permitieran conocer las áreas de oportunidad, que pudiera tener esta oferta formativa en modalidad virtual. Como resultado de este trabajo se logró diseñar un conjunto de ítems que integrarán el nuevo instrumento.

Una vez elaborado el rediseño del instrumento, éste mismo es sometido jueceo de expertos; estos nos permitirá obtener información extra sobre el trabajo realizado, este proceso nos permite validar y legitimar el instrumento para los fines de evaluación del nivel satisfacción del usuario.

Resultados

Matriz de Análisis

La elaboración del instrumento tarjeta de puntuación SCCQAP fue el resultado de un trabajo de análisis de los sistemas Online Learning Consortium (OLC) y el Instituto CALED. Ambos organismos dedicados a la evaluación de la oferta educativa a distancia (virtual). El instrumento se conforma de 9 categorías, entre las que incluye aspecto pedagógico-didáctico, curricular y tecnológico, aunado a la conformación de una política educativa que favorezca la seguridad y calidad de los programas educativos en línea para instituciones de Educación Superior.

Las categorías que propone este instrumento son:

I. Apoyo institucional
II. Apoyo tecnológico
III. Desarrollo y diseño instruccional de los cursos en línea
IV. Estructura de los cursos en línea
V. Enseñanza-aprendizaje
VI. Participación social y estudiantil
VII. Apoyo a los docentes
VIII. Apoyo a los alumnos
IX. Evaluación y valoración

Las categorías que se establecen en el documento son claves para el proceso de evaluación de la oferta educativa en línea, pues se incorporan aspectos externos como políticas de seguridad, respaldo de documentos, y soporte tecnológico; también incorpora aspectos internos como la importancia de la formación de docente y estudiantes para la modalidad virtual y el trabajo colaborativo en el diseño instruccional de la oferta educativa.

Al ser una propuesta integral de ambos sistemas de evaluación (OLC y CALED), éste hace un equilibrio entre una evaluación cualitativa y una evaluación cuantitativa; si bien es importante mencionar que ambos datos nos permiten establecer una evaluación más completa y panorámica sobre el diseño y desarrollo de la propuesta educativa en línea; Se podría establecer que éste instrumento enfatiza en el diseño y desarrollo instruccional y formación continua a los alumnos frente a las competencias a desarrollar en esta modalidad.

En un segundo nivel establece como importantes a considerar el desarrollo curricular vinculado a los procesos de evaluación del aprendizaje, el nivel de desempeño de docente y estudiante, y por consiguiente la valoración del proceso de desarrollo del curso. Considerando dejar en un tercer nivel aspectos relacionados con las normas o políticas educativa que regulen los proceso formativos en línea, el soporte tecnológico, y la formación y capacitación continua de los docentes para hacer frente a las necesidades de estos nuevos ambientes de aprendizaje.

En comparación con la propuesta que hace el Sistema Multimodal de Educación (SIME), el instrumento que propone evalúa el funcionamiento técnico para valorar la calidad de la oferta educativa, es decir que los indicadores para evaluar la oferta educativa a distancia no permiten visualizar de manera integral los aspectos importantes para garantizar una oferta educativa de calidad, si bien establece algunos lineamientos básicos como formatos, procesos y estructuras, éstos no son lo suficientemente claros y específicos para valorar de manera integral la propuesta educativa.

Cuando se considera llevar a cabo un proceso de evaluación es necesario considerar que este debe ser cíclico y constante, para ello es importante definir qué es lo que se quiere evaluar; el SIME propone 4 niveles de evaluación (Figura 3).

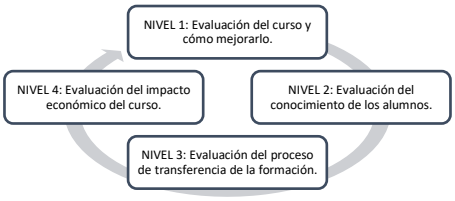


Figura 3. Niveles de evaluación propuestas por el SIME, 2016.

Considerando estos niveles, la investigación se sitúa en el nivel 1. Esto implica poder identificar las áreas de oportunidad para trabajar en la mejora de la oferta educativa; no obstante es importante considerar que lo establecido por algunos organismos evaluadores de esta modalidad (virtual), complementa los datos obtenidos durante el desarrollo del curso.

Es necesario identificar que la propuesta del instrumento que hace el SIME, requiere de un actualización, incluyendo aspectos como de seguridad, normas a fines de la educación virtual, infraestructura, y diseñar un plan de acción que favorezca la formación y actualización continua de profesores y estudiantes.

También se considera pertinente incorporar un sistema de evaluación mixta, por lo que establecer unas categorías que permitan evaluar los procesos didáctico-pedagógicos y tecnológicos-admirativos, sin combinar finalidades de cada una de las categorías. Como resultado del análisis que se obtuvo de la entrevista con los expertos, se identificaron cuatro categorías centrales, estas establecen relaciones de carácter cualitativo (figura 2). Pero lo significativo de este análisis, resulta ser que los puntos abordados en el análisis de la propuesta del instrumento de evaluación OLC y CALED son valorados e identificados por los expertos, en cuanto a lo que se refiere a la calidad educativa, ésta entendida como la satisfacción del estudiantes frente a los procesos de enseñanza y aprendizaje a través de la modalidad virtual, aunado al logro total de los objetivos de aprendizajes definidos para la propuesta educativa.

A continuación se presentarán los resultados obtenidos a partir de tres preguntas guía, diseñadas a partir del análisis cualitativo de las entrevistas con expertos. Estas interrogantes permite ser más objetivos en relación a las necesidades que se tienen en la oferta educativa a distancia (virtual) y los procesos de evaluación de esta misma oferta; Finalmente se presenta la propuesta del rediseño del instrumento para evaluar el nivel 1, de la oferta educativa en un programa a distancia (virtual).

I. ¿Qué se evalúa?

A decir de los expertos en el diseño e implementación de oferta educativa en distancia, estos ambientes de aprendizaje se han potencializado como un medio de interacción y comunicación alterno al tradicional.

Los modelos de enseñanza y aprendizaje en ambientes virtuales, han traído consigo una transformación en lo que compete al diseño e implementación de la propuesta educativa.

Por lo que, la mayoría de los organismos dedicados a la evaluación de la oferta educativa a distancia, y algunos expertos en esta área consideran importante evaluar tres aspectos:

1. Propuesta curricular

El diseño instruccional o bien la propuesta curricular del programa que se va promover es fundamental, debido que de esta propuesta es donde se estarán gestando los fines y medios para el diseño e implementación de los medios y recursos pedagógicos didácticos para lograr los objetivos formativos de todos los estudiantes que deseen participar en una oferta educativa a distancia.

2. Diseño didáctico-pedagógico.

En aspecto, el apoyo del equipo tecno pedagógico es uno de los agentes clave para la elaboración de los productos o materiales educativos, aunque se ha considerado un trabajo multidisciplinarios, el asesor tecno pedagógico va ir estableciendo una relación muy estrecha con el docente (mediador), esta estrategia permitirá que se eficiente más el proceso formativo de los estudiantes que participan en la oferta educativa.

3. Perfil del docente.

Aunque el asesor tecnopedagógico esté trabajando colaborativamente con los docentes, es importante mencionar que en lo que corresponde a los espacios de enseñanza y aprendizaje en línea, el docente tiene la responsabilidad de formarse en el desarrollo de competencias digitales, que le permita transitar del diseño e implementación en lo presencial, a ambientes

virtuales de enseñanza a aprendizaje como lo son las plataformas en línea.

Entre los expertos entrevistados, y en algunas referencias bibliográficas se menciona que eta presente la necesidad en las instituciones de educación superior formar y capacitar docentes como facilitadores competentes para interactuar en ambientes de aprendizaje virtual, y con ellos implementar nuevas formas de interacción y comunicación con los docentes a través del uso adecuado de la tecnología.

Pero para ello, también es importante trabajar en el desarrollo de las competencias digitales en los estudiantes, debido a que implica un trabajo más autónomo y metacognitivo, el alumno debería ser competente en lo que corresponde a la organización del tiempo y tareas, eficiencias y hábitos de estudio.

II. ¿Cómo se evalúa?

La evaluación de la oferta educativa en línea tiene dos propósitos importantes; en primer lugar tiene el propósito de mejorar la experiencia del estudiante participante para el logro de sus objetivos formativos, esto se evidencia en la participación del estudiante en las diferentes actividades como lo son foros de discusión (Zarzar, 2009).

El segundo propósito está relacionado con la legitimación del programa educativo, en términos académicos e institucionales hablamos de acreditaciones y certificaciones de la oferta educativa (Zarzar, 2009). Ambos propósitos pueden medirse de manera cualitativa o cuantitativa, lo importante es que se establezca un sistema de evaluación sistematizada, pues esto permitirá identificar los logros o las dificultades durante la implementación del curso.

En términos de eficiencia y eficacia, propias de la calidad educativa, existen organismos evaluadores que establecen algunos criterios para la certificación o a acreditación de los programas educativos como ofertas educativas de calidad.

No obstante, estos procesos de evaluación suelen ser más técnicos y burocráticos, misma características que reducen la oportunidad de visualizar las áreas de oportunidad de la oferta educativa; esta idea es importante, porque a decir de los expertos, cada oferta educativa que se diseña y propone necesita de un sistema de evaluación especifico, debido a que responde a demandas y necesidades socioeconómica y educativas particulares de una región.

Un modelo genérico y único de evaluación únicamente nos proporcionara la estandarización de alguna experiencia educativa, esto sin considerar la diversidad cultural, educativa y económica.

A pesar de que los criterios de evaluación que se establecen son elementales, los aspectos tecnológicos, de infraestructura, pedagógico-didácticos y curriculares son relativos al contexto y la población a la que se dirige la oferta educativa.

¿Para qué se evalúa?

Todo proceso de evaluación se podría concretar en una propuesta de innovación, sin embargo cuando se refiere a procesos de evaluación los reconocimientos de calidad están a la orden y prioridad de las instituciones de educación superior.

Para González (2004) la calidad en términos educativos es entendida como un constructo valorativo de tres dimensiones que son la funcionalidad, eficacia y eficiencia, sistemas y centros educativos.

Calidad es evidentemente una categoría muy amplia y compleja de definir, aunque se sabe que proviene de un campo empresaria, la calidad educativa en las instituciones de educación superior, según González (2004) tiene tres enfoques.

En el primer enfoque, se entiende la calidad en términos de eficiencia, es decir tiene que ver con el que estudiante haya aprendido lo que realmente se había determinado que aprendiera en un tiempo determinado; una forma de verifica que esto suceda es en función de la asistencia (educación presencial) o acceso (educación virtual).

Un segundo enfoque la calidad se entiende en términos de relevancia, es decir que los contenidos que se seleccionan respondan a las necesidades del alumno, esto con el fin de desarrollar habilidades, actitudes, aptitudes y saberes en el estudiante.

Finalmente un tercer enfoque se entiende la calidad en término de los procesos y medios, es decir implica que el sistema proporcione al estudiante los medios y recursos necesarios para que desarrolle su experiencia educativa en las mejores condiciones; este aspecto dependerá del ambiente de aprendizaje que se refiera, ya sea presencial o virtual.

En conclusión, la calidad de la educación superior integrado por cinco componentes fundamentales (Figura 4.) hablamos de contexto social y económico que responde a las demandas y necesidades sociales y educativas de la comunidad a la que se refiera.

El segundo componente tiene que ver con las metas y objetivo, en este participa tanto la institución y sus políticas educativas, como el proyecto educativo concretado en el modelo educativo.

También requiere de un capital humano (entradas en el sistema, de un proceso y un producto; estos últimos dos se refieren a las funciones administrativas de gestión institucional, así como a la producción científica, educativa y cultural.



Figura 4. Componentes para la calidad de la educación superior, recuperado de González, 2004, pág.18)

Propuesta metodológica

El instrumento rediseñado se conforma de cinco categorías principales, estas son propuesta curricular, diseño didáctico-tecnopedagogico, docente, rol del estudiante. Cada una de las categorías responde algunos lineamientos generales, que se emplean para evaluar en lo que corresponde al nivel 1; este nivel lo que valora es el nivel de satisfacción del estudiante en relación a la experiencia educativa en la cual participo, por lo tanto la propuesta del rediseño está en función de valorar la calidad de la oferta educativa en línea, en este caso se trabajó en el rediseño de un instrumento para la evaluación del curso que se imparte actualmente en la Facultad de Derecho.

Las categorías se definieron de cuerdo al análisis de datos cualitativos principalmente de dos fuentes de información, la primera se obtiene de la revisión de dos instrumentos de evaluación para una oferta educativa a distancia, y una segunda fuente fue a partir del análisis de las entrevistas con expertos en esta modalidad de enseñanza-aprendizaje.

El instrumento consta de 44 ITEMS en total, de los cuales se distribuyen en 20 subcategorías (Figura 5); su medición será a través de una escala Likert, únicamente considerando 4 nivel de evaluación (Nunca, pocas veces, casi siempre y siempre), esta escala nos permitirá ser más objetivos en cuanto a las respuestas de los alumnos en función de su experiencia formativa.

El rediseño del instrumento se integra principalmente de componentes cualitativos, esto nos permite indagar y comprender a profundidad las áreas de oportunidad que pueda tener la oferta educativa a evaluar; sin embargó es importante mencionar que solo este instrumento evalúa únicamente un nivel, por lo que es dispensable diseñar un instrumento para cada nivel de los propuestos anteriormente, y función de las características de cada oferta educativa.

Categoría	Subcategoría	ITEMS
Propuesta curricular	Experto responsable del diseño	4
	Modelo pedagógico-didáctico	
	Propósito del curso	
Diseño didáctico-tecnopedagógico	Actividades	16
	Metodología	
	Instrumentos de evaluación	
	Interactividad	
	Contenido	
	Recursos multimedia	
Docente	Habilidades de interacción y comunicación en entornos virtuales	11
	Mediación en los entornos de enseñanza y aprendizaje	
	Dominio del tema	
	Dominio tecnológico	
Rol del estudiante	Aprendizaje	3
	Estrategias	
Plataforma	Usabilidad	10
	Disponibilidad	
	Interoperabilidad	
	Seguridad	
	Interfaz	
Total		**44**

Figura 5. Matriz de categorías del instrumento rediseñado, elaboración propia, 2019.

Discusión y conclusiones

La introducción de la Tecnología de la Información y Comunicación (TIC) en la educación ha llevado a la generación de procesos educativos en modalidades y sistemas de enseñanza mediadas por tecnologías. Este fenómeno ha llevado a la necesidad de que docentes y estudiantes desarrollen competencias digitales para interactuar en ambientes virtuales de aprendizaje. El diseño instruccional es de especial importancia para la creación de ambientes de aprendizaje mediados por TIC, ya sea en modalidad presencial o mixta, y particularmente, en la modalidad virtual. En los resultados del presente estudio se identificó la importancia del rol del docente para la calidad de un curso en línea, por lo tanto, es importante hacer énfasis en la formación de los profesores en aspectos relacionados con el desarrollo de las competencias docente, así como la capacitación en las funciones de diseñador y facilitador en estos ambiente de aprendizaje.

Es importante contar con estrategias de evaluación adecuadas para valorar el nivel de aprendizaje en los participantes. En el caso de la evaluación de una oferta educativa en modalidad a distancia, es indispensable reconocer que en el nivel de evaluación sobre la calidad del curso, requiere atenderse los resultados de aprendizaje de los participantes (nivel de logro respecto de los objetivos de aprendizaje esperados) así como su opinión sobre el diseño e implementación del curso.

También se logró identificar algunas de las tendencias educativas en cuanto al diseño de las ofertas educativas, una de ellas es el hecho de que los procesos de enseñanza-aprendizaje son más dinámicos e interactivos en lo que compete a las nuevas generaciones, por lo que los recursos visuales y gráficos son una buena estrategia para contribuir a su aprendizaje.

También se recomienda atender a una adecuada temporalidad del programa educativo. Según los expertos mencionan que la deserción es muy frecuente en esta modalidad (virtual), debido a la falta de la figura docente y control presencial de los procesos educativos; aunado a esta idea se argumenta que los jóvenes se encuentran inmersos en una cultura digital que no ha permitido educar en las competencias necesarias para que los jóvene puedan aprovechan las TIC como herramientas innovadora para su aprendizaje, así como la interacción en espacios de aprendizaje alternativos a los modelos tradicionales.

En lo que corresponde al rediseño del instrumento presentado en el documento, nos referimos como una propuesta que considera algunos criterios generales y específicos, establecidos por algunos organismo internacionales de evaluación de una oferta educativa a distancia; así mismo aclarar que esta propuesta aún se encuentra en valoración por jueceo de algunos expertos en este campo disciplinar; por lo que la investigación se continuará, con el propósito de obtener mejores resultados en lo que compete al diseño de instrumentos de evaluación para una oferta educativa en modalidad a distancia.

Agradecimientos

Hacemos un reconocimiento al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro por apoyar esta investigación, así como a la Universidad Autónoma de Querétaro; quien a través de la Dirección de Investigación y Posgrado promueve la investigación en estudiantes universitarios, durante su estancia en 21° Verano de la Ciencia- UAQ 2019

Referencias bibliográficas

CREAD y CALED, (2015), el proceso de garantía de calidad para la educación en línea y a distancia OLC/CALED tarjeta de puntuación (SCCQAP), evaluación de programas de pregrado en línea, Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador. Recuperado de http://www.caled-ead.org/es/tarjeta-OLC-CALED

Durán, M.,(2014), diseño y validación de un instrumento de evaluación para la certificación de la competencia TIC del profesorado universitario. Universidad de Murcia, España.R ecuperado de https://es.calameo.com/read/0040507873fc95db17ae3

González, I. (2004). Calidad en la Universidad evaluación e indicadores [Adobe Acrobat Reader]. Recuperado de https://books.google.com.mx/books?id=bDuGdMpO1ZUC&pg=PA17&lpg=PA17&dq=dendaluce+1991%2Bcalidad

+educativa&source=bl&ots=yg_8T4EV3n&sig=ACfU3U2T5M8dvMvXQg10fsqLkJrVFsAsVg&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjo087X8v3jAhUHPq0KHf2ED2cQ6AEwAHoECAcQAQ#v=onepage&q&f=false

Guzmán, T., Escudero, A., Ordaz, T., Chaparro, R.,y García, T. (2016).Sistema Multimodal de Educación principios y lineamientos de la educación a distancia, abierta y mixta de la Universidad Autónoma de Querétaro. Dirección de Educación a Distancia e Innovación Educativa. Recuperado de https://www.uaq.mx/docsgrales/informatica/Sistema-Multimodal-de-educacion-UAQ.pdf

Navarro, E., Jiménez, E., Rappopot, S. y Thoilliez, B. (2017). Fundamentos de la Investigación y la innovación educativa [Adobe Acrobat Reader].Recuperado de https://drive.google.com/drive/u/0/folders/1laAr4iXKDZyhhoyKfMwtER_i8mpGDnlI

UAQ. (2017). Modelo Educativo Universitario. Dirección de Planeación de la Universidad Autónoma de Querétaro [Adobe Acrobat Reader]. Recuperado de https://planeacion.uaq.mx/docs/meu/El-Modelo-Educativo-Universitario-MEU.pdf

Sampieri, R., Collado, C. y Lucio, P. (2014). Metodología de la investigación [Adobe Acrobat Reader].Recuperado de https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf

Zarzar, C. (2009).10 habilidades básicas para la docencia (Adobe Acrobat Reader].Recuperado de https://caricaturahistorica.files.wordpress.com/2013/12/habilidades-basicas-para-la-docencia.pdf

Prevalencia de conducta suicida adolescente y sus características.

Autor: Karla Sugey González Zamora, Asesor: Pamela Garbus[1]

Resumen

Esta investigación tiene como objetivo general conocer la prevalencia de conducta suicida en estudiantes de escuelas secundarias públicas de San Juan del Río, Querétaro, así como conocer las características de dicha problemática y su relación con factores psicológicos y psicosociales. Se trata de un estudio epidemiológico con enfoque cuantitativo de corte transversal, cuyo diseño y alcance es exploratorio, descriptivo y correlacional. Para la recolección de datos se administró un cuestionario autoaplicable y anónimo, a una muestra representativa de adolescentes que se encontraban cursando el nivel medio en San Juan del Río, Qro. Se encontró una alta prevalencia de conducta suicida (20.8%). Se halló una relación significativa predictora con los factores de riesgo depresión, impulsividad, consumo de alcohol, marihuana e inhalables, problemas económicos y como factores protector los recursos de apoyo. Esto confirma la importancia y la urgencia de llevar a cabo planes específicos en torno a la promoción, prevención y atención de problemáticas suicidas en la región.

PALABRAS CLAVE: Prevalencia de conducta suicida, factores psicológicos, factores psicosociales.

Summary

This research has as general objective to know the prevalence of suicidal behavior in students of public secondary schools of San Juan del Río, Querétaro, as well as to know the characteristics of said problem and its relation with psychological and psychosocial factors. This is an epidemiological study with a quantitative cross-sectional approach, whose design and scope is exploratory, descriptive and correlational. For the data collection, a self-applying and anonymous questionnaire was administered to a representative sample of adolescents who were in the middle level in San Juan del Río, Qro. A high prevalence of suicidal behavior was found (20.8%). A significant predictive relationship was found with the risk factors depression, impulsivity, alcohol consumption, marijuana and inhalants, economic problems and as a protective factor the support resources. This confirms the importance and urgency of carrying out specific plans around the promotion, prevention and attention of suicidal problems in the region.

KEY WORDS: Prevalence of suicidal behavior, psychological factors, psychosocial factors.

Introducción

Cada año un millón de personas se quitan la vida, lo que supone una tasa de mortalidad global de 16 por cada 100,000 o una muerte cada 40 segundos; en los últimos 45 años las tasas de suicidio han aumentado en un 60% a nivel mundial y es una de las tres primeras causas de defunción entre las personas de 15 y 44 años en algunos países, y la segunda causa en el grupo de 10 a 24 años; estas cifras no incluyen las tentativas de suicidio que se calcula 20 veces más frecuentes que los casos de suicidio consumado. Se estima que a nivel mundial el suicidio representó el 1,8% de la carga global de morbilidad en 1998, y que en 2020 se incrementará la cifra a 2,4%. Pese a que las mayores tasas de suicidio se han registrado entre varones de edad avanzada, las tasas entre los jóvenes han ido en aumento, de hecho, actualmente son el grupo de mayor riesgo en un tercio de los países tanto en el mundo desarrollado como en el mundo en desarrollo (OMS, 2017).

Los trastornos mentales, especialmente la depresión y los trastornos por consumo de alcohol, son un importante factor de riesgo de suicidio en algunos países, mientras que en otros tiene especial importancia la conducta impulsiva. El suicidio es un problema complejo en el que intervienen factores

[1] Coordinadora de la MSMIA-UAQ, msmia.uaq@gmail.com. Este estudio se realizó en el marco de la MSMIA con financiamiento FOFI y gracias a la obtención de una beca de rectoría para la realización de la maestría.

psicológicos, sociales, biológicos, culturales y ambientales (OMS, 2017).

Los intentos de suicidio implican un alto costo social y económico para las comunidades, en parte por la utilización de servicios de salud ya sea para tratar las lesiones o por el impacto psicológico y social del comportamiento en el individuo y sus asociados, así como a la discapacidad a largo plazo que ocasionalmente ocurre debido a la lesión (OPS, 2014).

Personal que labora en centros de atención pública de la salud mental mencionan que en San Juan del Río es cada vez mayor el índice de intentos suicidas y suicidio consumado, sin embargo, existe una ausencia de investigaciones o estudios que reflejen la realidad de esta situación (Avendaño, 2017). Se desconoce la prevalencia de la problemática suicida en los adolescentes de San Juan del Río.

Es imperativo conocer la situación actual en torno al suicidio en los adolescentes, pues esta es la vía más efectiva para poder realizar programas de prevención, promoción y atención en salud mental. Al momento no se cuenta con programas de salud mental para adolescentes en San Juan del Río a pesar de que éstos han referido tener sentimientos de tristeza, nerviosismo, ansiedad, estrés o haber tenido pensamientos negativos y que quienes han recibido algún tipo de atención lo ha hecho de manera privada (Garbus, Morales & Cabello, 2016).

Tener datos sobre la prevalencia de conducta suicida es de vital importancia para poder implementar un plan específico de prevención del suicidio y la adecuada atención de la problemática (OPS, 2014). El intento suicida se considera un antecesor del suicidio consumado y por ello tener información al respecto puede ayudar a salvar vidas.

La OMS (2019) menciona que los datos sobre el suicidio e intentos de suicidio son insuficientes, lo que constituye un obstáculo en la planeación de estrategias eficaces en la prevención que requieren la vigilancia y seguimiento de los suicidios y los intentos de suicidio. Las diferencias en los patrones de suicidio, los cambios en las tasas, características y métodos de suicidio, ponen de relieve la necesidad de mejorar la integridad, calidad y oportunidad de los datos concernientes al suicidio.

Indagar la prevalencia de ideación y conducta suicida en la población adolescente es de gran importancia, debido al aumento de la problemática suicida en los últimos años tanto a nivel mundial como a niveles locales. Además, la adolescencia representa un periodo en el cual existe la oportunidad de corregir problemas que hayan podido surgir en los 10 primeros años de vida. Se pueden llevar a cabo intervenciones que mitiguen los efectos negativos a largo plazo de violencia o maltrato que eviten que afecten a la salud en el futuro.

Otro aspecto importante es que hasta un 50% de los trastornos de salud mental se manifiestan por primera vez a los 14 años, aunque la mayoría de los casos no se reconocen o se tratan, lo que tiene consecuencias graves a largo plazo en relación con la salud mental (OMS, 2014).

Objetivo general

Identificar la prevalencia de conducta suicida alguna vez en la vida en estudiantes de escuelas secundarias públicas de San Juan del Río, Querétaro, y su relación con factores psicológicos y psicosociales.

Objetivos específicos

1. Identificar la prevalencia de conducta suicida alguna vez en la vida.

2. Identificar la prevalencia de conducta suicida alguna vez en la vida por nivel de marginación y tipo de escuela.

3. Describir y analizar las características específicas de conducta suicida alguna vez en la vida por sexo.

4. Identificar, describir y analizar la relación existente entre conducta suicida alguna vez en la vida con factores psicológicos: Autoestima, locus de control, impulsividad, respuestas de enfrentamiento ante estresores familiares y depresión.

5. Identificar, describir y analizar la relación existente entre conducta suicida alguna vez en la vida con factores psicosociales: datos sociodemográficos,

relación con la madre, relación con el padre, estrés cotidiano social, recursos de apoyo, consumo de alcohol y consumo de drogas alguna vez en la vida.

Metodología

El presente es un estudio epidemiológico con enfoque cuantitativo de corte transversal, cuyo diseño y alcance es exploratorio, descriptivo y correlacional.

La población de esta investigación se compone los adolescentes que se encuentran cursando el nivel medio en secundarias públicas de San Juan del Río, Qro. El universo consta de 13,371 alumnos.

Para llevar a cabo este estudio se contó con autorización y apoyo de USEBEQ. Dicho organismo proporcionó los datos para la elaboración de la muestra y los permisos para ingresar a las escuelas con el fin de cumplir con los objetivos de este estudio.

Para obtener una muestra representativa de estudiantes, considerando cada comunidad del municipio, la misma fue estratificada y bietápica por conglomerados. En cada comunidad la variable de estratificación fue nivel de marginación de la zona en la que se encuentra la escuela y el tipo de escuela. La primera etapa fue para la selección de las escuelas y, la segunda, los grupos de estudiantes dentro de ellas.

La muestra se calculó con un margen de error de 3% y una confiabilidad del 95% a través de STATA. El número de participantes requerido fue de 992 adolescentes hombres y mujeres de 12 a 16 años de edad pertenecientes a escuelas generales, técnicas y telesecundarias de diferentes comunidades de San Juan del Río, Querétaro y cuyo nivel de marginación comprendía bajo, medio, alto y muy alto.

Instrumento

Para la recolección de datos se administró un cuestionario autoaplicable y anónimo, a una muestra representativa de adolescentes que se encontraban cursando el nivel medio (secundaria) en San Juan del Río, Qro. El instrumento, Cuestionario de Indicadores Psicosociales para Depresión y Riesgo Suicida (CIP-DERS) construido por Catalina González-Forteza y colaboradores (2017), está validado y estandarizado para la población mexicana.

Procedimiento

1. Se diseñó la muestra en dos etapas: en la primera seleccionando al azar las escuelas en las que se aplicó el instrumento; en la segunda, se seleccionaron los grupos dentro de ellas.

2. Se llevó a cabo una reunión informativa con los directores de las secundarias públicas de San Juan del Río que fueron previamente seleccionadas, con el fin de dar a conocer el modo de trabajo y el objetivo de este estudio.

3. Posteriormente se proporcionó a las escuelas seleccionadas para participar, el consentimiento informado para que fuera entregado a los padres de los estudiantes de los grupos seleccionados, el cual se solicitó ser firmado por al menos uno de los padres del estudiante.

4. El día de la aplicación del instrumento se seleccionaron los grupos participantes al azar y contestaron el cuestionario sólo aquellos alumnos que entregaron el consentimiento informado firmado por sus padres y que asintieron su participación. A los alumnos que deseaban participar pero por algún motivo no contaban con el consentimiento de sus padres, no se les aplicó el instrumento. El consentimiento informado no se relaciona de ninguna forma con el instrumento aplicado al estudiante, de esta manera se garantiza el anonimato.

El levantamiento de datos comenzó el día 5 de septiembre y finalizó el 17 de septiembre del 2018. Se visitaron un total de 23 escuelas, 16 de ellas en la primera selección de escuelas y 6 más seleccionadas como escuelas de respaldo o “back up”. Se aplicó el cuestionario a tres salones por escuela lo que da un total de 69 grupos, obteniendo así la cuota de 992 instrumentos aplicados.

La participación fue voluntaria habiendo solicitado el asentimiento de cada alumno una vez que se explicó el propósito de su participación y la naturaleza de la investigación de la que formó parte, de esta manera se ha garantizado su principio de libertad. Así mismo, antes de la aplicación del instrumento se solicitó a los padres o tutores su autorización para la participación de su hijo/a, a través de un consentimiento informado

que señaló a detalle los pormenores del estudio, sus objetivos, alcance y metodología.

Resultados

El 20.8% de los adolescentes refirieron haberse hecho daño a propósito con el fin de quitarse la vida, es decir, que tuvieron alguna conducta suicida. El 4.4% de ellos fueron hombres y el 16.4% fueron mujeres.

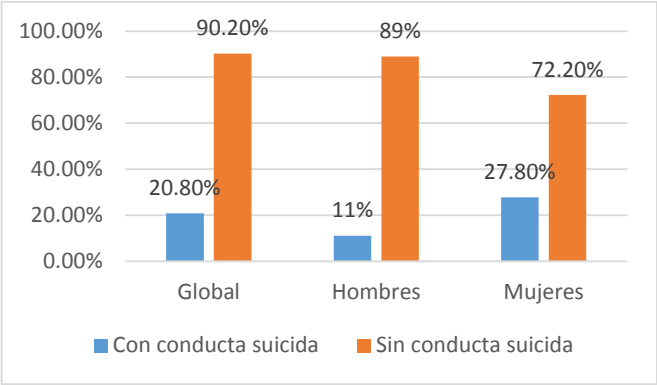


Figura 1. Prevalencia total de conducta suicida global y por sexo.

Del total de varones (n=406) el 10.6% tuvo conducta suicida, mientras que del total de mujeres (n=586) el 27.8% dijeron haber intentado quitarse la vida (Figura 1). La prevalencia en mujeres es casi tres veces mayor que en los hombres.

La prevalencia de conducta suicida alguna vez en la vida de acuerdo al nivel de marginación se puede observar en la Figura 2 que muestra porcentajes de acuerdo al número de participantes de cada nivel, se observa que se presenta mayor conducta suicida en los niveles de marginación muy bajo y alto, estas diferencias son significativas (x^2=10.152; gl=3; p=0.017).

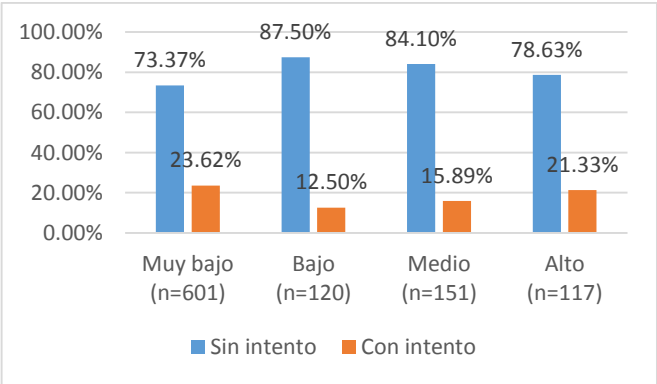


Figura 2. Conducta suicida y nivel de marginación

La prevalencia de conducta suicida alguna vez en la vida en relación al tipo de escuela también obtuvo diferencias significativas (x^2=8.258; gl=2; p=0.016), los resultados se muestran en la Figura 3 en porcentajes de acuerdo a los participantes de cada tipo de escuela en donde se observa mayor conducta suicida en los tipos de escuelas general y técnica.

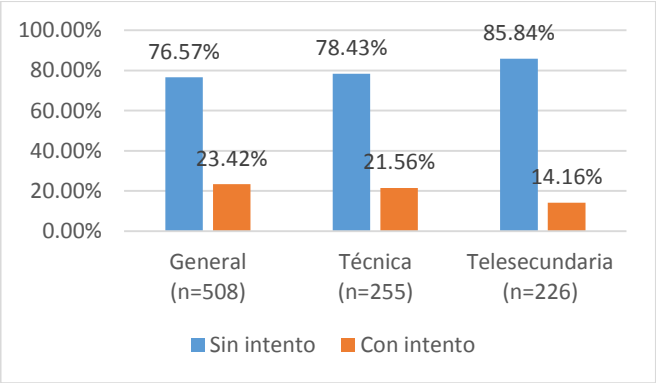


Figura 3. Conducta suicida y nivel de marginación.

En cuanto a las características de la conducta suicida se encontró que la edad en que ocurrió el primer intento (Tabla 1), 2% refirió haberlo hecho a los 10 años, 4.6% a los 11, 7.4% a los 12 y 3% a los 14 años. Por otro lado, la edad de la última vez que hubo un intento, 2% contestó que a los 11 años, 5% a los 12, 6.3% a los 13 y el 3.1% a los 14 años. La distribución por sexo es distinta, en la tabla se puede observar que la edad de última o única vez de intento en los varones es más frecuente a los 11 y 13 años, mientras que en las mujeres la edad más frecuente de última o única vez que realizó un intento es a los 13 años.

Tabla 1. Edad de última conducta suicida

Edad	Porcentaje Hombres (n=35)	Porcentaje Mujeres (n=152)
5	2.6%	0%
7	2.6%	1.3%
8	2.6%	0.7%
9	0%	2%
10	2.6	3.3%
11	**28.6%**	11.2%
12	22.9%	27%
13	**28.6%**	**34.2%**
14	8.6%	18.4%
15	0%	2%

También se observa que algunos adolescentes contestaron haber intentado quitarse la vida a edades muy tempranas: 5, 7, 8 y 9 años de edad.

El método más empleado para tratar de quitarse la vida fue cortándose, con un 67.4%; seguido del 8.8% que consumieron medicamentos o sustancias como cloro o solventes; 5.7% de los adolescentes tenían en mente realizar un acto, pero se detuvieron; 2.6% encajaron un objeto punzocortante en estómago o pecho; 2.1% se golpearon o azotaron con fuerza; 1.6% intentaron consumiendo grandes cantidades de alcohol u otras drogas; otro 1.6% lo hicieron con las manos; 1.6% intentó la asfixia; 0.5% se aventó de un lugar algo; 0.5% dejó de comer; 0.5% utilizó una cuerda; el 7.3% no contestó.

En cuanto a los motivos que llevaron a los adolescentes a cometer un acto con el fin de quitarse la vida, ellos contestaron de la siguiente manera: 20.7% dijo haberlo hecho por problemas familiares; de igual manera el 20.7% reportó haberse sentido muy triste, enojado(a), solo(a) o desesperado(a); 9.8% dijo sentir que no le importaba a nadie, no le importaba a nadie, no se sentía amado o se sentía un estorbo; 6.2% mencionó que ya no podía más, no podía seguir adelante; 5.7% lo hizo por moda o curiosidad; 4.1% contestó que quería morir; 3.6% sentía que no valía, que era un fracaso; otro 3.6%

Tabla 2. Método empleado para quitarse la vida

Método empleado para intento suicida	Porcentaje total
Cortándose	**67.4%**
Medicamento u otras sustancias como cloro, inhalando tóxicos.	**8.8%**
Tenía en mente hacer…	**5.7%**
Encajando un objeto punzocortante	2.6%
Golpeándose/ azotándose	2.1%
Consumiendo alcohol o drogas	1.6%
Con las manos	1.6%
Por asfixia	1.6%
Aventándose desde un lugar alto	0.5%
Dejando de comer	0.5%
Con una cuerda	0.5%
No contestó	7.3%

vivió el fallecimiento de alguien cercano; 3.1% dijo que no sabía lo que hacía; 2.6% lo hizo por sufrir bullying; 2.6% más quería sentir alivio o desahogarse; otro 2.6% sentía que no le comprendían; 2.1% dijo que no le encontraba sentido a la vida; también un 2.1% reportó sentir que su familia estaría mejor sin ellos(as); 2.1% lo hizo por una pareja, mientras que el 1.6% fue por un amigo(a); 1.6% lo hizo por un evento en particular que ocurrió en sus vidas; 1% no iba bien en la escuela; 0.5% reportó haber sufrido de abuso sexual.

En cuanto a la letalidad de la conducta suicida el 23.3% quería dejar de vivir/quería morir; 47.6% contestó que no le importaba si vivía o moría y el 29.1% quería seguir viviendo.

En cuanto a las veces que han intentado quitarse la vida el 4.6% respondió haberlo hecho una vez, mientras que el 14.6% lo hizo dos o más veces.

Para la pregunta "Pensaste que tu muerte era: 1. Segura, sabía que moriría; Posible, no sabía si moriría o viviría; Imposible: Sabía que no moriría" los porcentajes generales fueron 4.1%, 57.4% y 38.5% respectivamente. En cuanto al porcentaje por sexo, de los varones que contestaron esta pregunta (n=36) 2.8% creyó que su muerte era segura, 58.3% que era posible y el 38.9% que era imposible, mientras que en las mujeres que contestaron (n=159), 4.4% creyó que su muerte era segura, 57.2% que era posible y 37.7%, imposible.

La relación entre conducta suicida y factores psicológicos se puede observar en la tabla 3.

Tabla 3. Regresión logística con factores psicológicos

Factores psicológicos	Sig.	OR
Autoestima	.352	.976
Locus de suerte	.055	.909
Locus afectivo	.571	1.028
Locus interno	.765	.984
Impulsividad	**.020**	**1.080**
Respuesta ante estresores	**.023**	**1.061**
Sintomatología depresiva	**.000**	**1.037**

Los factores psicológicos que se asocian significativamente con la conducta suicida aumentando la probabilidad de que se lleve a cabo son: "Impulsividad" (OR= 1.080; $p \leq .050$), "Respuesta de enfrentamiento ante estresores familiares o sociales"

(OR= 1.061; p≤ .050) y "Sintomatología depresiva" (OR= 1.037; p≤ .001). Por lo tanto estos se consideran factores predictores de riesgo (Tabla 3).

Los factores sociodemográficos que se asocian significativamente con la conducta suicida alguna vez en la vida (Tablas 4) aumentando la probabilidad de que se lleve a cabo son: "Edad (13 años)", aumentando 5 veces el riesgo (OR= 5.161; p≤ .050); "Cuántos hermanos tienes vivos (uno)", aumentando casi 9 veces el riesgo (OR= 8.653; p≤ .050); "Cuántos hermanos tienes vivos (dos)", aumentando 8 veces el riesgo (OR= 8.163; p≤ .050); "Cuántos hermanos tienes vivos (tres)", aumentando el riesgo 9 veces (OR= 9.393; p≤ .050); "Cuántos hermanos tienes vivos (cuatro)", aumentando el riesgo 9 veces (OR= 9.222; p≤ .050); "Cuántos hermanos tienes vivos (cinco)", aumentando el riesgo 26 veces (OR= 25.886; p≤ .050); "Cuántos hermanos tienes vivos (seis)", aumentando el riesgo 42 veces (OR= 42.246; p≤ .050); "Discusiones por falta de dinero (casi siempre)", aumentando el riesgo 4 veces (OR= 3.880; p≤ .050); y "Discusiones por falta de dinero (siempre)", aumentando el riesgo 5 veces (OR= 4.818; p≤ .050).

Tabla 4. Regresión logística con datos sociodemográficos

Datos sociodemográficos	**Conducta suicida**	
	Sig.	OR
Sexo (hombre)	**.000**	**.229**
Edad (13)	**.019**	**5.161**
Hermanos vivos		
Uno	**.020**	**8.653**
Dos	**.024**	**8.163**
Tres	**.019**	**9.393**
Cuatro	**.031**	**9.222**
Cinco	**.003**	**25.886**
Seis	**.009**	**42.246**
Lugar de hermano		
Segundo	**.012**	**.507**
Aporta papá	**.049**	**.428**
Discusiones dinero		
Casi siempre	**.005**	**3.880**
Siempre	**.043**	**4.818**

Los factores sociodemográficos que se asocian significativamente con la conducta suicida (Tabla 4) actuando como factores protectores son: "Sexo (ser hombre)" disminuyendo el riesgo 3 veces (OR= .229; p≤ .001); "Lugar que ocupas entre tus hermanos (segundo)" disminuyendo el riesgo a la mitad (OR= .507; p≤ .050); y "Aporta dinero papá o padrastro", disminuyendo el riesgo más de la mitad (OR= .428; p≤ .050).

Los factores psicosociales que se asocian significativamente con la conducta suicida alguna vez en la vida (Tabla 5) aumentando la probabilidad de que se lleve a cabo y actuando como factores predictores de riesgo son: "Consumo de alcohol", aumentando más de 2 veces el riesgo (OR= 2.363; p≤ .001); "Consumo de marihuana", aumentando casi 2 veces el riesgo (OR= 1.765; p≤ .050); "Consumo de inhalables", aumentando 3 veces el riesgo (OR= 2.926; p≤ .001); y "Estrés cotidiano social" (OR= 1.091; p≤ .001).

El factor psicosocial "Recursos de apoyo" (OR= .921; p≤ .001) se asocia significativamente con el intento suicida actuando como factor predictor protector (Tabla 5).

Tabla 5. Regresión logística con factores psicosociales.

Factores psicosociales		
	Sig.	**OR**
Relación mamá	.465	.989
Relación papá	.768	.997
Recursos de apoyo	**.001**	**.921**
Situación económica familiar	.824	1.004
Consumo d/alcohol	**.000**	**2.363**
De marihuana	**.043**	**1.765**
De inhalables	**.000**	**2.926**
De cocaína	.624	.802
De crack o piedra	.072	2.361
De tachas o éxtasis	.335	.600
De tabaco	.316	1.259
Estrés cotidiano social	**.000**	**1.091**

Discusión y conclusiones

El objetivo principal de esta investigación fue conocer la prevalencia de conducta suicida alguna vez en la vida en los estudiantes de secundaria en San Juan del Río, al respecto se encontró un 20.8%, dato similar al obtenido en Campeche utilizando el mismo instrumento (González-Forteza et al., 2015). En comparación la prevalencia de conducta suicida

en este estudio es dos veces mayor. Esta prevalencia es muy alta, lo que argumenta lo reportado por la OMS (2017) en relación al aumento de problemática suicida en la población más joven.

Se debe tomar en cuenta, que dado el proceso de la problemática suicida comienza teniendo pensamientos sobre la propia muerte y va evolucionando hasta desencadenar la conducta suicida que incluye autolesiones e intentos (Maris, 2019), el hecho de que 2 de cada 10 adolescentes sanjuanenses presente conducta suicida es un indicativo de una situación por demás delicada, el intento suicida es el factor de riesgo individual más importante para el suicidio consumado (OMS, 2019).

La relación de mujeres y hombres con conducta suicida fue de 3:1, tal como se ha mencionado en otras fuentes (Chávez-Hernández et al., 2015). Queda mucho por investigar a este respecto, indagar por este sentido sería muy oportuno para poder combatir la problemática suicida en las mujeres.

La prevalencia de conducta suicida por nivel de marginación fue más elevada en los niveles muy bajo y alto, con diferencias significativas con los otros niveles (bajo y medio) es decir, que aquellos sectores con mayores oportunidades de servicios y de desarrollo económico y aquellos que en contraste viven en situación de vulnerabilidad, son quienes se encuentran en mayor riesgo de presentar problemáticas suicidas.

Al respecto en un estudio sobre financiamiento de la salud mental en Chile (Errázuriz, et al., 2015) se menciona que la depresión es hasta dos veces más frecuente en las personas que tienen un nivel socioeconómico bajo y que la pobreza es un factor que contribuye significativamente al desarrollo de enfermedades mentales en general. Sin embargo, también la prevalencia es alta en el nivel bajo de marginación lo que podría atribuirse a la manera en que los adolescentes perciben su realidad. Sería altamente recomendable indagar a mayor profundidad sobre el nivel de marginación y la problemática suicida en los adolescentes y poder determinar cuáles son los factores estresantes a los que se enfrentan en cada nivel.

En cuanto al tipo de escuela la prevalencia de conducta suicida es mayor en la escuela general, seguido por una alta prevalencia también en escuela técnica. Al respecto aún faltaría mucho por indagar en relación al tipo de escuela y la relación que tiene con la problemática suicida.

Hablando sobre la letalidad del intento suicida, uno de los datos importantes al respecto, era el saber cuál era la intención del adolescente que manifestó haber tenido intento suicida y si creía que su muerte era segura. De acuerdo a los resultados, en promedio el 66.2% de los participantes buscaban la muerte o no les importaba si vivían o morían, además de creer que su muerte era, ya sea segura o posible. El 29.5% recibió ayuda profesional después del intento. Tres cuartas partes de los que intentaron quitarse la vida, habían tenido al menos un intento previo, lo que coincide con los datos reportados en el estudio sobre ideación y tentativa suicida en Guanajuato (Chávez-Hernández et al., 2015) que menciona una cifra significativamente mayor de quienes tenían un intento previo (65.4%) a los que reportaron una única ocasión. Maris (2019) hace hincapié en que la diferencia entre el intento suicida y el suicidio consumado puede estar en la letalidad con que se comete el intento. Podría decirse que dadas las cifras tan altas recién mencionadas, la intención de quitarse la vida en muchos de los casos fue explícita, lo que una vez más invita a tomar acción con la urgencia, brevedad y determinación requerida.

En cuanto a la edad en la que ocurrió la última o única conducta suicida para las mujeres lo más reportado fue 13 años, mientras que en los varones, 11 y 13 años. La edad promedio entre estudiantes de nivel secundaria en otros estudios es similar (Chávez-Hernández et al., 2015). En el análisis de datos sociodemográficos mediante regresión logística se encontró que tener 13 años aumenta la probabilidad de conductas suicidas hasta 5 veces. Los talleres o intervenciones aplicados para la prevención de esta problemática deberían aplicarse antes de alcanzar esta edad, es decir, en los últimos

años de primaria o de ser posible antes y primer año de secundaria.

El método con el que se realizó el intento o conducta suicida se ha destacado como un dato primordial para la prevención de suicidio (OPS, 2014), lo hallado en este estudio fue que más de la mitad de las conductas suicidas fueron a través de cortarse, el segundo método más empleado, por casi una décima parte de los adolescentes, fue por medio de la autointoxicación consumiendo medicamentos u otras sustancias, dato que concuerda con lo mencionado por la OMS (2019) que habla de alrededor de un 20% de los suicidios en el mundo son por autointoxicación, la OPS (2014) ubica este método como el mayor utilizado a nivel mundial y remarca la importancia de saber los métodos más utilizados con el fin de planificar de manera adecuada la prevención, una manera es evitando que medicamentos o sustancias como solventes o venenos sean restringidos, pues muchos suicidios se llevan a cabo de manera impulsiva por lo que tener a la mano el método puede terminar en suicidio.

Por otro lado, Maris (2019) menciona el intento de suicidio no letal como una de las características del intento suicida o, en este caso, de la conducta suicida; refiere que es tentador suponer que la mayoría de los intentos realmente no buscan la muerte y por lo tanto el método elegido no es letal, también señala los motivos principales por los que se lleva a cabo un intento de suicidio no letal, como lo son escapar de una situación de vida intolerable, para castigarse a sí mismos o a otros, para reducir la tensión o aliviar la presión, para clamar por ayuda o para ceder ante impulsos. Estos motivos se asemejan a las respuestas obtenidas para este estudio en donde los adolescentes refirieron en mayor medida que habían intentado quitarse la vida por "problemas familiares", "porque se sentían muy tristes", "por sentir que no les importaba a nadie o ya no podían más con los problemas"; por otro lado, cuando se indagó sobre ¿para qué habían cometido el intento?, las categorías más mencionadas fueron: "para dejar de sufrir", "para que me hicieran caso y/o llamar la atención", "para sentir alivio", "para que ya no me humillaran y/o maltrataran".

Con lo anterior se puede dilucidar que a pesar de que algunos adolescentes no tienen una intención letal en la conducta suicida, esto no los excluye de estar pasando por situaciones de vida por demás difíciles y/o dolorosas que merecen la atención adecuada, tanto para prevenir problemáticas desde las esferas familiar y social, como para atender situaciones que estén trayendo a los adolescentes un malestar insufrible.

Las respuestas mencionadas en cuánto al por qué y para qué se realizó la conducta suicida fueron categorizadas para su análisis, resulta importante añadir que dentro de los "problemas familiares" señalados se encontraron diversas dificultades con los hermanos, dato que coincide con los resultados del análisis de datos sociodemográficos en donde a partir de la regresión logística se encontró que tener hermanos aumenta la posibilidad de la conducta suicida desde 8 veces, si se tiene un hermano, hasta 42 veces si se tienen 6 hermanos, también para la ideación suicida recién te un factor de riesgo importante fue tener 2, 3, 5 y 6 hermanos.

En contaste se encontró que ser el segundo hermano disminuye a la mitad la conducta suicida, sin duda esto abre muchas preguntas pues se puede especular que tener un hermano mayor y hermanos menores, no pone a los adolescentes en una situación de vulnerabilidad, lo que puede atribuirse a no ser el primogénito que muchas veces enfrenta la carga más pesada de los padres, sin embargo, tener varios hermanos mayores podría resultar en dejar al adolescente en una posición vulnerable.

Lo claro es que los adolescentes manifiestan de manera clara que para la conducta suicida alguna vez en la vida, los problemas familiares tienen un peso muy fuerte. La OPS (2014) menciona que las relaciones inmediatas de una persona con su familia, repercuten sobre los comportamientos suicidas, afirma que el cultivo y el mantenimiento de relaciones sanas pueden aumentar la capacidad de recuperación individual y actuar como un factor protector contra el riesgo de suicidio.

En relación a factores psicológicos y psicosociales, la depresión se reconoce como uno de los factores de riesgo más estrechamente relacionado con el suicidio (OMS, 2017). No sorprende que la sintomatología depresiva se haya detectado como factor de riesgo predictor para la conducta suicida. De manera que una forma efectiva de prevenir la conducta suicida es mediante una adecuada identificación de los signos más representativos de la depresión, así como el correcto diagnóstico de trastornos depresivos y/o mentales, un tratamiento efectivo, medidas de prevención. De manera que atacando el problema de depresión, la problemática suicida tendería a una disminución.

Otro factor de riesgo que tiene una relación de predicción significativa con la conducta suicida es la impulsividad, mencionada en la OMS (2017) como uno de los factores de riesgo asociados al suicidio, los suicidios o intentos de suicidio realizados de manera impulsiva, pueden prevenirse si se tienen datos sobre los métodos más utilizados; pues se trata de quitar del alcance de las personas con intención suicida los medios para realizar el acto (OPS, 2014); también se previenen si se indaga sobre las situaciones que vuelven más reactivos a los adolescentes, cuestión que queda sugerida para un estudio más adelante.

La respuesta de enfrentamiento ante estresores familiares o sociales también se halló como un factor de riesgo predictor de la conducta suicida, lo que habla de la capacidad del adolescente para lidiar con las situaciones problemáticas que se viven cotidianamente en la esfera familiar. Tal como se mencionó anteriormente, muchos de los adolescentes que tuvieron alguna conducta suicida como autolesiones o intento de suicidio, atravesaban problemas familiares. Diseñar diferentes tácticas para que los adolescentes puedan encontrar mejores estrategias de relación con su familia, podría convertirse en un factor protector del intento suicida y por ende del suicidio mismo.

Un dato sociodemográfico con una relación significativa predictora para la conducta suicida como factor protector es el que papá o la persona que es como papá aporte dinero a la familia, especular sobre porqué esto influye de manera positiva abre muchas posibilidades, sin embargo, la interpretación más pronta es que la figura paterna está presente y con ello probablemente también una figura de autoridad bien definida, además podría pensarse que si el padre aporta dinero, la madre tiene mayor oportunidad de estar en casa, situación que favorece a los hijos quienes no se encuentran solos siguiendo sus propias leyes de convivencia, posiblemente esto puede impedir que los hermanos sean vulnerados. Además lo anterior puede influir en que existan menos discusiones por falta de dinero, ya que éstas, según el análisis de regresión logística realizado, resultan factores predictores de riesgo tanto para la conducta suicida alguna vez en la vida. Situación que nuevamente se vincula con una relación familiar desintegrada, violenta, que como se ha visto, se convierte probablemente en el factor de riesgo más importante para la problemática suicida.

El cuanto al consumo de alcohol, éste aparece en los resultados como un factor significativo de riesgo para la conducta suicida el riesgo aumenta 2 veces, lo que puede vincularse a que el consumo de alcohol dispara la conducta impulsiva. El consumo de marihuana también resultó predictivo como factor de riesgo al respecto el hecho de que la marihuana sea actualmente de fácil acceso al estar en proceso de ser legalizada para distintos usos en diferentes países incluyendo el nuestro, deriva en un mayor consumo, existe evidencia de que el uso de marihuana en etapas tempranas de desarrollo influye de manera significativa en la salud mental provocando depresión y otros trastornos (Orozco, 2019) y es importante destacar que dependiendo de la frecuencia y la cantidad con que se consume, existe una asociación entre el consumo de marihuana y el suicidio, aumentando las posibilidades de que éste ocurra. El consumo de inhalables resultó un factor de riesgo predictivo aumentando 3 veces la posibilidad de presentar conducta suicida. La OPS (2014) menciona que existe una relación importante entre el consumo nocivo de alcohol y drogas, y todos los trastornos relacionados al mismo con el riesgo de cometer suicidio, además el riesgo de suicidio aumenta si, el uso de alcohol u otras sustancias, va

acompañado de otros trastornos psiquiátricos. Hasta un 22% de las muertes por suicidio se atribuyen al uso de alcohol, esto significa que uno de cada cinco suicidios no ocurriría si la población no consumiera alcohol. Menciona además otras drogas como marihuana, heroína o la nicotina como factores de riesgo de suicidio.

Para conducta suicida se encontró una relación muy significativa con el estrés cotidiano social, en este sentido habría que ahondar más en las situaciones específicas que producen estrés de manera cotidiana en los adolescentes y además sería necesario indagar en los recursos personales con los que cuentan para el adecuado enfrentamiento ante estos estresores.

Con los datos obtenidos en esta investigación, se cuenta con la información básica necesaria para tomar en cuenta los factores de riesgo y los factores de protección que se vinculan a la problemática suicida, lo que implica poder hacer diseño de intervención o de talleres trabajando con adolescentes con dimensiones que tienen que ver con su percepción y la manera cómo viven su realidad, es decir, factores psicológicos.

Así mismo existe mucho trabajo en relación a los factores de riesgo o de protección que se observan desde la esfera psicosocial, que podrían trabajarse de manera simultánea con padres de familia, maestros y directores, servidores públicos comunidad en general y adolescentes en torno a las relaciones familiares, el estrés cotidiano social, los recursos de apoyo, consumo de alcohol otras drogas.

Si el adolescente presenta sintomatología depresiva, impulsividad y respuesta impositiva de enfrentamiento ante estresores familiares, se trata de una población especialmente vulnerable que se encuentra en riesgo de presentar conducta suicida.

Es fundamental tomar las medidas necesarias para brindar a los adolescentes los recursos de apoyo necesarios pues resulta un factor protector que reduce la posibilidad de tener una problemática en relación al suicidio. Los recursos de apoyo pueden encontrarse en casa, en la escuela, en instituciones, con los pares, etc. Es responsabilidad de la comunidad entera fomentar este recurso para los adolescentes y la población en general.

Referencias bibliográficas

Avendaño Barajas, M.L. (25 de septiembre de 2017). *La salud mental de la infancia y la adolescencia del Estado de Querétaro desde la perspectiva de las Instituciones de salud mental.* Seminario llevado a cabo en el Auditorio de la Facultad de Psicología, Campus San Juan del Río. UAQ

Chávez-Hernández, A.M., González-Forteza, C., Juárez, A., Vázquez, D., Jiménez, A. (2015). Ideación y tentativas suicidas en estudiantes de nivel medio del estado de Guanajuato, México. Acta Universitaria. 25(6), 43-50. doi:10.15174/au2015.786

Errázuriz, P., Valdés, C. & Vóhringer, E. (2015). Financiamiento de la salud mental en Chile:Una deuda pendiente. Rev. Med Chile. 143, 1179-1186. Recuperado de https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v143n9/art11.pdf

Garbus, P, Morales, A & Cabello, L. (2016). Problemáticas de salud mental en adolescentes y prácticas de atención: el caso de San Juan del Río, Qro. VIII Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología XXIII Jornadas de Investigación Décimo Encuentro de Investigadores en Psicología del MERCOSUR. Facultad de Psicología - Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires. Recuperado de https://www.aacademica.org/000-044/270.pdf

González-Forteza, C., Juárez, C. E., Montejo, L. A., Oseguera, G., Wagner, F. A. & Jiménez, A. (2015). Ideación suicida y su asociación con drogas, depresión e impulsividad en una muestra representantiva de estudiantes de secundaria del estado de Campeche, México. Acta Universitaria Multidisciplinary Scientific Journal. 25(2), 29-34. doi:10.15174/au.2015.862

Maris, R. W. (2019). Suicidology. A Comprehensive Biopsychosocial Perspective. Guilford Press. New York.

OMS. (2017). Prevención del suicidio (SUPRE). Recuperado de http://www.who.int/mental_health/prevention/suicide/suicideprevent/es/

OMS (2019). Suicidio. Recuperado de https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/suicide

OPS. (2014). Prevención del suicidio un imperativo global. Organización mundial de la salud. Recuperado de https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/136083/9789275318508_spa.pdf%20;jsessionid=156DECBB032BEB2190B8AA37EA2B3DAB?sequence=1

Orozco, R. (2017).Impact of the study of marijuana and suicide in Mexico. Salud Mental. 40 (3), 91-92. doi:10.17711/SM.0185-3325.2017.011

Marcadores, animacidad y orden de palabras en japonés como L2

Autora: Ana Sofía Márquez Valencia
anasmv13@gmail.com
Asesora: Brenda Vargas Vega
brenda.vargas@uaq.mx
Afiliación institucional: Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

Antecedentes: El Modelo de Competición plantea que la interpretación de oraciones en una segunda lengua se rige principalmente por rasgos lingüísticos prominentes en la lengua materna (el orden de palabras, en el caso de español). Estudios basados en este modelo revelan que cuando el dominio de las dos lenguas se vuelve más balanceado, es decir, que el dominio de la segunda lengua se acerca al dominio de la primera, los hablantes se basan en rasgos que tienen más validez en la segunda lengua que en la materna. Objetivo: Determinar cuáles son los rasgos lingüísticos más utilizados por los nativo hablantes de español con diferente dominio de japonés al interpretar oraciones en japonés como segunda lengua. Hipótesis general: Los estudiantes se basarán en diferentes rasgos lingüísticos dependiendo de su nivel de japonés. Metodología: Los participantes fueron 20 nativo hablantes de español con tres distintos niveles de dominio en japonés como segunda lengua; el instrumento fue una prueba de juicio gramatical (oraciones correctas e incorrectas) enfocada en tres rasgos lingüísticos: orden de palabras, animacidad y marcadores de caso. Resultados: Contrario a lo que se esperaba, todos los participantes independientemente de su proficiencia se basan principalmente en el rasgo de animacidad en combinación con marcadores de caso. Se concluye que los participantes aún están en proceso de adquisición al interpretar las oraciones con base en el significado (hipótesis universal), pero muestran indicios de la interpretación propia de los hablantes nativos de japonés (basada en marcadores de caso).

Palabras clave

Modelo de Competición, rasgos lingüísticos, japonés como segunda lengua, marcadores de caso, animacidad, orden de palabras.

Summary

Background: The Competition Model suggests that second language sentence interpretation is primarily governed by linguistic cues salient in the mother tongue. Studies based on this model reveal that when the domain of two language becomes more balanced (i.e. that the domain of the second language resembles that of the first one) speakers base their interpretations on cues that have more force in the second language than in the first one. Objective: Determine the most used linguistic cues during sentence interpretation of second language Japanese sentences by Spanish native speakers with different domain in Japanese as a second language. General hypothesis: Participants will base their interpretations on different linguistic cues depending on their level of Japanese. Methodology: 20 Spanish native speakers with three different levels of proficiency in Japanese as a second language participated in this study; the instrument was a grammatical judgment test (correct and incorrect sentences) focused on three linguistic cues: word order, animacy and case-marking cues. Results: Opposed to what was expected, all participants based their interpretations on the animacy cue in combination with the case-marking cue, regardless of their Japanese level. It is concluded that because participants base their interpretations on meaning (universal hypothesis) they are still in the acquisition

process, showing hints, however, of the Japanese native speakers' interpretation (based on case-marking cues).

Key words

Competition Model, linguistic cues, Japanese Second Language Acquisition, case-marking, animacy, word order.

Introducción

De acuerdo al Modelo Unificado de Competición (*Unified Competition Model*) de adquisición de lenguas de MacWhinney (2017), la interpretación de enunciados de una segunda lengua (L2, de aquí en adelante) se rige por rasgos lingüísticos muy prominentes en la lengua materna (L1, de aquí en adelante). Por ejemplo, los hablantes nativos de inglés interpretan los enunciados basados principalmente en el orden de palabras debido a que el inglés es una lengua con un orden sintáctico muy estricto del tipo "sujeto-verbo-objeto" (SVO, de aquí en adelante). Una oración prototípica de esta lengua sería "John kicked the ball" (*Juan pateó la pelota*), que sigue el orden SVO porque "John" es el sujeto que realiza la acción, "kicked" es la acción (verbo) y "the ball" es el objeto directo que es afectado por "John". Las oraciones interrogativas son un buen ejemplo para resaltar la importancia que tiene el orden de palabras en inglés. Mientras que en el inglés -escrito y formal, al menos- es necesario hacer una inversión del sujeto y el verbo auxiliar en los enunciados interrogativos como en (1a y 1b), en español, el enunciado interrogativo se puede marcar solo con la entonación (2a y 2b).

(1a) Mary is walking.
María está caminando.

(1b) Is Mary walking?
¿Está caminando María?

(2a) María está caminando. (enunciado declarativo)

(2b) ¿María está caminando? (enunciado interrogativo)

Antecedentes

El Modelo de Competición de Bates *et.al.* (1982) se desarrolló originalmente para explicar la forma en la que los hablantes monolingües interpretaban oraciones. Para entender este modelo hace falta explicar sus suposiciones básicas. La primera es que los hablantes deben tener una forma para determinar las relaciones entre los elementos de una oración, y la segunda es que el procesamiento del lenguaje supone una competencia entre varios rasgos, cada uno de los cuales contribuye con una interpretación diferente de la oración (Gass & Selinker, 2008). Aunque la gama de rasgos es universal, hay algunos que son específicos de algunas lenguas (como los *marcadores de caso* en japonés, los cuales no existen en español) y otros que tienen más peso dentro de la misma lengua (mencionado anteriormente, sería el caso del inglés con el orden de las palabras, que es el rasgo lingüístico principal debido a que la lengua tiene un estricto orden sintáctico). En la adquisición de segundas lenguas, este modelo nos plantearía preguntas como: ¿Trasladamos los rasgos usados en nuestra primera lengua (L1) hacia la segunda (L2)? Si es así, ¿cuándo adquirimos aquellos apropiados para la segunda lengua? (Gass & Selinker, 2008) Estudios recientes sobre el Modelo de Competición con hablantes de inglés como L1 aprendiendo español como L2 confirman que cuando el dominio de la lengua se vuelve más balanceado, los hablantes que están aprendiendo la L2 se basan en rasgos que tienen más validez en la L2 que en su L1 (Morett & MacWhinney, 2013). De acuerdo a Gass y Selinker (2008), una posibilidad es que al interpretar oraciones en la L2, la hipótesis inicial del hablante será utilizar

los rasgos de su primera lengua, y que cuando esto falla, los hablantes se inclinarán por una tendencia que podríamos llamar *universal*: guiarse por el significado para interpretar oraciones. El Modelo Unificado de Competición de MacWhinney (2017) agrega al Modelo de Competición clásico (Bates *et.al.*, 1982) algunas características de las fuerzas que controlan la competición. Uno de los factores de riesgo para el aprendizaje de segundas lenguas del Modelo Unificado es el de *transferencia.* MacWhinney (2017) propone que cuando una L2 es aprendida, las nuevas formas de esta lengua tienen que encajar en los patrones preexistentes de la L1. Esto puede provocar transferencias positivas o negativas (correctas o incorrectas), pero de cualquier manera guiarán en un inicio a una relación de dependencia entre las formas de la L2 y los conceptos de la L1. La metodología del Modelo de Competición se basa en oraciones diseñadas con rasgos que entran en conflicto y en las que se pide a los participantes seleccionar el sujeto de la oración. Algunos argumentan que los resultados de estos estudios varían dependiendo de cuál es la primera lengua y cuál es la segunda, ya que de ambas depende el uso de los rasgos. Por ejemplo, en estudios realizados con hablantes de inglés como L1 e italiano como L2 (Gass, 1987 en Gass & Selinker, 2008), y también con inglés como L1 y japonés como L2 (Harrington, 1987; Kilborn & Ito, 1989; Sasaki, 1991, 1994 en Gass & Selinker, 2008) se encontró que para interpretar oraciones en japonés e italiano, los hablantes abandonan fácilmente el estricto uso del orden de las palabras por un rasgo basado en significado (que sería la hipótesis universal). Por otro lado, hablantes de italiano como L1 aprendiendo inglés y japonés como L2 mantienen el uso de un rasgo lingüístico basado en significado perteneciente a su L1, sin adoptar con facilidad el orden de palabras como un rasgo prominente. Esto podría sugerir una transferencia negativa debido a que tanto en inglés como en japonés, el rasgo de orden de palabras es de suma importancia. Estudios similares han mostrado que hablantes de inglés aprendiendo japonés L2 (lengua con orden SOV y gran uso de los marcadores de caso) malinterpretan frecuentemente oraciones en japonés debido a una dependencia excesiva en el orden SVO propio del inglés (Sasaki 1991 en Morett & MacWhinney, 2013). En el estudio de Figueiredo (2019) realizado en Portugal con migrantes de diferentes orígenes, se concluyó que no todas las estrategias lingüísticas son de uso viable para todas las lenguas y entornos de la L2. El estudio señaló que para los hablantes nativos de algunas lenguas asiáticas, el dominio en su L2 era particularmente deficiente y la influencia de su L1 se reflejó bastante en la producción de la L2. En general, estas investigaciones realizadas en relación con el Modelo de Competición sugieren que los hablantes aprendiendo una L2 indudablemente tienen conflictos con los rasgos lingüísticos de su L1 y su L2 al momento de interpretar oraciones en la L2.

Otros estudios, sin embargo, han encontrado transferencia positiva. Un estudio de Sasaki (1994 en Gass & Selinker, 2008) reveló que hablantes de inglés como L1 aprendiendo japonés como L2 hacen un fuerte uso del rasgo de orden de palabras (como en su L1) al interpretar oraciones en su L2, incluso antes de saber lo rígido que es el orden sintáctico en japonés. Asimismo, Morett y MacWhinney (2013) explican que como el orden SVO es canónico tanto en español como en inglés, no es sorprendente que los hablantes de inglés como L1 que están aprendiendo español como L2 puedan aplicar este rasgo tan exitosamente. La transferencia es positiva debido a que los rasgos de la L1 concuerdan con los de la L2, así estos estudios confirman la predicción del Modelo de Competición, que establece que los hablantes usan en un inicio las estrategias de su L1 para interpretar oraciones en la L2.

Aterrizando en el español, no existen muchos estudios enfocados en explorar a qué rasgos le dan más peso los hablantes nativos de español al momento de interpretar oraciones. Carreiras, Gernsbacher y Villa

(1995) realizaron un estudio sobre la importancia de la primera mención en español. En este estudio los investigadores pidieron a los participantes que seleccionaran el sujeto de oraciones. En el primer experimento presentaron oraciones en las cuales dos elementos de la oración compartían la función de sujeto, como en (3):

(3) María y Adela fueron al restaurante.

Los resultados reflejaron que los participantes reaccionaban con más rapidez a los elementos primero mencionados (en este caso María), que a los segundos (Adela). En el segundo experimento, presentaron oraciones con un orden de palabras típico (por ejemplo, "María le pegó a Diana") y un orden de palabras atípico (por ejemplo, "A Diana le pegó María"), y una vez más les pidieron a los participantes que seleccionaran el sujeto de las oraciones. Los resultados mostraron de igual manera que los participantes respondían más rápidamente que el sujeto era el primer elemento en la oración (orden SVO), lo que sugiere una preferencia por el orden de palabras. El tercer y último experimento fue con oraciones iguales a las del primer experimento, pero sin utilizar nombres propios (por ejemplo, en lugar de "Juan" utilizaron "el mesero"), ya que los nombres propios tienen más probabilidad de ser los sujetos de la oración. Este experimento ofreció resultados similares a los del primero, es decir, preferencia por elegir como sujeto el primer elemento mencionado. Para el presente trabajo nos basamos en este último estudio para suponer que aunque el orden de las palabras no es el único rasgo lingüístico utilizado para interpretar oraciones en español, sí es de suma importancia al momento de asignar el rol de sujeto en una oración. En cuanto al japonés, algunos estudios han demostrado que los nativo hablantes de esta lengua se basan en gran medida en los marcadores de caso para asignar los roles en la oración (Miyamoto, 2002 y Yamashita, 1997 en Mitsugi & MacWhinney, 2016).

No obstante, también hay estudios con resultados que no apoyan el Modelo de Competición. Por ejemplo, Ghilzai (2017) realizó una prueba con participantes nativo hablantes de japonés, urdu y persa, más un grupo control de hablantes nativos de inglés, en la que analizó la influencia de la L1 sobre el procesamiento de oraciones en la L2. Su instrumento fue una prueba con oraciones simples en inglés en las cuales había artículos gramaticalmente correctos e incorrectos. En los resultados se concluyó que no había ningún indicio de la influencia de la L1 sobre la L2 a pesar de las diferencias en las estructuras de las lenguas (es decir, diferencia en el orden de las palabras, en si hay congruencia entre el sujeto y el verbo, etc.).

Los marcadores de caso en japonés

Antes de plantear nuestros objetivos explicaremos un poco sobre los marcadores de caso en japonés. Las oraciones en japonés tienen un orden prototípico SOV, y además es un idioma que posee *marcadores de caso*, es decir, tiene marcadores que indican el sujeto, el objeto directo y el objeto indirecto de la oración (que responden a las preguntas ¿quién, qué y a quién?, respectivamente). Ejemplificamos en (4) una oración prototípica en japonés:

	SUJETO	OBJETO INDIRECTO	OBJETO DIRECTO	VERBO
(4)	watashi-**ha**	tomodachi-**ni**	purezento-**wo**	agemashita.
	Yo-**S**	amigo-**OI**	regalo-**OD**	di.

Yo le di un regalo a mi amigo.

Nótese que la "S" corresponde al marcador de sujeto, "OD" al marcador de objeto directo y "OI" al de objeto indirecto. "Ha", "wo" y "ni" son los tres marcadores de caso analizados en el presente estudio. "Ha" marca el sujeto de la oración, "wo" el objeto directo y "ni" el objeto indirecto.

Objetivos

El objetivo de este estudio es determinar en cuáles rasgos lingüísticos se basan los estudiantes mexicanos (español como L1) con diferente nivel de proficiencia en japonés como L2 para interpretar oraciones en japonés. Se elaboró una prueba para poner en competencia los tres siguientes rasgos lingüísticos: orden de palabras, animacidad y marcadores de caso (específicamente marcadores de sujeto, objeto directo y objeto indirecto) y el estudio se basó en el Modelo Unificado de MacWhinney (2017).

Hipótesis

Con base en los estudios previos, nuestras hipótesis son:

1) Los estudiantes con mayor proficiencia en japonés como L2 tendrán un mayor porcentaje de respuestas correctas en una prueba de juicio gramatical que los menos proficientes.
2) Los participantes con el menor dominio del japonés se basarán en el rasgo de orden de palabras propio del español para interpretar las oraciones.
3) Los participantes de nivel intermedio se basarán en el rasgo de animacidad (aquí interpretado como la hipótesis universal por su relación con el significado).
4) Los participantes con el mayor dominio en japonés se basarán en el rasgo lingüístico propio del japonés: los marcadores de caso.

Metodología

Participantes

Los participantes fueron 20 estudiantes de japonés del Centro de Enseñanza de Lenguas y Cultura de la Universidad Autónoma de Querétaro. Diez de ellos estaban ubicados en 2do semestre, cuatro en 4to semestre y seis en 6to semestre.

Instrumento

Se elaboró una prueba de juicio gramatical que consistió en tres partes, cada una de las cuales se enfocó en el uso de un rasgo lingüístico en específico (orden de palabras, animacidad y marcadores de caso). Cada una de las secciones contuvo 2 reactivos gramaticalmente correctos y 2 incorrectos con la finalidad de comprobar el Modelo de Competición. En las primeras dos secciones (orden de palabras y animacidad), se les pidió a los participantes que seleccionaran la oración que consideraban más correcta y que escribieran el sujeto de todas las oraciones, incluso de las incorrectas, que es donde los rasgos lingüísticos entran en conflicto. El hecho de que siempre había una oración incorrecta no se hizo explícito. En la última sección (de marcadores de caso), se les pidió a los participantes que le asignaran un rol a los tres elementos de la oración, respondiendo a las preguntas: ¿Qué se dio?, ¿A quién se le dio? Y, ¿Quién lo dio?

Ejemplos de reactivo

En la sección de orden de palabras, para la oración "incorrecta" se invirtió el orden prototípico sintáctico del japonés (de SOV a OSV) y se omitieron los marcadores de caso, mientras que en la oración "correcta" se mantuvo el orden prototípico y solo se omitieron los marcadores. A continuación encontramos ejemplos de un reactivo con su oración correcta (5) e incorrecta (6):

S O V
(5) okaasan shashin torimashita.
mamá foto tomó
Mamá tomó una foto.

O S V
(6) kuruma tanakasan aratteimasu.
coche Señor Tanaka está lavando
El coche está lavando al Señor Tanaka.

Para la sección de animacidad, en las oraciones correctas se dio a elementos animados un marcador de sujeto que afectaba a objetos inanimados con marcador de OD como en (7). Por el otro lado, en las incorrectas se dio un marcador de sujeto a elementos inanimados que afectaban a objetos animados con marcador de OD como en (8):

ANIMADO INANIMADO
(7) harukikun-ha tarea-wo shimashita.
Haruki-S tarea-OD hizo.
Haruki hizo la tarea.

INANIMADO ANIMADO
(8) shinbun-ha satousan-wo yomimashita.
periódico-S señora Satou-OD leyó
El periódico leyó a la señora Satou.

Para la sección de marcadores de caso se agregó a las oraciones, además del marcador de sujeto y objeto directo, el uso del marcador de objeto indirecto. En las oraciones correctas se tuvo cuidado de que el elemento marcado como objeto indirecto (¿A quién?) tuviera la capacidad de ser el recipiente o beneficiario del elemento marcado como objeto directo (¿Qué?), como en (9); mientras que en las incorrectas el elemento con el marcador de objeto indirecto no tenía la capacidad de ser el recipiente o beneficiario del elemento marcado como objeto directo, como en (10).

(9) RECIPIENTE
murakamisan-ha hana-wo soushiki-ni motteikimashita.
Murakami-S flores-OD funeral-OI llevó.
El Señor Murakami llevó flores al funeral.

(10) RECIPIENTE
tawaponsan-ha chi-ni byouin-wo agemashita.
Tawapon-S sangre-OI hospital-OD dio.
Tawapon le dio hospital a la sangre.

Instrumento de evaluación

Se evaluaron dos tipos de conocimientos a través de la prueba: cuantitativo, para ver el avance de los estudiantes en los diferentes semestres de instrucción, y cualitativo, para identificar su manera de interpretar las oraciones. El primer resultado se ve reflejado en el porcentaje de respuestas correctas en la tarea de seleccionar las oraciones gramaticalmente correctas. El segundo resultado (principal objetivo de esta investigación) se revela a través del elemento seleccionado como sujeto en las oraciones incorrectas, ya que esto nos muestra qué rasgo lingüístico usan los participantes al interpretar oraciones en la L2 cuando hay elementos en conflicto. Por ejemplo, si en una de las oraciones incorrectas pertenecientes al apartado de orden de palabras ignoraban el orden de palabras y seleccionaban como el sujeto el elemento que tenía "la capacidad" para realizar la acción, podemos decir que estaban usando el rasgo lingüístico de animacidad. Esto se ve ejemplificado en (11):

O S V
(11) biiru oniisan nomimasu.
cerveza hermano bebe
La cerveza se bebe al hermano.

Sujeto seleccionado: oniisan (hermano).
Rasgo utilizado: animacidad.

En las oraciones incorrectas de la sección de animacidad, si seleccionaban como sujeto el elemento que tenía la partícula "ha" de sujeto a pesar de no tener la capacidad de realizar la acción (elemento inanimado), podemos inferir que estaban utilizando el rasgo de marcadores de caso, como en (12).

INANIMADO ANIMADO
(12) tabako-ha ojiisan-wo suimasen.
cigarros-S señor-OD no fuma
Los cigarros no se fuman al señor.

Sujeto seleccionado: tabako (cigarros)
Rasgo utilizado: marcadores de caso.

Si en la sección de marcadores de caso asignaban los roles a los participantes guiándose en el "sentido" de la oración y sin tomar en cuenta los marcadores, podemos decir que estaban usando el rasgo de animacidad (13).

	MARCADOR DE SUJETO	MARCADOR DE OI	MARCADOR DE OD	
(13)	miraasan-ha	akaachan-ni	hondasan-wo	agemashita.
	Miller-S	bebé-OI	Honda-OD	dio

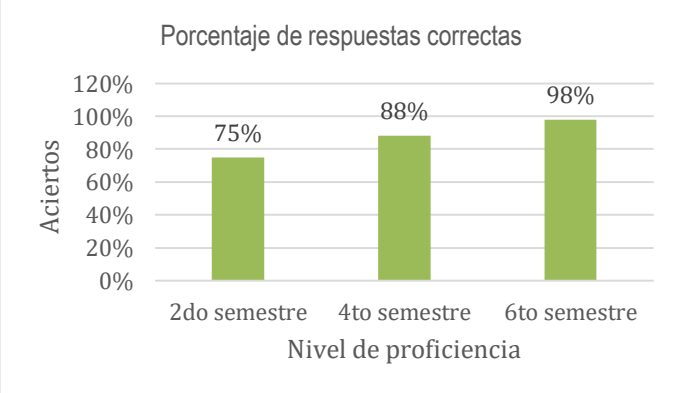
El Sr. Miller le dio el Sr. Honda al bebé.

¿Qué se dio? akaachan (bebé)
¿A quién se le dio? hondasan (Sr. Honda)
¿Quién lo dio? miraasan (Sr. Miller)
Rasgo utilizado: animacidad

Resultados

A continuación se presentan los resultados con los hallazgos más significativos encontrados en el estudio. Comenzaremos por presentar los porcentajes grupales de respuestas correctas de los tres niveles de proficiencia en japonés. Después veremos los porcentajes de rasgos lingüísticos utilizados para la interpretación, también según niveles de proficiencia.

Figura 1: Porcentajes grupales de respuestas correctas en los tres niveles de proficiencia en japonés como L2



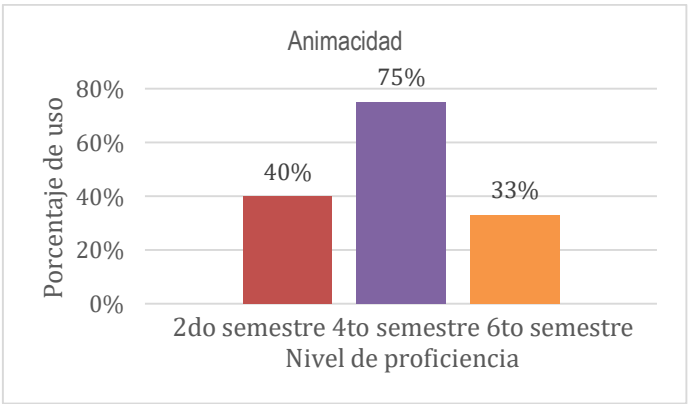
En la figura 1 se puede observar que entre más avanzado sea el dominio de la L2, mayor es el porcentaje de respuestas correctas. Esto sugiere que la instrucción formal tiene un efecto positivo para el juicio gramatical de las oraciones.

Tabla 1: Rasgos utilizados para la interpretación de oraciones en japonés por los tres niveles de proficiencia

Rasgos	**2º semestre**	**4º semestre**	**6º semestre**
Animacidad	40%	75%	33.3%
Animacidad y caso	60%	25%	33.3%
Orden y caso	0%	0%	16.7%
Orden, caso y animacidad	0%	0%	16.7%
	100%	100%	100%

En la tabla 1 se puede ver que el rasgo de animacidad de forma aislada y en combinación con marcadores de caso es el más utilizado por los tres grupos de hablantes nativos de español al interpretar oraciones en japonés como L2. Asimismo, se observa que los estudiantes de sexto semestre son los que presentan el uso más variado de rasgos lingüísticos. La prominencia del rasgo de animacidad se puede observar en la figura 2, a continuación.

Figura 2: Porcentajes del rasgo puro de animacidad utilizado por los tres niveles de proficiencia en japonés como L2



En la figura 2 podemos observar que los estudiantes de nivel intermedio son los que dependen más de este rasgo para interpretar oraciones en japonés

como L2, y es el único rasgo utilizado en aislamiento por los tres grupos.

Discusión y conclusiones

El objetivo del estudio fue determinar en cuáles rasgos lingüísticos se basan los hablantes nativos de español con japonés como segunda lengua para interpretar oraciones en japonés. Se encontró que los estudiantes muestran una preferencia por basarse en el rasgo de animacidad. Esto sugiere que aún están en el proceso de adquisición, ya que se guían principalmente por el significado de elementos aislados para interpretar oraciones completas, es decir, utilizan la hipótesis universal, donde se alejan un poco de los rasgos particulares de su L1 pero todavía no usan en su totalidad los rasgos prominentes de la L2. Encontramos que los marcadores de caso fueron el segundo rasgo más utilizado por los participantes. Es importante resaltar esto debido a que éste es el rasgo más usado por los hablantes nativos del japonés (Mitsugi *et.al.*, 2016), mientras que en español uno de los rasgos más propios de los hablantes nativos es el orden de las palabras (Carreiras *et.al.*, 1995). Derivado de estas creencias se plantearon las hipótesis de que el rasgo más utilizado por los participantes con menor proficiencia sería el orden de palabras. Sin embargo, es posible que al ser los marcadores de caso un rasgo tan prominente en japonés, éstos sean relativamente fáciles de aprender gracias a las diferencias entre la L1 y la L2 y su notoriedad en la información recibida de la L2 (Kleinmann, 1977 en Gass & Selinker, 2008). Adicionalmente, es posible que esto pueda deberse a que durante la instrucción de japonés como segunda lengua se ponga mucho énfasis en los marcadores de caso, precisamente porque es algo inexistente en el español. La importancia de este trabajo radica en que pone a prueba el Modelo de Competición con español como L1 y japonés como L2, lo cual no se había hecho antes, y encuentra evidencia a favor de la notoriedad (*saliency*) de la L2, mostrando que no siempre lo diferente entre las lenguas es lo más difícil de aprender.

Limitaciones

Reconocemos que la cantidad de participantes en este estudio es insuficiente para llegar a resultados concluyentes. Aceptamos además que un mayor conocimiento de la formación lingüística de los participantes nos hubiera permitido tener un mejor entendimiento de los resultados.

Bibliografía

Bates, E., McNew, S., MacWhinney, B., Devescovi, A., & Smith, S. (1982). Functional constraints on sentence processing: A cross-linguistic study. *Cognition, 11*(3), 245-299.

Carreiras, M., Gernsbacher, M. A., & Villa, V. (1995). The advantage of first mention in Spanish. *Psychonomic Bulletin & Review*, *2*(1), 124-129.

Figueiredo, S. (2019). Competition Strategies during Writing in a Second Language: Age and Levels of Complexity. *Languages, 4*(1), 11.

Gass, S. M. & Selinker, L. (2008). *Second language acquisition: An introductory course*. 3a ed. Routledge.ç

Ghilzai, S. A. (2017) Sensitivity to Morphosyntactic Features in L2 Sentence Processing: Evidence from Persian, Urdu, and Japanese. *Insights in Language Society and Culture 2.* 86-103.

MacWhinney, B. (2017). A unified model of first and second language learning. En M. Hickmann, E. Veneziano & H. Jisa (Eds.). *Sources of Variation in First Language Acquisition: Languages, contexts, and learners*, 287-312. John Benjamins Publishing Company.

Mitsugi, S., & MacWhinney, B. (2016). The use of case marking for predictive processing in second language Japanese. *Bilingualism: Language and Cognition, 19*(1), 19-35.

Morett, L. & MacWhinney, B. (2013). Syntactic transfer in English speaking Spanish learners. *Bilingualism: Language and Cognition, 16*, 132-151.

Concientización en Facebook sobre la problemática actual del agua.

Autores: Dulce Barraza González, Claudia Hernández Soto, Jimena Martínez Alvarado, Nisa Olvera Hernández y Jatziri Santos Moreno.

Asesor: Evelyn Diez-Martínez

Facultad de Psicología, Universidad Autónoma de Querétaro.

Contacto: nizaolvera@gmail.com

Resumen

Una de las problemáticas actuales para la humanidad es el futuro comprometido del agua, en términos de su sustentabilidad. La presente investigación tuvo como objetivo, concientizar a la población universitaria sobre esta problemática mediante un curso impartido a través de Facebook.

La investigación se realizó de manera virtual, en un primer momento se pidió a la comunidad de alumnos de la Facultad de Psicología responder a un cuestionario de diez preguntas presentado en una plataforma virtual sobre temáticas tales como: el agua, el consumo sustentable, la contaminación, huella hídrica, agua virtual y las conductas preventivas para cuidar y ahorrar el agua, con el fin de conocer sus conocimientos iniciales acerca de los temas antes mencionados. Igualmente, se les informó de la creación de una página en la red social de Facebook, donde, durante 4 semanas se subió información para incrementar sus conocimientos y posteriormente responder un segundo cuestionario, el cual contenía las diez preguntas anteriores más otras cuatro, relacionadas a las publicaciones de la página en Facebook y permitiría conocer el impacto del curso. Igualmente, se incentivó a los alumnos a participar mediante un concurso de carteles el cual tendría un premio monetario, llevándose acabo al final del proceso de evaluación.

Los resultados mostraron una mejora en las respuestas en el segundo cuestionario al compararlas con las obtenidas inicialmente, a lo que se llegó como conclusión que, la información que se brindo fue la correcta e incrementó la concientización de los participantes.

Palabras Clave: Facebook, curso sustentabilidad del agua, educación ambiental, estudiantes universitarios.

Abstract:

One of the actual problems for humanity is the compromise future of water. The objective of this research was to increase the awareness of university students out this problem via a course developed using Facebook. This research was done via virtual means, that is, during a first moment the community of the school of Psychology at the Autonomous University of Queretaro was asked to respond to a questionnaire of 10 questions using a virtual platform, on topics such as; sustainable consumption of water, water footprint, virtual water, water contamination, and preventive behaviors to save water.

Afterwards participants were informed of the creation of a Facebook page, were during 4 weeks information would be uploaded so they would be able to increase their knowledge about the theme and respond to a second questionnaire that contained the same 10 questions and 4 more, allowing to observe the impact of the course Finally, participants were invited to elaborate posters concerning global warming for a contest that would have a monetary prize at the end of the 4 weeks course. Results show an increase in correct answers through the comparison between the first and second questionnaires, Conclusion were that information provided was correct and adequate to increase knowledge of participants.

Key words: Facebook, course on water sustainability**,** environmental education, university students.

Introducción

En el presente trabajo se buscó dar cuenta de los conocimientos y hábitos que tienen los estudiantes de la Facultad de Psicología de la UAQ respecto de algunos temas relacionados con el consumo sustentable y el agua, tales como la contaminación, la huella hídrica, el agua virtual y el ahorro de la misma.

Se sabe actualmente que muchas de las prácticas que realizan los seres humanos están causando daños al planeta Tierra**:** contaminación, calentamiento global, derretimiento de casquetes polares, especies en peligro de extinción, entre otras problemáticas.

Una manera de crear conciencia respecto a esos problemas es la Educación Ambiental la cual es:

> …lograr que los individuos y la sociedad en general tomen conciencia de su medio y que adquieran conocimientos, habilidades y valores que le permitan desarrollar un papel positivo, tanto individual como colectivo hacia la protección del medio ambiente y mejoramiento de la calidad de vida humana. (Covas en Andechaga, 2015)

Por ello, se realizó un proyecto de investigación en el que se proporcionó a los estudiantes un curso informativo a través de Facebook, para conocer los impactos que tienen las redes sociales en la enseñanza de la educación ambiental.

El objetivo que persiguió el presente trabajo fue el observar el impacto que tiene un curso informativo impartido a estudiantes universitarios a través de Facebook sobre: el consumo sustentable, huella hídrica y agua virtual, la contaminación y las conductas preventivas que se realizan para ahorrar el agua.

Metodología

Se diseño un cuestionario en Google Forms que constaba de 10 preguntas sobre las temáticas antes mencionadas, para dar cuenta del conocimiento inicial de los estudiantes sobre los temas del agua. El grupo de investigadores solicitó el apoyo de los estudiantes de la Facultad de Psicología para responder dicho cuestionario.

El grupo de investigadores solicitó el apoyo de los estudiantes de la Facultad de Psicología para responder dicho cuestionario. Posteriormente se comenzó con el curso informativo a través de publicaciones en Facebook que duró 4 semanas, por cada semana se exponía un tema diferente.

Para promover la participación del alumnado se organizó un concurso de carteles sobre los temas de investigación, el cual tendría un premio monetario. Finalmente se aplicó un segundo cuestionario para evaluar el conocimiento adquirido después del curso, al cual se le agregaron cuatro preguntas.

Resultados

Se hizo un análisis omparativo de los resultados en el primer cuestionario con relación al segundo, estableciendo porcentajes de respuesta.

Primera aplicación

El cuestionarió contó con 10 preguntas que respondieron los estudiantes el primer cuestionario se aplicó antes de inicia el curso y el segundo cuestionario después de la finalización del curso. Dicho cuestionario se aplicó por medio de Google Forms para accesar de manera rápida y sencilla por medio de internet, y fue a través del mismo que se contabilizaron las respuestas. De las diferentes preguntas presentadas solo se seleccionaron algunas, obteniendo los siguientes resultados:

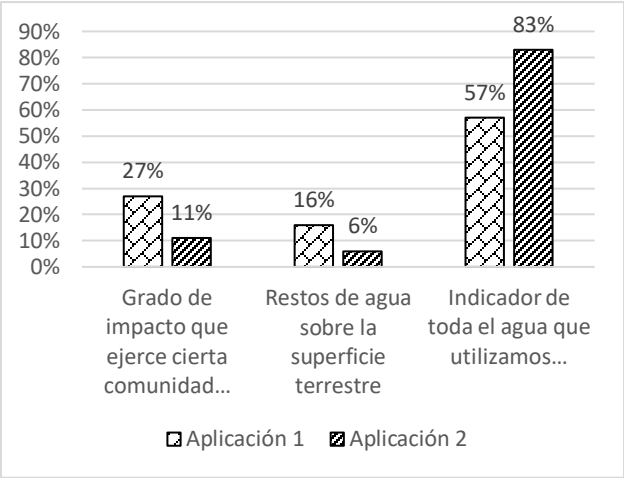


Figura 1. Porcentaje de las respuestas a la pregunta "*De las siguientes opciones ¿Cuál es la que define lo que es huella hídrica?"*

La figura 1 muestra los resultados obtenidos para la pregunta "De las siguientes opciones ¿Cuál es la que define lo que es la huella hídrica?" en el primer cuestionario las respuestas iniciales estaban distribuidas del 100% de respuestas, el 57% contestó que la definición de huella hídrica "Es un indicador de toda el agua que utilizamos, ensuciamos y contaminamos en nuestra vida diaria" aunque en el segundo cuestionario el porcentaje aumento hasta 83% y las otras opciones de respuesta disminuyeron considerablemente.

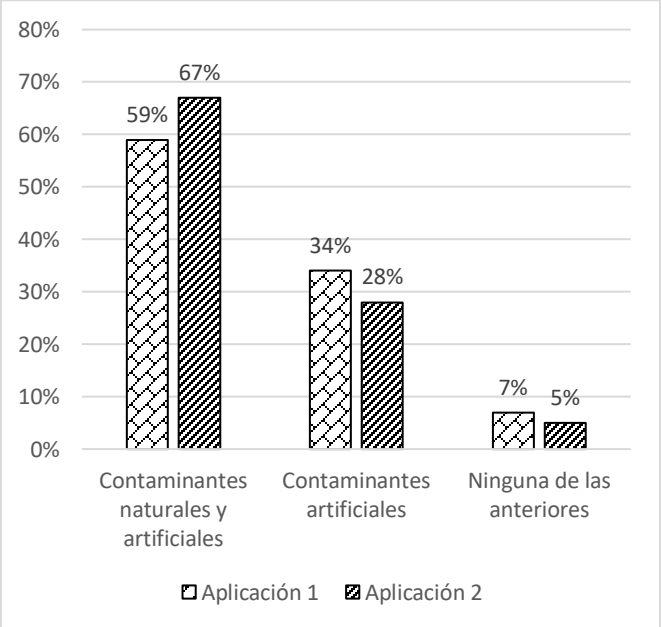


Figura 2. Porcentaje de las respuestas a la pregunta "De las siguientes opciones *¿Cuál es la que mejor define cómo se da la contaminación del agua?*

La figura 2 muestra los resultados obtenidos en la pregunta "De las siguientes opciones, ¿Cuál es la que define cómo se da la contaminación del agua?" del 100% de respuestas, el 58.5% contestó que es por "Contaminantes naturales (arsénico y lluvia) y contaminantes artificiales (eses, aceites y pesticidas)" dando cuenta que la mayoría de los estudiantes tiene conocimiento sobre este tema, mientras que el 34.1% respondió el inciso b y el 7.3% el inciso c.

En la segunda aplicación, el 66.7% eligió la respuesta correcta, el inciso a: "Contaminantes naturales (arsénico y lluvia) y contaminantes artificiales (eses, aceites y pesticidas)", el 27.8% eligió el inciso b y 5.6% eligió el inciso c.

En las gráficas que se muestran a continuación se presentan los resultados de cuatro preguntas elaboradas con base en la información difundida a la población, por medio de la red social "Facebook", estas preguntas solo fueron presentadas en el segundo cuestionario.

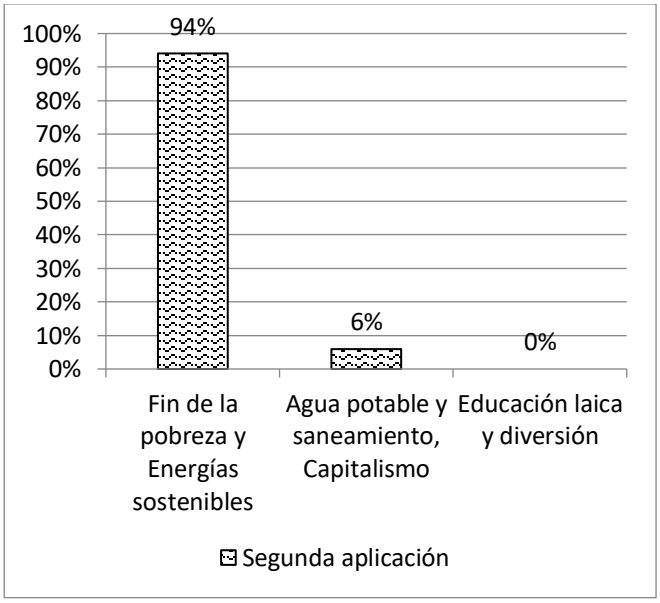


Figura 3. Porcentajes de las respuestas a la pregunta *¿Cuáles de los siguientes son objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU?"*

La figura 3 muestra los resultados obtenidos ante la pregunta ¿Cuáles de los siguientes son objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU, del 100% de

encuestados el 94% acertó en su respuesta, es decir eligieron “Fin de la pobreza y energías sostenibles” mientras que el 6% restante contestó “Agua potable y saneamiento, capitalismo”.

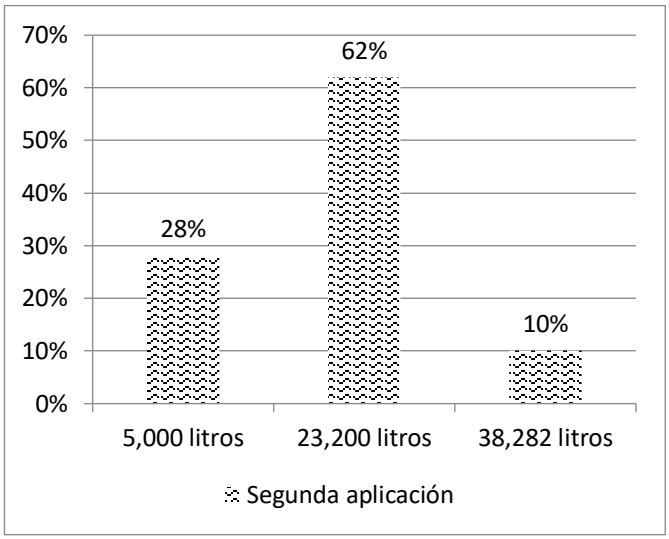


Figura 4. Porcentajes de las respuestas de la segunda aplicación a la pregunta *¿Cuántos litros de AGUA VIRTUAL se necesitan para producir un celular?*

La figura 4 muestra los resultados obtenidos ante la pregunta ¿Cuántos litros de AGUA VIRTUAL se necesitan para producir un celular? Del 100% de encuestados el 62% acertó en su respuesta, eligiendo que para producir un celular se necesitan “23, 200 litros”, mientras que el 28% restante eligió “5,000 litros”, y el 10% eligió “38,282 litros”.

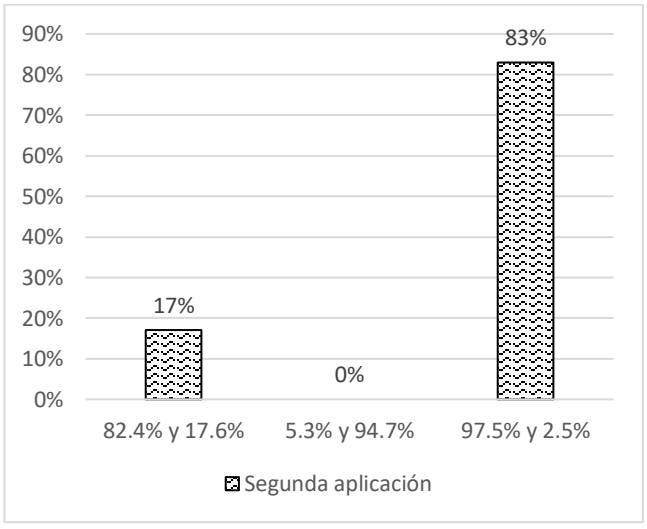


Figura 5. Porcentajes de las respuestas de la segunda aplicación a la pregunta *¿Cuál es el porcentaje de agua salada y agua dulce en nuestro planeta?*

La figura 5 muestra los resultados obtenidos ante la pregunta ¿Cuál es el porcentaje de agua salada y agua dulce en nuestro planeta? Del 100% de los encuestados el 83% acertó en su respuesta, eligiendo que existe en nuestro planeta un “97.5% de agua salada y un 2.5% de agua dulce”, mientras que el 17% restante contestó “82.4% (agua salada) y 17.6% agua dulce”.

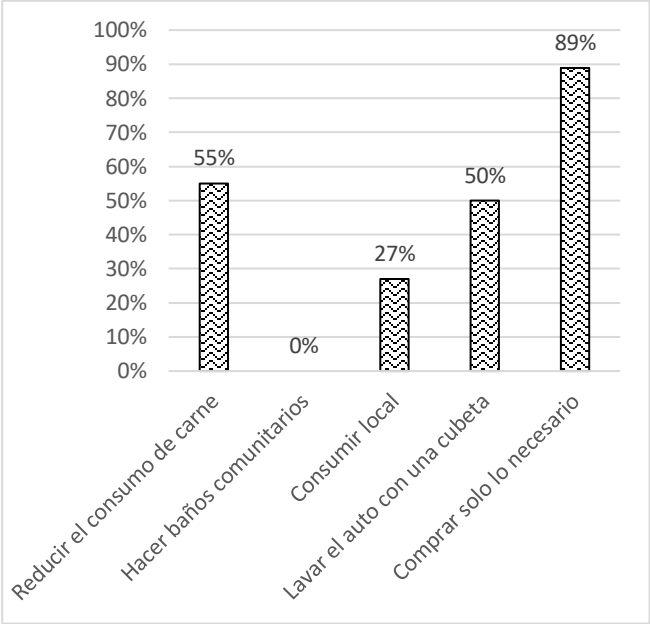


Figura 6. Porcentajes de las respuestas de la segunda aplicación a la pregunta *“Selecciona las opciones necesarias para reducir el consumo de AGUA VIRTUAL:”*

La figura 6 muestra los resultados obtenidos ante la pregunta “Selecciona las opciones necesarias para reducir el consumo de AGUA VIRTUAL:”En esta última pregunta podía elegirse más de una respuesta.

Los resultados obtenidos son los siguientes: Del 100% de entrevistados el 89% contestó “Comprar solo lo necesario”, el 55% “Reducir el consumo de carne”; el 50% “Lavar el auto con una cubeta” y finalmente el 27% contestó que “Consumir localmente” ayudaría al ahorro de agua virtual.

Discusión y conclusiones

Actualmente hemos llegado a un punto en el que debemos llevar a cabo acciones y crear conciencia para evitar que sigamos haciendo un mal uso de nuestros recursos naturales, y eso puede lograrse

por medio de redes sociales. Tomando como base el análisis de los resultados obtenidos, podemos dar cuenta que una de las mejores estrategias es difundir información sobre este tipo de problemáticas, ya que, se observó una mejora y un incremento el el conocimiento de los temas planteados a través del curso impartido en Facebook. En las respuestas dadas por los participantes que respondieron a la segunda aplicación, se mostró que la información proporcionada, ayudó a que los estudiantes conocieran aspectos relacionados con el consumo, costos de lo que consumimos, métodos de ahorro y uso del agua.

Referencias

ACCIONA (2017, marzo 14) Causas y consecuencias de la contaminación del agua. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=IMxOYSUSLmU

AGUA.ORG.MX. (MAYO de 2019). FONDO PARA LA COMUNICACION Y LA EDUCACION AMBIENTAL, A.C. Obtenido de CONTAMINACIÓN DEL AGUA: https://agua.org.mx/contaminacion-del-agua/

ARREGUÍN CORTÉS F, L.-P. M.-G. (OCTUBRE-DICIEMBRE de 2007). AGUA VIRTUAL EN MÉXICO. Obtenido de INGENIERÍA HIDRÁULICA EN MÉXICO: http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Contenido/Documentos/Infografía%20Huella%20Hídrica.pdf

BIC Group Official (2015, dic., 4) BIC: 2 minutos para entender el desarrollo sostenible- Spanish. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=I4wj61hScUQ

CALI, A. D. (MAYO de 2019). DAGMA. Obtenido de CALCULA TU HUELLA HÍDRICA: https://huelladeciudades.com/AppHHCali/main.html

Cancino, M. Mauricio Cancino Alcalde (2015, sept., 27) 12 Formas de ahorrar agua. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=O68t-IMqLDQ

CICESEciencia (2016, may., 3) Huella Hídrica individual. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=Ctp80ygTo0Q&list=WL&index=5&t=0s

CONAGUA. (JUNIO de 2014). RECOMENDACIONES PARA AHORRAR EL AGUA. Obtenido de CGCCA / GERENCIA DE CULTURA DEL AGUA: http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/contenido/documentos/Recomendaciones%20para%20ahorrar%20el%20agua.pdf

Covas O. n (2004) *Educación ambiental a partir de tres enfoques: comunitario, sistémico e interdisciplinario.* Revista Iberoamericana de Educación. ISSN: 1681-5653 (pp. 2)

Cultura del Agua SSRH Nación (2015, nov., 12) ¿Qué es la huella hídrica? Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=bq6DRTHuS7Q&list=WL&index=6&t=0s

GEOGRAPHIC, R. N. (s.f.). NATIONAL GEOGRAPHIC. Obtenido de DEL OCÉANO AL GRIFO, LA CONTAMINACIÓN DEL AGUA NOS AFECTA A TODOS.: https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/2017/10/del-oceano-al-grifo-la-contaminacion-del-agua-nos-afecta-todos

Izquierdo, L. TEDx Talks (2017, nov, 30) "Desarrollo Sostenible" más allá del paradigma. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=8KKCBTKQo90

Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible- Colombia (2012, ago., 13) Huella Hídrica- Campaña Cuidado del Agua. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=wJxnrFaNRoU&feature=youtu.be

Next, S. f. (30 de abril de 2019). Moda impacto positivo. Obtenido de Directorio de moda sostenible: https://modaimpactopositivo.com/slowfashion-marcas-complementos-ropa-ecologica-online/

Noticias Telemundo (2019, mayo, 30) Esta ciudad se quedará sin agua en Abril. Los residentes hacen lo que pueden para evitarlo. Recuperado de https://www.facebook.com/watch/?v=10155687367703005

Salud, R. (30 de abril de 2019). Rioja Salud. Obtenido de Consumo sostenible : https://www.riojasalud.es/salud-publica-y-consumo/consumo/el-rincon-del-consumidor/4749-consumo-sostenible

TV Agua (2017, oct., 31) Huella Hídrica. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=XCeg3_ddzg8&list=WL&index=4&t=0s

UNESCO. (2004). *YouthXchange Manual de* educación *para un consumo sostenible* . PNU.MA

UNESCO en español (2017, ene., 26) Los Objetivos de Desarrollo Sostenible- qué son y cómo alcanzarlos. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=MCKH5xk8X-g

¿Cómo se forman las actitudes democráticas?

María Concepción Padilla González
Lic. En Ciencias Políticas y Administración Pública, UAQ
Estudiante de la Maestría en Ciencias Sociales, FCPYS. UAQ.
Mail:conniiepadiilla@outlook.com

Asesor: Dr. Héctor Gutiérrez Sánchez
Mail: ciudadanohector@yahoo.com.mx

Resumen

El siguiente texto se desprende de la tesis de maestría cuya finalidad es analizar el grado de influencia de los padres de familia y de la escuela en la formación de actitudes democráticas en los niños. De esta manera, el objetivo de este texto es mostrar los resultados obtenidos de la revisión de literatura respecto a la relación entre educación y ciudadanía. Además, se hace mención de los principales enfoques teóricos de dichos estudios encontrando el concepto de "actitudes democráticas" la manera en la que se puede explicar la formación de dichas actitudes de manera individual y la influencia de las esferas familiares y escolares en la formación ciudadana. Mediante una metodología documental se pudieron detectar vacíos teóricos, empíricos y metodológicos que permiten distinguir las áreas de oportunidad para ampliar el análisis de la formación ciudadana de los niños.

Como conclusión, se resalta la necesidad de realizar trabajos que logren juntar en el análisis a la esfera familiar y escolar para comprender la manera en la que dichos grupos influyen en la formación de actitudes democráticas y así, distinguir cuál enseñanza tiene más peso en la formación ciudadana de los estudiantes.

Palabras clave: actitudes democráticas, escuela, familia, democracia, ciudadanía

Abstract

The following text follows from the master's thesis whose purpose is to analyze the degree of influence of parents and the school in the formation of democratic attitudes in children. Thus, the objective of this text is to show the results obtained from the literature review about the relationship between education and citizenship. In addition, a description of the main theoretical approaches of these studies is made by finding the concept of "democratic attitudes" in the way in which the formation of the dimensions of attitudes can be explained individually and the influence of family and school spheres in the citizen education. Through a documentary methodology, theoretical, empirical and methodological gaps were detected that allow distinguishing areas of opportunity to broaden the analysis of children's citizenship.

In conclusion, highlight the need to carry out work that brings together the family and school sphere in the analysis to understand the way in which these groups influence the formation of democratic attitudes and thus distinguish the teaching that has more weight in training citizen of the students.

Keywords: democratic attitudes, school, family, democracy, citizen

1. Introducción

Los teóricos de la ciencia política y de la sociología se han planteado la pregunta ¿Cuál es la importancia de la ciudadanía en un régimen político? Esta pregunta ha sido respondida resaltando que, si las personas saben leer y escribir pueden votar; posteriormente se concibió la importancia de la

educación para promover el interés entre los ciudadanos en los asuntos públicos y su intervención en los mismos.

Pensando en la relación que existe entre la educación y la ciudadanía, la primera otorga las herramientas necesarias para que los individuos puedan intervenir en los asuntos públicos mediante la adquisición de la información y los procesos de sistematización de la misma. Sin embargo, ésta relación no es tan clara cuando se observa que no solo es la escuela la que forma actitudes democráticas en los niños, ya que la familia, al ser un grupo de socialización primaria influye de manera importante en la adquisición de actitudes democráticas que le da sentido a la ciudadanía.

Si seguimos la tradición republicana, los individuos no nacen siendo ciudadanos, necesitan de una preparación que les permita desarrollar actitudes, valores y habilidades democráticas, que solo otorga la educación formal.

De esta manera, la literatura ha marcado una relación clara entre educación y ciudadanía, ya que, a través de la primera, los alumnos aprenden conocimientos básicos del sistema político y normas de convivencia social.

Hay elementos en el aula que permiten o no la formación de un ciudadano crítico y analítico, como la estructura jerárquica en la que están organizadas las escuelas demuestran una actitud de sumisión y obediencia en la que la participación horizontal no es posible. También hay elementos en la interacción entre el docente y el alumno que influye en la educación ciudadana y que no siempre están presentes en el currículo de las materias, por el ejemplo, aquellas actitudes y comportamientos del docente que ocasionan un ambiente autoritario o democrático que determina el tipo de participación e involucramiento de los alumnos en los asuntos escolares y en su proceso de aprendizaje.

Sin embargo, los estudios empíricos demuestran que no solo la educación formal influye en la formación ciudadana ya que los niños interactúan en el ámbito familiar, social y todos estos elementos contribuyen a la formación de cierto tipo de ciudadano.

Ante este complejo contexto, surge la pregunta ¿Cómo se relaciona la educación con la ciudadanía? El objetivo del siguiente texto es mostrar los resultados de la revisión de literatura acerca de la relación entre la educación y ciudadanía, así como conocer la manera en la que se ha investigado dicha relación y así, proponer nuevas líneas de investigación que permita comprender de una manera integral el fenómeno planteado

De esta manera, se usará el término “actitudes democráticas” como una salida teórica del concepto de “cultura política” el cual tiene como finalidad analizar las actitudes, comportamientos y predisposiciones que tienen los individuos y tienden a prevalecer en el tiempo. Mientras que el concepto de actitudes democráticas permite explicar de manera individual la manera en la que los individuos aprenden a ser ciudadanos y en este proceso intervienen distintos actores, sobre todo los padres de familia y la escuela.

2. Metodología

La metodología utilizada en este artículo fue la documental ya que este tipo de metodología permite analizar, sistematizar y resumir la información de textos científicos y revistas especializadas en el tema de la educación para la ciudadanía. Se realizaron fichas de trabajo que permitieron distinguir las ideas centrales de cada texto, así como identificar la operacionalización de los conceptos de educación y ciudadanía y las variables que se usaron en el estudio.

Las herramientas de trabajo fueron libros en físico y electrónicos, artículos publicados en revistas

científicas e indexadas y ponencias presentadas en Congresos.

3. Resultados.

3.1 Referentes teóricos

Debido a que esta investigación está sustentada en la calidad de la ciudadanía, es inevitable hacer mención de aquellas investigaciones que han estudiado la manera en la que la educación se vincula con la democracia y cómo medir dicha relación.

Este es el caso de la cultura política que se desarrolla en la década de los años 60 que intenta explicar desde un enfoque psicocultural los fenómenos políticos, buscando unificar las interpretaciones más psicológicas del individuo (orientaciones), con una mirada más macro de la realidad política (instituciones políticas).

Peschard (2016) define a la cultura política como los valores, concepciones y actitudes que se orientan hacia lo político, es decir, es el conjunto de elementos que configuran la percepción subjetiva que tiene la población hacia el poder.

El concepto de cultura política surgió en la teoría empírica de la democracia en 1960 con el trabajo de Almond y Verba que desarrollaron una teoría de la cultura política con base en un análisis comparado de datos empíricos llamado *The Civic Culture*

Almond y Verba (citado en Peschard, 2016) reconocen que existe más de un tipo de cultura política ya que hay patrones de comportamiento más o menos autoritarios o tradicionales en las sociedades democráticas. Reconocen tres tipos de cultura política:

a) Parroquial: Los individuos no tienen conciencia del sistema político en el que están inmersos y su participación es insignificante. Esta cultura está relacionada con las sociedades tradicionales apegada a los mitos, creencias que no tienen proyecto económico-político
b) Súbdito: Existencia de relaciones pasivas en las que se muestra intereses hacia los productos políticos del sistema, pero no en su elaboración. Está relacionada con la sociedad con cierto grado de participación, de organización con metas y objetivos, pero esto depende de un líder autoritario. Los individuos se involucran con los productos del sistema y no con la formulación y estructuración de las decisiones y políticas publicas
c) Participativa: Hay un alto grado de civismo y hay una articulación entre los ciudadanos y el sistema de elaboración de las políticas de forma que favorece la consolidación democrática.

Los teóricos después de Almond y Verba buscaron ampliar el campo de estudio e incluso imitaron al de cultura política de Almond para explicar cómo la sociedad se relaciona con el Estado y la manera en la que reacciona ante problemas sociales.

3.2 ¿Por qué estudiar a las actitudes democráticas y no la cultura política?

La cultura política se diferencia de otros conceptos como el de ideología política ya que éste se refiere a una formulación doctrinaria e internamente consistente que los grupos adoptan y promueven. La actitud política es una variable intermedia entre una opinión (comportamiento verbal) y una conducta (comportamiento activo) y es una respuesta a una situación dada, mientras que la cultura política alude a pautas consolidadas, arraigadas y menos expuestas a movimientos específicos por los que atraviesa una sociedad. (Peschard, 2016)

La actitud política es una disposición mental, una inclinación organizada en función de los asuntos políticos que cambian frecuentemente. Entonces, las actitudes políticas son un componente de la cultura política, pero ésta no se reduce a las actitudes.

Las actitudes pueden tener tres componentes: a) cognitivo que hace referencia a la valoración que le damos a algo porque sabemos lo que significa , es decir, hay razones para aceptarlo o rechazarlo; b) afectivo que hace referencia a la respuesta afectivo-emocional asociada al tipo de objetos y acciones de la actitud y c) comportamiento es una forma de actuar en relación al objeto de la actitud, por ejemplo, el tipo y dedicación a cierta actividad, las preferencias y la emisión de juicios de valor.

De esta manera, se puede decir que las actitudes vinculadas al campo de la educación cívica hacen referencia a las percepciones, valores y actitudes que representan un ámbito de interés en la formación cívico- social y política de la persona.

Usar el concepto de "actitudes democráticas" permite comprender de manera particular los procesos de socialización política en los que están inmersos los niños. Además, permite ver con mayor detenimiento cómo los factores familiares y escolares influyen en la formación de actitudes democráticas de los niños. En contraste con el concepto de cultura política, este se utiliza para analizar de manera general el comportamiento de la sociedad hacia la democracia y tiene a generalizar la cultura política de un país con las actitudes democráticas de los individuos.

Se puede decir que las actitudes son el mejor elemento que permite explicar la participación política, cívica y social. En resumen, las actitudes democráticas tienen tres características centrales: Percepción de los individuos hacia sus instituciones y hacia la sociedad (o escuela); práctica de valores democráticos (respeto, igualdad, tolerancia) y la manera en la que se conciben como ciudadanos.

3.3 Mecanismo de formación de actitudes democráticas

Existen muchos factores que determinan la permanencia o cambio de las actitudes políticas relacionadas al comportamiento político (Leyva y colaboradores, 2016):

1) Los componentes privados como las experiencias aprendidas y transmitidas en la familia. Respecto al comportamiento electoral, la familia transmite lealtades partidistas.
2) La educación propicia la participación ya que disminuye las barreras cognitivas y aporta información para la toma de decisiones. Aunque la educación formal no proporcione claramente detalles del funcionamiento institucional de las democracias, parece que influye en el modo en el que los individuos procesan y toman decisiones.
3) Factores individuales como la edad, el nivel socioeconómico y el nivel educativo puede determinar la influencia de los medios de comunicación sobre las actitudes políticas.
4) La escuela de Michigan menciona que factores como el conocimiento, el interés, eficiencia política e ideológica contribuyen a participar.

Para efectos de este trabajo se analizará la manera en la que la familia y la escuela contribuyen en la adquisición de actitudes democráticas.

a) La formación de actitudes en la escuela

Aunque el proceso de formación ciudadana se inicia en la familia, se consolida en la escuela ya que es aquí donde el niño convive con personas de diferentes intereses y donde tiene la oportunidad de examinar y relacionarse con el bien común y con el interés general.

Pero ¿Por qué en la escuela y no en otro ámbito? Una de las propuestas que resalta a la escuela como formadora de moral y cívica es la Escuela Nueva y la ética dialógica. Dicha corriente considera que la función social de la escuela es la formación de valores que le permita el niño distinguir entre lo "bueno" y lo "malo", además, busca que el niño sea capaz de tomar decisiones en función del bienestar colectivo. Sin embargo, para que esto sea posible, es necesario que el niño adquiera dichos valores, primero en la familia y posteriormente en la escuela. (Plaza de la Hoz y Caro, 2016)

Dentro del campo de estudio de las actitudes políticas y de una visión teórica, la educación ha sido considerada como un factor importante al momento de analizar el apoyo a la democracia, es decir, se ve a la educación como un medio de socialización política.

Sin embargo, aunque se considera que en la escuela el niño aprende actitudes hacia la democracia, el papel del docente es importante ya que es éste el que les otorga a los estudiantes los conocimientos y habilidades necesarias para la formación de actitudes democráticas.

Pinto-Archundia, (2016) mencionan que la intervención del docente en la formación de actitudes democráticas es vital ya que puede cambiar los valores y conocimientos que tienen los niños relacionados a la política.

¿Cómo se da la interacción entre docente y alumno en el proceso de formación de actitudes democráticas? Los docentes y alumnos, a través de sus manifestaciones valorativas individuales, grupales y colectivas que no siempre son visibles, denotan sus acciones, percepciones y actitudes reflejadas de manera explícita en la dinámica escolar y en las tendencias socioculturales del contexto en el que están inmersos.

Por otra parte, en el aula existen diversos esquemas valorativos que se presentan en contradicciones e inconsistencias que manifiestan en la cultura escolar a través del discurso, los comportamientos, actitudes y acciones que se practica. (Pinto-Archundia, 2016)

En resumen, la adquisición de actitudes democráticas se da a través de procesos de socialización, en este apartado se hizo mención del papel del docente en la formación ciudadana del estudiante ya que es el docente el que le otorga a los estudiantes los conocimientos, habilidades y capacidades necesarias para que los alumnos participen y se involucren en la política.

b) La formación de actitudes en la familia

La familia es concebida como una unidad sistémica que interactúan entre sí para su funcionamiento y buscan desarrollarse como individuos, y al mismo mantenerse integrados en el logro de objetivos comunes. (Carrero y Giraldoth, s/f)

La familia como institución social es el núcleo donde se construye la personalidad de los miembros, es en donde se fundamenta el desarrollo psicológico, social, psicocultural y físico del ser humano. El desarrollo psicosocial es lo que incide en el progreso de las comunidades, de la sociedad y de las instituciones democráticas ya que es en la familia en donde el niño aprende a ser persona y ciudadano (Carrero y Giraldoth, s/f)

¿Cómo se forman las actitudes en la familia? Carrero y Giraldoth, (s/f) mencionan que es a través de la palabra, acción y gesto ya que no hay un mecanismo claro para formar en ciudadanía. Estos elementos se traducen en un modelo de ciudadanía que será adoptado por el niño, sin embargo, hay elementos sociales que van a cambiar dicho modelo que se adquiere en la casa.

No podemos definir un solo tipo de socialización política en la familia ya que el comportamiento de los integrantes puede ser autoritario o democrático.

Sin embargo, se puede resaltar que la socialización democrática permite que los niños se involucren en asuntos de la comunidad. Esta formación pretende la desaparición de jerárquicas, existe un liderazgo ya que los padres se perciben a sí mismos como parte de un proceso de información- formación, es decir, son mediadores de la formación de actitudes democráticas.

Los miembros de la familia tienen los mismos derechos y oportunidades de ser parte de la toma de decisiones. Existe una efectiva distribución de tareas de la vida familiar y cotidiana vinculando la formación de un compromiso social, cultural y político, entonces las actividades se hacen a través del consenso y nunca por imposición, mediante el diálogo.

Respecto a la manera en la que la familia influye en la formación ciudadana, se pueden resaltar tres áreas: la creación de contextos educativos familiares para facilitar el aprendizaje de la responsabilidad social, la prevención de conductas antisociales y los medios concretos para educar la responsabilidad social en la familia como la implicación en actividades cívicas, conversaciones de temas sociales o actividades de aprendizaje- servicio. (Plaza de la Hoz y Caro, 2016)

c) El papel de la familia y de la escuela en la formación de actitudes democráticas

Van der Meer y Van Ingen (citado en Lars, 2015) sugieren que es necesario analizar a las escuelas y a las familias como escuelas para la democracia. Este problema ha sido abordado desde el campo de la educación cívica mediante una perspectiva cualitativa que ha intentado entender los efectos de las experiencias escolares sobre las actitudes democráticas.

Por lo tanto, la familia y la escuela deben tener presente que la formación ciudadana se concibe mediante la adquisición de conciencia y conocimientos, el desarrollo de habilidades y la incorporación de valores que les permitan a los ciudadanos participar, incidir, promover y mejorar sus instituciones democráticas y su entorno. Además, es necesario que desarrollen capacidades para la reflexión y el análisis de los problemas sociales.

Por otra parte, Carrero y Giraldoth, (s/f) resaltan la importancia de la educación familiar y escolar en la formación ciudadana y demandan su encuentro para formar ciudadanos activos y responsables con su entorno y de sus propias decisiones.

En este sentido, es necesaria la construcción de un sistema educativo cuyo enfoque sea integral que forme y asuma al alumno como una persona y agente activo mediante valores que rijan su actuar en la comunidad y en la toma de decisiones.

Sin embargo, no podemos olvidar a los medios de comunicación y el contexto socioeconómico como elementos que pueden explicar la formación de actitudes, sin embargo, tomar a la familia y a la escuela nos puede acercar al análisis de las actitudes democráticas al considerarlos como elementos principales de socialización política ya que es aquí en donde, mediante la interacción, el niño aprende valores, actitudes y comportamientos hacia la democracia.

En el caso de la escuela, los estudios enfocados a la psicología educativa mencionan que práctica idónea para formar en ciudadanía es el aprendizaje basado en el servicio en el cual los alumnos son capaces de detectar un problema social, proponer estrategias de solución y estar presentes en las fases de ejecución, planeación y evaluación del proyecto. De esta manera,

el alumno es sensible a su comunidad, se concibe como un agente transformador y cuenta con las herramientas necesarias para realizar ejercicios de análisis, conciencia y sistematización de información.

4. Discusión. Resultados de la revisión de literatura

Al hacer la revisión de literatura se encontró que hay al menos tres grandes corrientes de análisis. Aquellas investigaciones que se enfocan a la discusión normativa de la relación entre ciudadanía y educación (Torres y colaboradores, 2013; Alcántara, 2017)

Los estudios que tienen una línea empírica (Muñoz y Torres, 2014; Perales y Escobedo, 2016; Giraldo, 2016; Peña, 2016; Veramedia, 2012; Tyler, 2018, Pérez y Ochoa, 2017) y los estudios mixtos (Flores-Crespo y Ramírez, 2015; Giraldo,2016; Estrada, 2014 y Monsalve, 2017).

En los estudios de discusión normativa se pueden encontrar investigaciones con enfoques históricos, culturalistas, institucionales y con una perspectiva filosófica para dar cuenta del papel que ha tenido la educación a lo largo del tiempo en la formación ciudadana y cómo la educación ha respondido a diferentes contextos políticos y sociales que ha influido en la manera en la que se ha formado en ciudadanía. Estos estudios muestran el deber ser de la ciudadanía y las características que debería detener un ciudadano y la educación cívica.

Por otra parte, en los estudios empíricos se muestra la manera en la que la escuela influye en la formación ciudadana a través de estudios etnográficos, cualitativos y cuantitativos para dar cuenta de las percepciones de los alumnos, docentes, directores y padres de familia acerca de la manera en la que la escuela forma ciudadanía. Al igual que los estudios normativos, los estudios empíricos siguen una línea estructural, cultural, acercamientos a la teoría crítica, al marxismo, con enfoques de gobernanza y de gestión con la finalidad de explicar la manera en la que la escuela fomenta o no la participación social.

En los estudios empíricos podemos encontrar dos grandes vertientes: la primera en la que los autores (Muñoz y Torres, 2014; Perales y Escobedo, 2016; Molina y Ponce, s/f, Peña, 2016; Pérez y Ochoa, 2017) establecen una clara relación entre educación y ciudadanía, mientras que, en los segundos, los autores (Tyler, 2018) establecen que la formación ciudadana es un fenómeno multicausal.

El aspecto central de los estudios empíricos es que establecen variables que permiten comprender, en un contexto determinado, la relación entre la educación y la ciudadanía. Esto se hace a partir de métodos distintos como encuestas, entrevistas, observación participante analizan la realidad en las escuelas. No obstante, son pocos los estudios que miden efectos de algún programa de educación cívica, como hacen notar Flores-Crespo y Ramírez (2015).

De esta manera, a través de los estudios empíricos se muestra que el análisis de la formación ciudadana es multifactorial ya que hay más factores como el entorno familiar, las condiciones socioeconómicas y culturales que contribuyen a la formación ciudadana del alumno. No obstante, la sobreposición de los distintos planos se ha explorado poco bajo la perspectiva empírica.

Por otra parte, en los estudios mixtos, los diversos autores hacen uso de los postulados de los estudios de discusión normativa y posteriormente los contrastan con la realidad para corroborar hipótesis. Estos estudios permiten ver la articulación entre la teoría y los estudios empíricos para poder interpretar mejor la manera en la que se forma ciudadanía.

En resumen, se podría decir que dentro de la literatura sobre educación y ciudadanía se presentan al menos

tres tipos de vacíos. Uno conceptual, otro empírico y otro metodológico. A continuación, se explican.

a) Vacío conceptual: Aunque los estudios mencionados resaltan la importancia de la formación ciudadana en un ambiente democrático, no logran ser precisos para definir nociones básicas como la ciudadanía y educación para la ciudadanía, ya que las definiciones que ofrecen suelen mezclarse entre sí (en ocasiones cuando se define lo qué es ciudadanía se mezcla con las características de una educación ciudadana)
b) Vacío empírico: Al considerar que la ciudadanía depende totalmente del aspecto socioeconómico, cultural, o del ámbito familiar, se limita el objeto de estudio al dejar fuera a variables socioeconómicas, culturales, familiares, perfil del docente y el impacto de la materia de *Formación Cívica y ética* (Flores-Crespo y Ramírez, 2015)
c) Vacío metodológico: Los estudios normativos, empíricos y mixtos han estudiado a la formación ciudadana a través de la relación que existe entre la familia y la escuela, mediante factores culturales y socioeconómicos se trata de analizar cómo se forma ciudadanía. Pero se analiza el papel de la familia y de la escuela de manera separada cuando los jóvenes actúan de manera reiterativa en los distintos planos o niveles (individual, familiar y escolar). De este argumento surge una pregunta que sigue abierta y no se ha logrado responder en la literatura ¿Cómo se relacionan estos planos para desarrollar una formación ciudadana?

Aquí entra la importancia de analizar "las actitudes democráticas" de los niños, padres y docentes ya que dichas actitudes son aprendidas en la experiencia y transmitidas en la familia y las actitudes se forman en los procesos de socialización. (Leyva y colaboradores, 2016)

Finalmente, la revisión de literatura permitió reconocer las líneas de investigación que han seguido los estudios respecto a la relación entre la educación y la ciudadanía. Dichos estudios han permitido identificar que la formación ciudadana no solo depende de un solo factor, ya que el niño está inmerso en un contexto social amplio que abarca las interacciones que éste tiene con otros grupos sociales y la exposición a los medios de comunicación.

La manera en la que se ha decidido abordar dicha problemática en esta investigación ha sido el uso del concepto de "actitudes democráticas" ya que a través de este se puede analizar las predisposiciones, valores, comportamientos y conocimientos que adquieren los individuos en sus diferentes contextos, que configuran la ciudadanía.

5. Conclusiones

El propósito de este trabajo es explicar la manera en la que se ha estudiado la relación entre la ciudadanía y la educación, y se encontraron que hay investigaciones que se enfocan en establecer una relación teórica entre estas dos variables y cómo debería de ser un ciudadano o una buena educación cívica. Por otro lado, se encuentran aquellas investigaciones que analizan cómo se da esta relación en realidad analizando los mecanismos que contribuyen a la formación de actitudes democráticas.

De esta manera, se resaltó el papel de la familia y de la escuela en la adquisición de las actitudes democráticas. Sin embargo, de acuerdo con los documentos revisados se pudo percibir que hay una ausencia en los estudios al no integrar los planos familiares y escolares para comprender la formación ciudadana de los niños y cuál de estos dos grupos influye más en los niños.

Por otra parte, la revisión de literatura marco dos enfoques principales teóricos bajo los que se han desarrollado los trabajos de educación ciudadana, por un lado, los de cultura política y por el otro el de actitudes.

La decisión de escoger el concepto de actitudes se debe a que este concepto permite explicar la influencia de la escuela y de la familia en la formación de actitudes, permite distinguir los cambios en el comportamiento político y percepciones que tienen los individuos partiendo del supuesto de que estos no son perdurables en el tiempo.

De esta manera, se resalta la necesidad de realizar estudios que junten el ámbito familiar y escolar para explicar la formación de actitudes democráticas en los niños ya que son en estos dos grupos donde los niños interactúan en sus primeros años y de ahí obtienen conocimientos, ideas y percepciones de su entorno social

Sin embargo, no se olvida el papel que ejercen los grupos de referencia (amigos), el entorno social y los medios de comunicación en la formación de actitudes democráticas en los niños.

En resumen, la aportación de este artículo es distinguir aquellos vacíos que ha dejado la literatura y contribuir a la distinción de nuevas líneas de investigación que permitan explicar la formación de actitudes democráticas de una manera integral.

6. Referencias

1) Alcántara Santuario, A. (2017). *Educación cívica y educación ciudadana en México: una perspectiva global y comparada. Revista Española de Educación Comparada,* (29), 220-239. Recuperado de: https://doi.org/10.5944/reec.29.2017.17096
2) Carrero. Wilmer, Giraldoth. Debora (s/f) *La familia, la escuela y la comunidad, en la formación de valores ciudadanos.* Recuperado de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:3uwA_hZDkWkJ:www.produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/cuadernos/article/download/19417/19391+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=mx
3) Estrada Ruiz Marcos Jacobo (2014) *La prospectiva de la participación social en la educación en México.* El punto de vista de los especialistas. Revista Brasileira de Educação v. 19 n. 58 jul.-sep.
4) Flores- Crespo Pedro; Ramírez Ramón Ana Violeta (2015) *La Participación Social en la Escuela en México. Una Revisión de Literatura*. EICE. Revista Iberoamericana sobre Calidad, Eficacia y Cambio en Educación, 2015, 13(3), 77-94.
5) Giraldo Paez Dignora Inés (2016) *Formación de la ciudadanía autónoma en la educación Superior virtual en Colombia (caso universidad nacional abierta y a distancia UNAD).* Universidad de Cartagena. Tesis Doctoral
6) Lars Gunnar Stojnic Chávez (2015) "*El efecto de la experiencia escolar en el desarrollo de actitudes favorables hacia la democracia como mejor sistema político: el caso de estudiantes peruanos recién graduados del nivel secundario",* Colombia Internacional , 85 (September 2015): 111-139.Recuperado de https://doi.org/10.7440/colombiaint85.2015.04
7) Leyva Cordero, Oswaldo, Muñiz, Carlos, & Flores Hernández, María de los Ángeles. (2016). *La conformación de actitudes políticas de los jóvenes universitarios en el contexto preelectoral 2015 en Nuevo León*. Revista mexicana de opinión pública, (21), 51-70. Recuperado en 21 de febrero de 2019, de

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-49112016000200051&lng=es&tlng=es.

8) Monsalve, Arroyave Diana (2017) *Formación Política en la Escuela*. Universidad Nacional de Colombia. Tesis de Maestría
9) Muñoz Labraña Carlos; Torres Duran Bastián (2014*) La formación ciudadana en la escuela: Problemas y desafíos*. Revista Electrónica Educare Vol. 18(2) mayo-agosto, 2014: 233-245
10) Peña Bustos Manuel (2016) *Escuela, política y ciudadanía: significados que otorgan directivos, docentes y estudiantes de tercero y cuarto año medio a la formación ciudadana en la escuela.* Universidad de Chile. Tesis de Maestría
11) Perales Mejía, Felipe de Jesús, & Escobedo Carrillo, María Máyela. (2016). La participación social en la educación: entre propuestas innovadoras y tradición educativa. *Revista electrónica de investigación educativa*, *18*(1), 69-81. Recuperado en 08 de septiembre de 2018, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1607-40412016000100005&lng=es&tlng=es.
12) Pérez Galván, L., & Ochoa Cervantes, A. (2017). *La participación de los estudiantes en una escuela secundaria. Retos y posibilidades para la formación ciudadana*. Revista Mexicana de Investigación Educativa, 22 (72), 179-207.
13) Peschard, Jaqueline (2016) *La cultura política democrática*. Cuadernos de Divulgación de la Cultura Democrática. INE, México
14) Pinto-Archundia, Rodolfo (2016) *La importancia de promover los valores del hogar hacia las escuelas primarias*. Ra Ximhai, vol. 12, núm. 3, enero-junio, 2016, pp. 271-283.Universidad Autónoma Indígena de México El Fuerte, México
15) Plaza de la Hoz, Jesus y Caro Samanda Carmen (2016) *La implicación de la familia en la formación ético-cívica de los jóvenes a través de las TIC*. Revista de Psicología, Ciències de l'Educació i de l'Esport., vol. 34, núm. 2. Recuperado de http://www.revistaaloma.net/index.php/aloma/article/view/291/202
16) Torres Bugdud, Arturo; Álvarez Aguilar, Niva; Obando Rodríguez, María del Roble (2013) *La educación para una ciudadanía democrática en las instituciones educativas: Su abordaje socio pedagógico.* Revista Electrónica Educare, vol. 17, núm. 3 pp 151-172
17) Veramendia García, María Laura. (2012) *Educación y aprendizajes. Educación y Ciudadanía. Análisis de la relación entre trayectoria educativa, literacidad, ethos, y praxis política en una muestra de adultos de un distrito de los Andes Peruanos*. Ediciones Arteta, Lima, Perú.

Concientización sobre calidad del aire a través de Facebook

Andrea Constanza Castañeda Gutiérrez, Ana Cecilia Pacheco Quevedo, Karina Lizet Carrillo Matamoros, Gabriela Itaí Mauricio Ledesma, Lucia Benítez Compagny, Belén Pérez Espinosa, Verónica Jacqueline Cruz Villegas.
Presenta: Belén Pérez Espinosa
Contacto: 24perezb@gmail.com

Facultad de Psicología, Universidad Autónoma de Querétaro.

Asesor: Evelyn Diez-Martínez-Day
Facultad de Psicología Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

La calidad el aire es un tema del cual se ha ido hablando desde ya hace varias décadas pero la información no parece crear el impacto deseado en las formas de vida y consumo de la humanidad. El presente trabajo tuvo como objetivo el concientizar a la población universitaria de la Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro sobre sus acciones y las consecuencias que se ven reflejadas en la calidad del aire. Inicialmente se realizó un cuestionario pre-test para ubicar el grado de conocimiento sobre la temática y con base a los resultados se seleccionó la información que se difundiría en un curso a través de una página de Facebook titulada “Somos lo que respiramos”, donde semanalmente se brindó información específica acerca de las problemáticas relacionadas a la calidad del aire. Asimismo se abrió una convocatoria para fomentar la participación activa y reflejar el aprendizaje adquirido. De manera consecuente se realizó un post-est para observar los cambios en las respuestas a partir de un conocimiento más profundo sobre el tema. Los resultados arrojados fueron favorables lo que indica que la información compartida genero un aprendizaje en la población. Se logró ampliar el conocimiento sobre las causas y problemáticas que influyen en la calidad de aire, siendo necesario profundizar en las acciones preventivas. Es preciso difundir información respecto a las problemáticas ambientales para generar conductas pro-ambientales y sustentables en los jóvenes.

Palabras clave: curso sobre calidad del aire, Facebook, conducta pro-ambiental, educación ambiental, universitarios y aprendizaje.

Abstract

Air quality is an issue that has been talked about for several decades but the information does not seem to create the desired impact in the consumption and lifestyle of humanity. The objective of this work was to make the university population at the Psychology School of the Autonomous University of Querétaro, aware of the impact of their actions and their consequences that impacted on the quality of the air. Initially a questionnaire pre-test was carried out to evaluate the degree of knowledge of participants about the theme. Based on the results a Facebook page, entitled "Somos lo que respiramos”, was created including selected information to be disseminated weekly which provided specific information about the problems related to air quality. A call was also opened to encourage active participation that allowed to see what participants were consulting. Consequently, a post test was carried out to observe the changes in the answers based on a deeper knowledge of the subject. The results were favorable, which indicates that shared information generated learning in the population. It was possible to increase the knowledge about the causes and problems that influence air quality, and encouraged preventive actions. It is necessary to disseminate information regarding environmental problems in order to generate pro-environmental and sustainable behaviors in university students.

Key words: course about air quality awareness, Facebook, pro-environmental behavior,

environmental education, university students, learning.

Introducción

"La educación ambiental es un proceso destinado a la formación de una ciudadanía que tenga valores, aclare conceptos y desarrolle las habilidades y las actitudes necesarias para una convivencia armónica entre los seres humanos, su cultura y su medio ambiente." (Secretaría del Medio Ambiente, 2018.) Su desarrollo depende de la práctica que logre vincular a la comunidad con la naturaleza, adquiriendo valores sociales. La contaminación del aire se basa en la alteración de los gases suspendidos en la atmósfera y es considerada un problema ambiental que se ha potencializado con el paso de los años y sus causas son múltiples resultado de la vida industrial que llevamos en la actualidad. Respirar aire contaminado afecta la calidad de vida de cualquier ser humano, así como el equilibrio climático del planeta, causando daños terrestres permanentes. Por calidad del aire se entiende la cifra que proporcionan las autoridades respecto a una zona, normalmente urbanizada, que refleja las cantidades de los diferentes contaminantes presentados en el aire.

Se planificó un curso sobre la calidad del aire, en el cual se aplicó un cuestionario inicial y uno final que permitieran evaluar y comparar los conocimientos iniciales con los adquiridos en los estudiantes universitarios y así observar qué impacto tuvo el curso mencionadotienen.. El presente trabajo muestra el nivel de concientización al que se llegó con la información proporcionada sobre la calidad del aire por medio de la red social de Facebook, en los estudiantes.

El objetivo de la investigación fue analizar si la información brindada en el curso sobre "Calidad del aire", mediante el uso de carteles y redes sociales, genera aprendizaje y mayor conocimiento para aumentar la concientización sobre este tópico en los estudiantes universitarios de la Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Material y método

Para dar inicio con el proyecto se hizo una investigación general sobre el tema de contaminación y calidad del aire. Con esa información se elaboró un cuestionario inicial haciendo uso de Google Forms, donde se formularon cinco preguntas de opción múltiple con la finalidad de percibir los conocimientos que tienen los estudiantes sobre el tema.

Posteriormente, se creó la página en Facebook titulada "*Somos lo que respiramos",* con el fin de dar a conocer de manera semanal un tema en específico de la "calidad del aire" y ampliar en los estudiantes su conocimiento sobre el mismo. La página de Facebook también se utilizó para proporcionar los links de los cuestionarios.

Se prosiguió a la realización de carteles informativos donde se expusieron las temáticas, el link del cuestionario inicial, la página de Facebook. Igualmente se convocó a los estudiantes a participar en un concurso de carteles sobre concientización de las temáticas planteadas durante el curso de "calidad del aire", donde los premiados tendrían una remuneración económica.

Los carteles elaborados por las investigadoras se pegaron dentro de la Facultad de Psicología de la UAQ y se prosiguió a pasar por todos los salones, compartiendo el cuestionario inicial para su ejecución. De igual manera se anunció a la población que durante las siguientes semanas se estaría publicando información en la página de Facebook "*Somos lo que respiramos"*, a la cual debían dar like, si es que intentaban participar en el concurso de carteles.

A partir de las 87 respuestas de la primera aplicación del cuestionario, se seleccionó el material a subir de manera semanal a la página de Facebook. La intención fue proporcionar información sobre la calidad del aire a los estudiantes y que ésta les fuera

útil para la realización de su propio cartel, si es que deseanban participar en el concurso.

Para la publicación de la primer semana se empleó una infografía, la cual contenía una frase de Jack Nicholson, sobre la importancia del aire y un dato sobre la contaminación atmosférica y el impacto que tiene ésta, adjuntando la liga de un video sobre la misma temática.

Durante la segunda semana, se agregó a la página de Facebook una imagen sobre la calidad del aire que respiramos, lo que remitía también a la calidad de vida que queremos y necesitamos, ya que es responsabilidad de todos los individuos. Acompañando la imagen se enlazó un link que redireccionaba a EcoPortal con una nota titulada "Ciudades sustentables: aportes de la silvicultura urbana", además de otro link donde se podían consultar acciones en pro de la calidad del aire, éstas por parte del Gobierno de México.

En la tercera semana se compartió un cartel con una frase de Amit Abraham, acompañada de un dato informativo sobre la ciudad con mayor contaminación en el aire y la cantidad de personas afectadas por ello. En la parte superior de la imagen, se adjuntó un enlace de un video en Youtube, así como un link de EcoPortal donde se abordó una nota titulada "El colapso de la Tierra está cada vez más cerca" que retoma datos de la Organización de las Naciones Unidas que visualizan los efectos de las emisiones de CO2. Considerando que alrededor de estas fechas se presentó la contingencia ambiental en Querétaro y México, anexamos un link que hablaba sobre la contaminación atmosférica, titulado México en el lugar tres del ranking de aires más contaminados del mundo para hacer una concientización más enfocada en el contexto.

A lo largo de todas las publicaciones se recordó a los seguidores sobre el concurso de carteles.

Al término de estas semanas se realizó y aplicó un segundo cuestionario para ver el conocimiento adquirido. Aunado a las cinco preguntas iniciales se agregaron tres más, con relación a la información que se proporcionó en las publicaciones de Facebook.

Se compartió nuevamente el link del cuestionario, obteniendo un total de 17 participantes.

Una vez recogidos los datos, se realizó el análisis donde se graficaron los porcentajes de frecuencia de respuesta haciendo una comparación entre el primer y segundo cuestionario.

Por cuestiones de tiempo del semestre, se extendió la fecha de recepción de carteles a la primera semana de agosto, para incrementar la participación de la población. La gratificación por cartel ganador será de $500.

Resultados

Los siguientes resultados exponen los datos obtenidos por respuesta, comparando las cinco primeras las respuestas del primer cuestionario con las del segundo. Considerando que hubo una diferencia en el número de participantes del primer cuestionario (87) y aquellos del segundo cuestionario (17,. se ha considerado el porcentaje de la población en cada caso como el 100%. A continuación se presentan los resultados expuestos en gráficas de barras, acompañada cada una con su respectiva interpretación. Los sujetos podrían seleccionar mas de 1 opción como respuesta.

1. Marca el indicador principal que te permite saber que la calidad del aire no es buena.

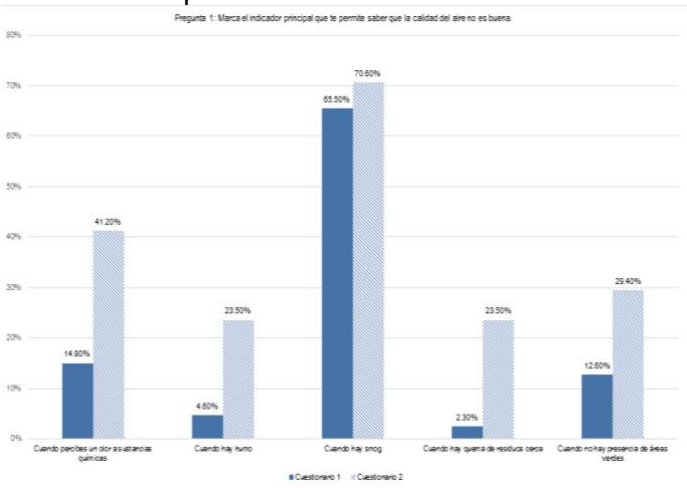


Tabla 1

La mayoría de las personas que contestaron ambas encuestas, consideran que el smog es el indicador principal que permite saber si la calidad del aire es buena o mala. El porcentaje obtenido para esa respuesta fue de 65.5% en el primer cuestionario y 70.6% en la aplicación del segundo cuestionario.

En la gráfica también se puede observar que la respuesta con menor frecuencia en ambos cuestionarios es la de "cuando hay quema de residuos cerca", arrojando un 2.3% en el primer cuestionario y 23.5% en el segundo cuestionario.

De manera general se muestra un incremento en los porcentajes en las respuestas dadas en la aplicación del segundo cuestionario, esto fue debido a que los usuarios que lo contestaron, seleccionaron como correcta más de una respuesta, lo cual podría indicar el efecto de la concientización de las temáticas propuestas en la página de Facebook.

2. Marca 2 opciones que para ti sean las principales fuentes de contaminación del aire.

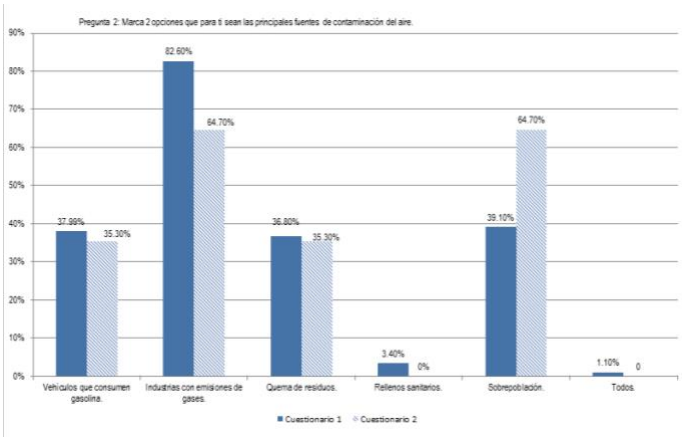


Tabla 2

Los datos de la gráfica de la pregunta 2 denotan que la mayoría de los sujetos eligieron la respuesta de que las "industrias con emisiones de gases" es una de las principales fuentes que contaminan el aire tanto en el primer y segundo cuestionario con un 81.6% y 64.7%, así mismo, la segunda opción de respuesta con más frecuencia en el primer cuestionario fue la "sobrepoblación" con un 39.1%. Sin embargo, puede observarse que las dos opciones de respuesta mencionadas anteriormente, ambas obtuvieron el mismo porcentaje (de 64.7) en el segundo cuestionario.

Por el contrario, las opciones de respuesta menos seleccionadas fueron las siguientes: "rellenos sanitarios" con un 3.4% en el primer cuestionario y 0% en el segundo; de igual manera, sólo el 1.1% de los encuestados respondieron a la opción de "todos" en el primer cuestionario.

3. Marca tres enfermedades que pueden ser producidas por la exposición diaria a la contaminación del aire.

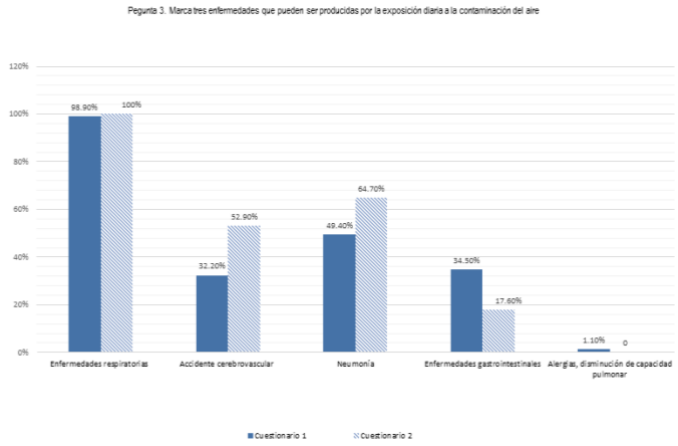


Tabla 3

La siguiente gráfica muestra que tanto en el antes y el después la respuesta mayormente considerada como consecuencia a la exposición a la contaminación del aire son las *enfermedades respiratorias* teniendo un porcentaje de 98.90% en la primera encuesta que se aplicó y el 100% en la encuesta que se aplicó después.

En cambio, la respuesta que apareció con menos frecuencia fue la de a*lergias, disminución de capacidad pulmonar*, por lo que fue la menos seleccionada dentro de las 3 enfermedades provocadas por la exposición a la contaminación del aire.

4. Marca 3 acciones que has realizado para disminuir el impacto de la contaminación del aire en tu entorno.

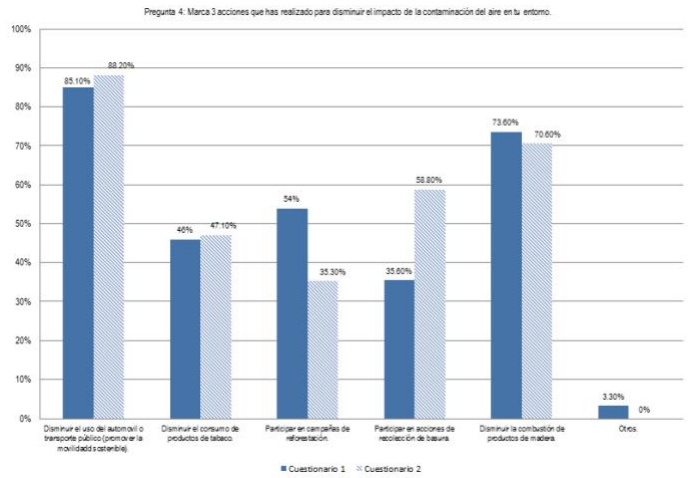


Tabla 4

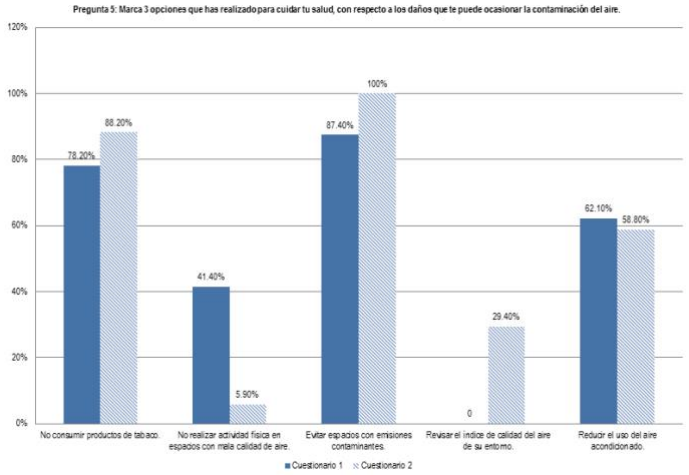


Tabla 5

En la siguiente gráfica se muestra tanto en la primera aplicación del cuestionario como de la última aplicación, el mayor porcentaje de respuesta fue, la disminución del uso del automóvil y transporte público con un 85,1% inicial y un 88,2% final, como la segunda respuesta con mayor porcentaje fue la disminución de productos de madera como el uso de carbón o fogatas, con un porcentaje inicial de 73,6% y 70,6% como final. Como tercer porcentaje de los resultados fue la participación en acciones de recolección de basura (#BasuraChallenge), con un porcentaje inicial de 35,6% y 58,8% final.

Y la respuesta con menor porcentaje en ambos cuestionarios fue la opción de otros con un 3,3%; Entre las opciones de otros, los indicadores de respuestas fueron los siguientes: el reciclado de cartón vidrio, papel, etc, poner imágenes en Facebook sobre la contaminación y ninguno.

5. Marca 3 acciones que has realizado para cuidar tu salud, con respecto a los daños que te puede ocasionar la contaminación del aire.

En la gráfica se puede observar que tanto en el primer cuestionario como en el segundo, la respuesta que más porcentaje tuvo, es decir que fue de las más seleccionadas entre las tres opciones que podían elegir, fue la de "evitar espacios con emisiones contaminantes (tabaco, químicos, gases), teniendo 87.4% en el primero y 100% en el segundo. Las dos opciones con menor porcentaje de respuesta en ambos cuestionarios fueron la de "no realizar actividad física/deportiva en espacios con mala calidad de aire" y la de "revisar el índice de calidad del aire de tu entorno".

6. La ONU ha alertado sobre un colapso climático, sanitario y social. Pero también resaltó la solución, que es…

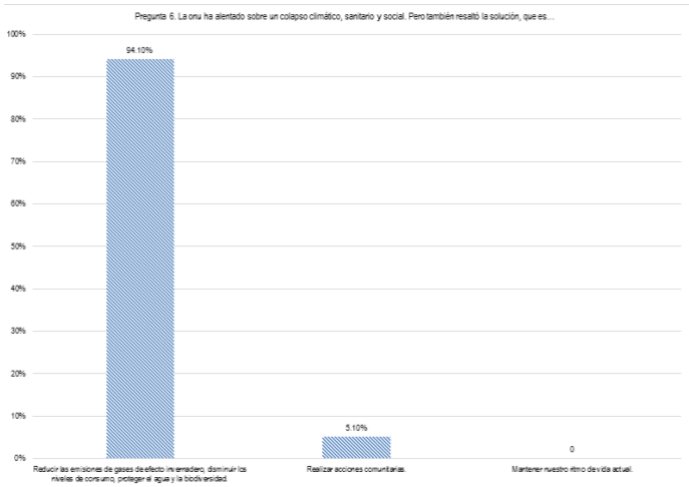


Tabla 6

En la presente gráfica se puede observar que el 94.1% de la población consideró que la solución es reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, disminuir los niveles de consumo, proteger el agua y la biodiversidad, respuesta otorgada en un informe de la ONU dentro de una de nuestras publicaciones.

El 5.9% de la población eligió la opción de realizar acciones comunitarias, respuesta también considerada como parte de la solución del problema general.

El 0% de la población eligió la opción de mantener el ritmo de vida actual, lo que indica un grado de concientización hacia un cambio.

7. ¿Qué es el índice de calidad del aire?

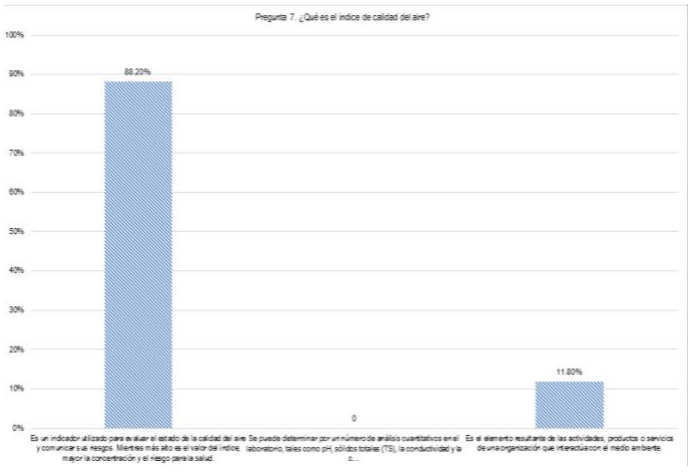


Tabla 7

En la presente gráfica se puede observar que el 88.2% consideró que es un indicador utilizado para evaluar el estado de la calidad del aire y comunicar sus riesgos. Mientras más alto el valor del índice, mayor es la concentración y el riesgo para la salud, siendo la respuesta esperada y brindada dentro de nuestras publicaciones. En Facebook.

El 11.8% consideró que es el elemento resultante de las actividades, productos o servicios de una organización que interactúa con el medio ambiente.

El 0% optó por considerar que se puede determinar por un número de análisis cuantitativos en el laboratorio, tales como pH, sólidos totales (TS), la conductividad y la contaminación microbiana, al no contemplar como tal una definición.

8. ¿Tiene algún efecto la contaminación del aire en las mascotas y las plantas?

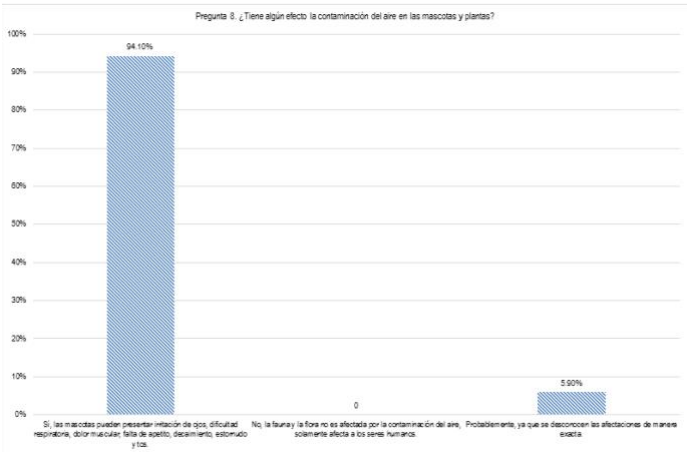


Tabla 8

En la presente gráfica se puede observar que el 94.1% de la población consideró que las mascotas pueden presentar irritación de ojos, dificultad respiratoria, dolor muscular, falta de apetito, decaimiento, estornudo y tos. En la vegetación se observa una disminución de la cantidad de plantas, poco crecimiento y decoloración de las hojas. Esta era la respuesta esperada.

El 5.9 de la población consideró que probablemente haya un efecto, ya que se desconocen las afectaciones de manera exacta. Esto podría deberse a falta de acercamiento con la información.

El 0% de la población considera que no haya un efecto sobre la flora y la fauna.

Conclusiones

A pesar de que hubo un pequeño cambio en las respuestas de ambos cuestionarios, el proyecto no tuvo el impacto que se esperaba, esto se pudo observar por la poca participación en la realización de carteles y en los pocos seguidores de la página de Facebook. Lo anterior pone de relieve la importancia de seguir realizando estudios de este tipo ya que plantean entre otras algunas de las siguientes problemáticas: el hecho de que trabajar procesos de

aprendizaje fuera del aula donde los alumnos no son monitoreados personalmente puede generar desinteres por ausencia de seguimiento personal. Igualmente a pesar de que las redes sociales son muy importantes para los sujetos puede ser que estas sean utilizadas mas para obtener y proporcionar otro tipo de información y no información con formato escolarizado, igualmente obliga a revisar las temáticas y ligas incluídas para pasar la información a los participantes. Todos estos puntos deben ser revisados en estudios posteriores.

Se puede dar cuenta de que los estudiantes cuentan con una idea general sobre lo que es la calidad del aire y sobre las consecuencias que la contaminación del aire tiene, tanto en su salud como en el medio ambiente, sin embargo no toman muchas medidas preventivas para evitar que el problema se siga agravando, por lo que es necesario seguir instruyendo a la comunidad universitaria para generar conductas pro-ambientales, principalmente dirigidas a evitar la contaminación del aire, ya que aunque se tenga conocimiento sobre esta problemática aún no se ha tomado total conciencia de lo que ila contaminación del aire implicará dentro de unos años.

Bibliografía

Secretaría del Medio Ambiente (2018). *Programa de educación ambiental*. Recuperado de https://sma.edomex.gob.mx/educacion_ambiental

CeMCAQ. (2017) Resumen del índice de calidad del aire en el Estado de Querétaro. Calidad del Aire. http://www.cemcaq.mx/reportes

ECOPORTAL. (2019). *El colapso de la Tierra está cada vez más cerca.* Recuperado el 2019, de https://www.ecoportal.net/paises/el-colapso-de-la-tierra-esta-cada-vez-mas-cerca/?fbclid=IwAR2vkX2gw1pjxeWjNLCA_z5PLBtvhrQLXe69Pz_Xlk-HjN1XWYL5yMlmkHU

Geographic, N. (2018). *Cómo afecta el consumo de tabaco al ambiente*. Recuperado el 2019, de National Geographic en Español: https://www.ngenespanol.com/naturaleza/como-dana-el-tabaco-al-medio-ambiente

UNESCO, PNUMA. (2002). YouthXchange: Manual de educación para un consumo sostenible.

IMPACTO DE FACEBOOK AL BRINDAR INFORMACIÓN DEL CALENTAMIENTO GLOBAL.

Autores: Lucero Cabrera Reséndiz, Iryanely Cortés Sánchez, Diana García Martínez, Mariana Pineda Muñoz y Eliazar Rico Cárdenas.

Facultad de Psicología Universidad Autónoma de Querétaro

Asesor: Evelyn Diez-Martinez Day

pinedammariana@hotmail.com

N° Expediente: 218719

RESUMEN

El calentamiento global es una problemática que enfrenta actualmente la humanidad. Este fenómeno viene acompañado de catástrofes como inundaciones, sequias, enfermedades, desplazamiento de especies animales y vegetales, etc. La investigación se realizó de manera virtual, es decir, en un primer momento se le pidió a la comunidad de alumnos de la Facultad de Psicología de la UAQ responder a un cuestionario de 10 preguntas presentado en una plataforma virtual sobre temáticas tales como; definición de calentamiento global, causas del calentamiento global, consecuencias del calentamiento global y altruismo ambiental, con el fin de conocer sus conocimientos iniciales acerca de los temas antes mencionados. Posteriormente se les informó de la creación de una página en la red social de Facebook, donde, durante 4 semanas se subió información para incrementar sus conocimientos y pudieran responder un segundo cuestionario, el cual contenía las 10 preguntas iniciales más otras cuatro, relacionadas a las publicaciones que se hicieron en la página de facebook y permitiendo así conocer el impacto del curso. Finalmente, se invitó a los alumnos a participar en un concurso de carteles el cual tendría como incentivo un premio monetario, llevándose acabo al concluir el proceso de evaluación. Los resultados mostraron una mejora en las respuestas en el segundo cuestionario, al compararlas con las obtenidas inicalmente, a lo que se llegó como conclusión que, la información que se brindo fue la correcta e incrementó el nivel de conocimiento de los participantes.

PALABRAS CLAVE: curso calentamiento global, universitarios, facebook, educación ambiental.

ABSTRACT

Global warming is one of the actual mayor problems of humanity. This phenomenon is accompanied of catastrophes, flooding, drought, sicknesses, migration of animals and plants, etc. This research was done via virtual means, that is, during a first moment the community of the school of Psychology at the Autonomous University of Queretaro was asked to respond to a questionnaire of 10 questions using a virtual platform, on topics such as; global warming, its causes and consequences and environmental altruism. Afterwards participants were informed of the creation of a Facebook page, were during 4 weeks information would be uploaded so they would be able to increase their knowledge about the theme and respond to a second questionnaire that contained the same 10 questions and 4 more, allowing to observe the impact of the course. Finally, participants were invited to elaborate posters concerning global warming for a contest that would have a monetary prize at the end of the 4

weeks course. Results show an increase in correct answers through the comparison between the first and second questionnaires, Conclusion were that information provided was correct and adequate to increase knowledge of participants.

KEY WORDS

Course on global warming, university students, Facebook, environmental education

INTRODUCCIÓN

El calentamiento global según Barboza (2013) citado en (Godoy & Espinoza, 2018) es un fenómeno generador de los inconvenientes ambientales globales más complejos. También menciona que es un fenómeno donde se observan las medidas de la temperatura, los promedios de su aumento en la atmósfera terrestre y en los océanos durante las últimas décadas.

En "El Planeta Tierra en peligro: Calentamiento Global. Cambio Climático. Solución" del autor José Amestoy (2010) se define el calentamiento global como un conjunto de situaciones, tales como la erosión de los suelos y la desertificación en el mundo y de manera particular en las áreas áridas, el autor menciona que es un problema que está alcanzando una gran magnitud y que el desierto está avanzando de una manera acelerada. Por último, se hace mención de que el calentamiento es consecuencia de la actividad política y económica de los seres humanos.

Por último, en "Efecto invernadero, calentamiento global y cambio climático: una perspectiva desde las ciencias de la tierra" de Caballero, M., Lozano, S. y Ortega, B.,(2007) se da una caracterización de lo que es el calentamiento global como el incremento progresivo de la temperatura, este aumento va de la mano con el aumento de CO2 atmosférico y respecto a este aumento de CO2 atmosférico menciona que podría no ser todo culpa de la actividad humana sino de procesos naturales, como 1. La disolución en el océano y 2. La actividad biológica.

OBJETIVO

- Impartir un curso sobre calentamiento global mediante Facebook a estudiantes de la Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro.
- Informar y hacer conciencia en los estudiantes de la Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro sobre el calentamiento global a través de Facebook

JUSTIFICACIÓN

El calentamiento global es una situación de relevancia mundial de la cual ya estamos viendo y viviendo las causas y consecuencias, por lo que estamos seguros de la necesidad de abordar este tema con los jóvenes y así plantear nuevas formas y estrategias de trabajo para informar y concientizar a la población mediante el uso de las redes sociales como los es Facebook.

La Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) en 2009 publicó que los expertos han previsto que la temperatura promedio de México en el año 2020 podría ser entre 1.5 y 2.5°C mayor que la actual y llegaría hasta los 2 y 4°C para el año 2080.

Un artículo publicado por National Geographic España en marzo de 2019 menciona que la pérdida anual de masa de los glaciares de los dos polos equivale a 268 millones de piscinas olímpicas, todo esto por el incremento de temperatura en el aire que hace que en lugar de que los polos comiencen a derretirse a un ritmo constante a medida que el clima se calienta, la capa se derrita cada vez más por cada grado de aumento en la atmósfera.

Una de las consecuencias con mayor impacto es la extinción de las especies, en The New York Times(2019) se menciona algo al respecto; los humanos están transformando los paisajes naturales de la Tierra de manera tan dramática que hasta un número tan grande como un millón de especies vegetales y animales están en peligro de extinción, lo que representa una amenaza grave a los ecosistemas de los que personas de todo el mundo dependen para su

supervivencia, concluyó un nuevo estudio exhaustivo de las Naciones Unidas.

Por lo tanto, la intención principal de este proyecto fue informar y hacer conciencia en un estrato de la población, en jóvenes universitarios de la Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro de esta problemática, mediante el uso de la red social Facebook, ya que es una herramienta que los estudiantes usan de manera continua en la que la información se transmite de manera viral.

METODOLOGÍA

Se elaboró un cuestionario en los formularios de Google, la cual nos sirvió para conocer los supuestos previos de los participantes respecto al tema de calentamiento global. Para la aplicación se tomó como participantes a los alumnos de la facultad de psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Se finalizó el cuestionario con 122 participantes, a continuación, se muestran las preguntas de la encuesta aplicada y las opciones de respuesta de las mismas.

1. **De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define el calentamiento global?**

a) Es la tendencia a incrementar la temperatura, que durante los últimos 150 años ha mostrado la temperatura global del planeta.
b) Se denomina así debido a que forma una capa aislante alrededor de la Tierra, como el vidrio en un invernadero, que atrapa el calor de los rayos solares.
c) Es el aumento gradual de las temperaturas de la atmósfera y océanos de la tierra ocasionados por el dióxido de carbono.

2. **De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define el cambio climático?**

a) Es un cambio en el clima que es atribuido directa o indirectamente a las actividades humanas que altera la composición global de la atmósfera y a la variabilidad climática que ha sido comparada con otros periodos de tiempo.
b) El cambio climático es un proceso natural del planeta.
c) Es el calentamiento de temperatura excesivo por el CO2 producido por la actividad volcánica.

3. **De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define el efecto invernadero?**

a) Algunos gases retienen la energía que emite la tierra tras haber sido calentada por la radiación solar.
b) Se refiere a un mecanismo por el cual la atmósfera de la Tierra se calienta, y es un mecanismo que ha existido desde que la Tierra tiene atmósfera (hace unos 4,000 millones de años).
c) Se refiere a la tendencia a incrementar que durante los últimos 150 años ha mostrado la temperatura global del planeta.

4. **De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define la contaminación atmosférica?**

a) Es la presencia en el aire de materias o formas de energía que implican riesgo, daño o molestia grave para los seres vivos.
b) Es un problema global y una de las principales causas de muerte en el mundo, causa de enfermedades crónicas, daños neurológicos y enfermedades que pueden incapacitar a una persona.
c) Es la acumulación de basura resultado del consumo humano.

5. **De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define la reducción de la capa de ozono?**

a) La capa de ozono se está deteriorando debido a la liberación de la contaminación que contienen los productos químicos cloro y bromo.
b) Aumenta el nivel de radiación ultravioleta que llega a la superficie de la tierra, lo cual, a su vez, puede aumentar las probabilidades de sobreexposición a los rayos ultravioleta y los problemas de salud.
c) La capa de ozono en la atmósfera protege la vida en la tierra de los rayos ultravioleta de la luz solar.

Posteriormente se llevó a cabo la difusión de la información por medio de las redes sociales (Facebook), conociendo el alcance que tiene Facebook, se creó una página con el nombre “Calentamiento global” en la cual se estaría subiendo en forma de carteles información breve sobre la temática que se trabajaría. La información se subía de manera semanal, en cada semana se abordó un tema diferente:

- Semana 1. Definición de calentamiento global
- Semana 2. Causas del calentamiento global
- Semana 3. Consecuencias del calentamiento global
- Semana 4. Altruismo ambiental

La siguiente imagen es un ejemplo de los carteles que se estuvieron subiendo cada semana a la página de “Calentamiento Global” por medio de la red social Facebook.



Para evaluar los conocimientos adquiridos sobre los conceptos de los que se brindó la información, se realizó una segunda aplicación del cuestionario en la que solo se obtuvo la respuesta de 18 participantes.

RESULTADOS

Los resultados fueron obtenidos mediante la contabilización de la frecuencia de respuesta en el cuestionario inicial y final. Como la muestra que respondió al primer y segundo cuestionario no fue igual en número los resultados son presentados en porcentajes de respuesta.

Estos son los porcentajes que se obtuvieron de las respuestas de los alumnos que participaron en la aplicación de la primera encuesta.

Pregunta 1:

En la primera aplicación se obtuvo que el 82% eligieron la respuesta correcta que es el inciso C, el 13.1% eligieron la opción B y el 4.9% eligieron la opción A

En la segunda aplicación se obtuvo que un 16.7% de la población encuestada marcó el inciso A, por otro lado, el 22.2 % de la población marcó el inciso B, y, por último, el 61.1 % de la población marcó la opción C.

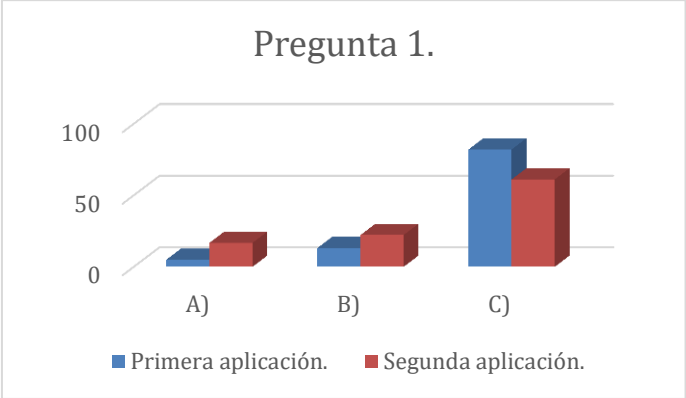


Figura 1: De las siguientes opciones, ¿cuál es la mejor que define el calentamiento global?

a) Es la tendencia a incrementar la temperatura, que durante los últimos 150 años ha mostrado la temperatura global del planeta.
b) Se denomina así debido a que forma una capa aislante alrededor de la Tierra, como el vidrio en un invernadero, que atrapa el calor de los rayos solares.

c) Es el aumento gradual de las temperaturas de la atmosfera y océanos de la tierra ocasionados por el dióxido de carbono.

Resulta interesante el hecho de que en un porcentaje importante los participantes incrementaron sus respuestas en la opción C que era la respuesta mas adecuada.

Pregunta 2:

En la primera aplicación se obtuvo que el 91.8% de los participantes eligieron la respuesta correcta que es el inciso A, el 5.7% eligieron la opción B y el 2.5% eligieron la opción C.

En la segunda aplicación se obtuvo que el 94.4% de la población total, marcó el inciso A, por otro lado, el 5.6% de la población restante optó por el inciso B, y, por último, el 0% de la población marcó la opción C.

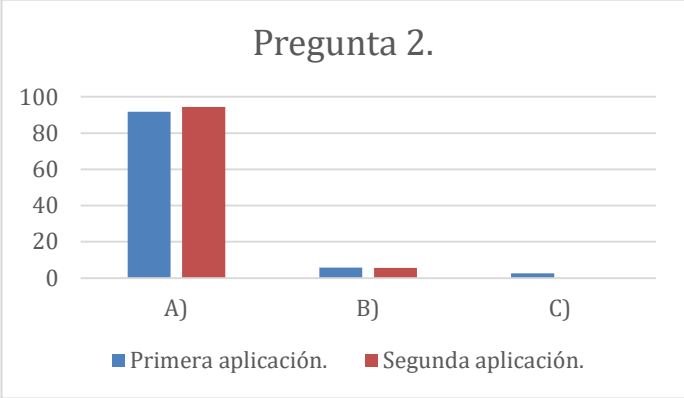


Figura 2: De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define el cambio climático?

a) Es un cambio en el clima que es atribuido directa o indirectamente a las actividades humanas que altera la composición global de la atmósfera y a la variabilidad climática que ha sido comparada con otros periodos de tiempo.
b) El cambio climático es un proceso natural del planeta.
c) Es el calentamiento de temperatura excesivo por el CO2 producido por la actividad volcánica.

Nuevamente aparece un mínimo incremento en la segunda aplicación de la respuesta correcta.

Pregunta 3:

En la primera aplicación se obtuvo que el 55.7% de los participantes eligieron la respuesta correcta que es el inciso A, el 32% eligieron la opción B y el 12.3% eligieron la opción C.

En la segunda aplicación se obtuvo un 55.6 % del inciso A, después se observa que en el inciso B se tiene un 38.8% y por último un 5.6% eligieron el inciso C.

En estas respuestas no se incrementa la frecuencia de respuestas correctas indicando tal vez que la información o no fue comprendida o no fue suficientemente relevante para que hubiera un cambio radical en las respuestas.

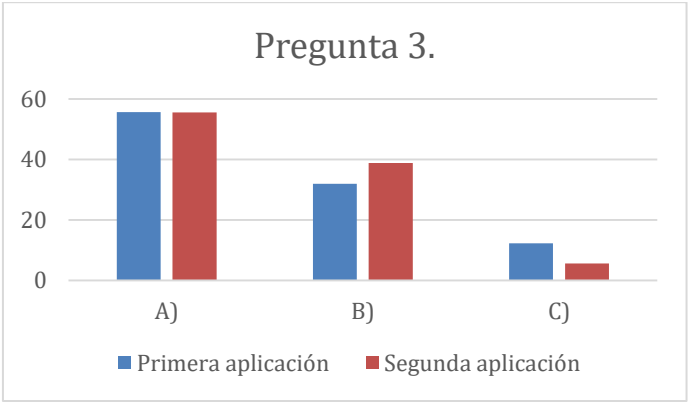


Figura 3: De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define el efecto invernadero?

a) Algunos gases retienen la energía que emite la tierra tras haber sido calentada por la radiación solar.
b) Se refiere a un mecanismo por el cual la atmósfera de la Tierra se calienta, y es un mecanismo que ha existido desde que la Tierra tiene atmósfera (hace unos 4,000 millones de años).
c) Se refiere a la tendencia a incrementar que durante los últimos 150 años ha mostrado la temperatura global del planeta.

Pregunta 4:

En la primera aplicación se obtuvo que el 77% eligieron la respuesta correcta que es el inciso A, el 16.4% eligieron la opción B y el 6.6% eligieron la opción C.

En la segunda aplicación se obtuvo en el inciso A un 77.8%, después en el inciso B se obtuvieron 16.7%, y para el inciso C se obtuvieron 5.6% respuestas.

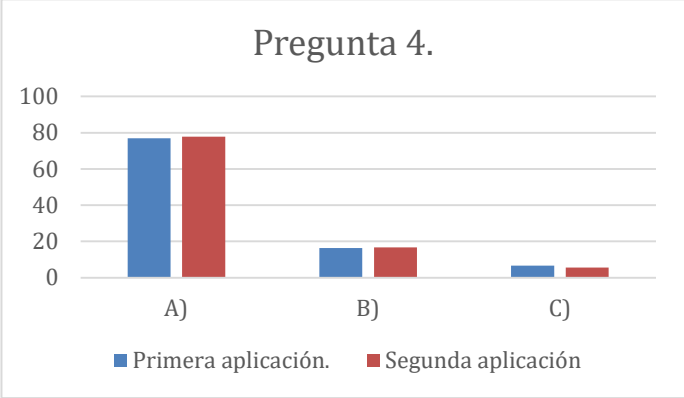


Figura 4: De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define la contaminación atmosférica?

a) Es la presencia en el aire de materias o formas de energía que implican riesgo, daño o molestia grave para los seres vivos.
b) Es un problema global y una de las principales causas de muerte en el mundo, causa de enfermedades crónicas, daños neurológicos y enfermedades que pueden incapacitar a una persona.
c) Es la acumulación de basura resultado del consumo humano.
d) Pareciera que las respuestas apuntan a que el conocimiento inicial de los sujetos era adecuado y no hubo verdaderamente modificaciones entre el primer y segundo cuestionario. Pudiese ser que las opciones presentadas realmente apuntaban claramente a la opción A de respuesta y por tal razón los sujetos mantuvieron casi idénticas sus respuestas entre la primera y segunda aplicación.

Pregunta 5:

En la primera aplicación se obtuvo que el 50.8% eligieron la respuesta correcta que es el inciso A, el 41.8% eligieron la opción B y el 7.4% eligieron la opción C.

En la segunda aplicación se obtuvo que el 33.3% eligieron la respuesta correcta que es el inciso A, el 55.6% eligieron la opción B y el 11.1% eligieron la opción C. Las respuestas en esta pregunta muestran que la información proporcionado parece haber confundido a los sujetos puesto del 50% que daban inicialmente la respuesta correcta hubo una disminución y un aumento de las respuestas incorrectas.

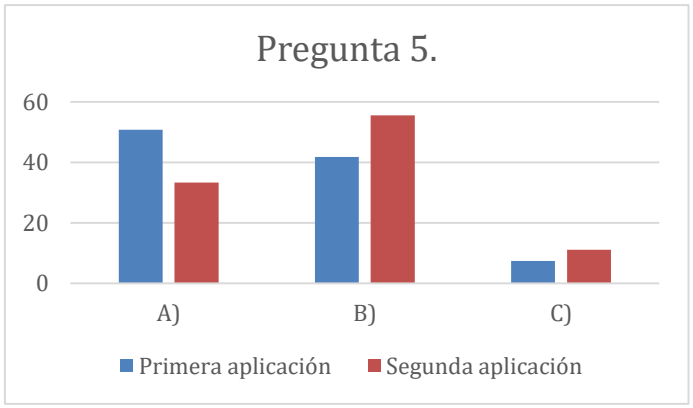


Figura 5: De las siguientes opciones, ¿cuál es la que define la reducción de la capa de ozono?

a) La capa de ozono se está deteriorando debido a la liberación de la contaminación que contienen los productos químicos cloro y bromo.
b) Aumenta el nivel de radiación ultravioleta que llega a la superficie de la tierra, lo cual, a su vez, puede aumentar las probabilidades de sobreexposición a los rayos ultravioleta y los problemas de salud

c) La capa de ozono en la atmosfera protege la vida en la tierra de los rayos ultra violeta de la luz solar.

CONCLUSIONES

Los resultados apuntan al hecho de que en algunos casos la información proporcionada influyó en una mejoría de la comprensión de algunos aspectos del tema en cuestión, en este caso el calentamiento global.

Como estudiantes de licenciatura en Psicología Educativa el diseño y aplicación del estudio y del curso elaborado nos permitió observar la importancia de seguir realizando este tipo de trabajos para aumentar la comprensión de un problema importante y que debe ser abordado por la educación ambiental y la psicología ambiental. Igualmente, este trabajo nos cuestionó sobre la importancia de realizar experiencias de aprendizaje fuera del aula y dentro de estas, el asunto de seguir indagando mediante trabajos de investigación el impacto y posibilidades de las redes sociales en la enseñanza y aprendizaje de problemáticas importantes como la que aquí se abordó.

BIBLIOGRAFÍA

- Amestoy, José. (2010). El Planeta Tierra en peligro: Calentamiento Global. Cambio Climático. Solución. España: Editorial Club Universitario.
- Caballero, M., Lozano, S. y Ortega B. (2007, octubre 10). Efecto invernadero, calentamiento global y cambio climático: una perspectiva desde las ciencias de la tierra. Revista Digital Universitaria, 8, pp. 5-7.
- Plumer, Brad. (6 de mayo de 2019) La civilización acelera la extinción de más de un millón de especies y altera el mundo a un ritmo 'sin precedentes'. The New York Times. Recuperado de https://www.nytimes.com/es/2019/05/06/civilizacion-extincion-reporte-onu/?rref=collection%2Fsectioncollection%2Fnyt-es&action=click&contentCollection=calentamiento-global&region=stream&module=stream_unit&version=latest&contentPlacement=2&pgtype=collection
- Rodríguez, H. (2019). El deshielo del Ártico se acelera sin precedentes. En National Geographic España (-). España: National Geographic España.
- Semarnat. Cambio climático. Ciencia, evidencia y acciones. México. 2009.
- Godoy, M y Espinoza , B .(2018) "Incidencia del calentamiento global en la flora y fauna del Ecuador ", Revista DELOS Desarrollo Local Sostenible n.31 (febrero 2018). En línea: https://www.eumed.net/rev/delos/31/Maria-Godoy-calentamiento.html //hdl.handle.net/20.500.11763/delos31Maria-Godoy-calentamiento

Prevalencia de sintomatología depresiva en adolescentes.[1]

Autor: Ana Lucero Rangel Amado, Asesor: Pamela Garbus[2] , Correo: pamela.garbus@uaq.mx

Resumen

Debido a la falta estudios que indaguen sobre la prevalencia de los principales padecimientos de salud mental en el municipio de San Juan del Río, y considerando el aumento de estos a nivel nacional e internacional, el presente trabajo es un estudio de corte epidemiológico cuyo alcance y diseño es descriptivo y correlacional y se llevó a cabo en las secundarias públicas del municipio de San Juan del Río con el objetivo de conocer la prevalencia de sintomatología depresiva.

Se aplicó un instrumento autoadministrable a una muestra representativa de 992 adolescentes de este municipio cuyas edades van de los 12 hasta los 16 años, el instrumento es conformado con diversas escalas, tomando de ellas la referente a sintomatología depresiva las cuales ya han sido validadas y estandarizadas para población adolescente mexicana.

La prevalencia de sintomatología depresiva en la población de estudio es de 15.9%.

Palabras clave: adolescentes, sintomatología depresiva.

Summary

Due to the lack of studies that investigate the prevalence of the main mental health conditions in the municipality of San Juan del Río, and the increase of these at national and international level, the present work is an epidemiological study whose scope and Design is descriptive and correlational and was carried out in the public high schools of the municipality of San Juan del Río with the objective of knowing the prevalence of depressive symptomatology.

A self-administered instrument was applied to a representative sample of 992 adolescents from this municipality whose ages range from 12 to 16 years, the instrument is conformed with various scales, taking from them the reference to depressive symptomatology which have already been validated and standardized for Mexican teenage population.

The prevalence of depressive symptomatology in the study population is 15.9%.

Keywords: adolescents, depressive symptomatology.

Introducción

Este trabajo se realizó con el fin de obtener datos acerca de la prevalencia de sintomatología depresiva elevada en adolescentes de secundarias públicas de San Juan del Río.

Una de las principales problemáticas de salud mental es la depresión, se calcula que alrededor de 300 millones de personas en el mundo la padecen (OMS, 2017b).

La mayoría de los trastornos mentales se desarrollan durante la segunda década de la vida, es decir en la adolescencia (OMS, 2019).

En San Juan del Río, Querétaro, actualmente no se conocen datos científicos que informen sobre la prevalencia de sintomatología depresiva en

[1] Esta investigación se realizó en el marco de la tesis para obtener el grado de Maestría en Salud Mental de la Infancia y la Adolescencia. FPS-SJR, UAQ.

[2] Coordinadora de la MSMIA-UAQ

adolescentes, por tal motivo es que se llevó a cabo este trabajo.

Considerando las características de la adolescencia y al pensar en el aumento constante de los índices de depresión tanto a nivel internacional como a nivel nacional e incluso estatal, se puede dar cuenta el gran problema que esto implica.

La depresión es un trastorno del estado de ánimo, el cual se ve afectado en el sujeto que lo padece, esto principalmente en lo emocional, desencadenando afectaciones físicas que le impiden llevar a cabo rutinas diarias tal como desempeño en el ámbito laboral, académico, del hogar, actividades sociales, etc. (Acosta Hernández, y otros, 2011).

De acuerdo al Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales DSM-5 (2014), los trastornos depresivos se dividen en: el trastorno de desregulación disruptiva del estado de ánimo; el trastorno depresivo mayor, el trastorno depresivo persistente, el trastorno disfórico premenstrual, el trastorno depresivo inducido por una sustancia/medicamento, el trastorno depresivo debido a otra afección médica, otro trastorno depresivo especificado y otro trastorno depresivo no especificado. El rasgo común a todos ellos es la presencia de un ánimo triste, vacío o irritable, acompañado de cambios somáticos y cognitivos que afectan significativamente la capacidad funcional del individuo. El trastorno depresivo se caracteriza por la duración del mismo considerando la presencia de los síntomas mencionados por al menos dos semanas.

Desde una mirada que involucra la base biológica de la depresión se menciona que existe evidencia de que niveles anormales de ciertos neurotransmisores cumplen un papel en dicho trastorno tal es el caso de serotonina, norepinefrina y dopamina que actúan en el sistema nervioso y son importantes en la fisiopatología asociada a la depresión (Guadarrama, Escobar, & Limei).

La depresión es un trastorno afectivo que afecta a la población en general, sin embargo, existen diversas fuentes de información en donde se puede dar cuenta que es un problema que es detectado más en mujeres que en hombres, lo cual no quiere decir que sea exclusivo de ellas, es decir, son diversos los factores que se ven involucrados desde lo cultural y social que hace referencia a la forma en la cual son expresadas las emociones (Molina Abolnik, 2005) hasta lo biológico (Heredia Ancona, Gómez Maqueo, & Suárez De la Cruz, 2011).

Según datos del censo llevado a cabo por el INEGI y el Instituto Nacional de las Mujeres (INMUJER) (2016, pág. 83) para el 2015 30% de personas mayores de 12 años había tenido "sentimientos de depresión", sin embargo, la proporción entre hombres y mujeres es diferente, ya que el 34.3% de mujeres lo había sentido a diferencia de un 25.1% de hombres que reportó haberlo tenido.

La depresión es uno de los padecimientos de mayor prevalencia afectando a más de 300 millones de personas en el mundo (OMS, 2017b), es la primera causa de morbilidad y discapacidad (OMS, 2014) por lo que se la ha considerado una de las afecciones prioritarias en el "Programa de acción para superar la brecha en salud mental" (OMS, 2017b).

Así pues, se tiene evidencia de que cerca del 4.4% de la población a nivel mundial (EMOL, 2017) vive o es diagnosticada con depresión, de la misma forma existen estudios que plantean que más del 15% de niños y adolescentes poseen algún síntoma de depresión (Acosta Hernández, y otros, 2011).

De acuerdo al "Programa de acción Específico" (Secretaría de Salud, 2013) para los años 2013-2018 el 24.7% de la población adolescente se encontraría afectado por uno o más padecimientos de salud mental siendo la depresión uno de los principales, como ya se ha mencionado estos trastornos se desarrollan durante las primeras décadas de la vida, ya que en este momento se llevan a cabo procesos de desarrollo que demandan la mejora de las respuestas de afrontamiento que les posibilite una base sólida de identidad, autonomía y éxito personal (Pardo A., Sandoval D., & Umbarila Z. , 2004).

Como ya se ha mencionado, la depresión es caracterizada por la presencia de diversos síntomas tales como tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa o falta de autoestima, trastornos del sueño o del apetito, sensación de cansancio y falta de concentración (OMS, 2017c) entre otros; debido a la naturaleza del trastorno se puede decir que es el resultado de interacciones complejas entre factores sociales, psicológicos y biológicos (OMS, 2017c).

Objetivos

Conocer la prevalencia de sintomatología depresiva elevada reciente en adolescentes.

Metodología

Este es un estudio epidemiológico con enfoque cuantitativo de corte transversal, cuyo diseño y alcance es descriptivo y correlacional. Para la recolección de datos se administró un cuestionario autoaplicable y anónimo, a una muestra representativa de adolescentes que se encuentren cursando el nivel medio (secundaria) en San Juan del Río, Qro.

Para llevar a cabo este estudio se contó con autorización y apoyo de USEBEQ. Dicho organismo proporcionó los datos para la elaboración de la muestra y los permisos para ingresar a las escuelas con el fin de cumplir con los objetivos de este estudio.

Para obtener una muestra representativa de estudiantes dentro del municipio la misma fue estratificada y bietápica por conglomerados. La variable de estratificación fue nivel de marginación de acuerdo a la categoría que ya ha sido establecida por USEBEQ de acuerdo a sus criterios los niveles son: Muy bajo, bajo, medio, alto y estratificada también por tipo de escuela que es: general, técnica y telesecundaria. Al hablar de bietápica se entiende como la primera etapa señalada para la selección de las escuelas y, la segunda, la selección de los grupos de estudiantes que participarían en la investigación dentro de las escuelas.

La muestra se calculó con un margen de error de 3% y una confiabilidad del 95% a través de STATA. Finalmente quedó conformada por 992 adolescentes hombres y mujeres de 12 a 16 años de edad pertenecientes a escuelas generales, técnicas y telesecundarias de diferentes comunidades de San Juan del Río, Querétaro y cuyo nivel de marginación comprendía bajo, medio, alto y muy alto.

Instrumento

El instrumento Cuestionario de Indicadores Psicosociales para Depresión y Riesgo Suicida (CIP-DERS) construido por González-Forteza et al. (2003), está validado y estandarizado para la población mexicana. El mismo se compone de diferentes escalas, sin embargo, para los fines específicos de este estudio solo se utiliza el CES-D-R Escala de Depresión del Centro de Estudios Epidemiológicos, versión revisada (González-Forteza, Wagner, et al., 2008).

Procedimiento

1. Se diseñó la muestra en dos etapas: en primer lugar, se seleccionaron al azar las escuelas en las que se aplicaría el instrumento y después, los grupos dentro de ellas

2. Se llevó cabo una reunión informativa con los directores de las secundarias públicas de San Juan del Río que fueron previamente seleccionadas, con el fin de dar a conocer el modo de trabajo y el objetivo de este estudio.

3. Posteriormente se proporcionó a los adolescentes de los grupos previamente sorteados en las escuelas para participar, el consentimiento informado para que fuera entregado a los padres de los estudiantes, el cual debía ser firmado por al menos uno de los padres del mismo.

4. El día de la aplicación del instrumento se seleccionaron a los estudiantes que contaban con el consentimiento informado firmado por sus padres o tutores y a la vez asentían su participación. Si algún alumno que deseaba participar, pero por algún motivo

no contaba con el consentimiento de sus padres, no lo podría hacer. El consentimiento informado no estuvo relacionado de ninguna forma con el instrumento que se aplicó al estudiante, de esta manera se garantizó el anonimato.

Resultados

A partir de la sumatoria de los ítems en la escala del CES-D 20, se obtuvo una media de 24.1220 y una desviación estándar de 13.64936. Así mismo se presentaron puntajes mínimos de 4 y puntajes máximos de 78.

Para conocer la prevalencia de sintomatología depresiva se determinó un punto de corte global que es a partir de la media aritmética más una desviación estándar, dando como resultado final ≥38 esto permitió identificar la presencia de síntomas significativos de depresión (González Forteza, Lara, Mariño, & Salgado de Snyder, 1997)

Se obtuvo que la prevalecía de sintomatología depresiva en adolescentes que acuden a una secundaria pública del municipio de San Juan del Río es del 15.9%. (Ver Figura 1)

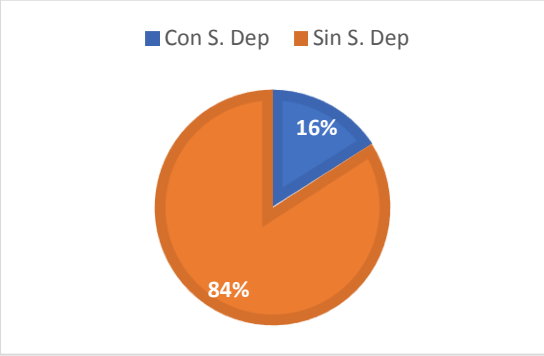


Figura 1 Prevalencia de sintomatología elevada reciente

De acuerdo a la estratificación se obtuvo que del total de la población de adolescentes que acuden a una secundaria general presentan un 17 de sintomatología depresiva elevada reciente. (Ver ilustración 2).

Asimismo, de la población total de adolescentes que acuden a la secundaria técnica el 18% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (Ver ilustración 2).

Finalmente se obtuvo que de la población total de adolescentes que acuden a la telesecundaria el 11.2% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (Ver Figura 2)

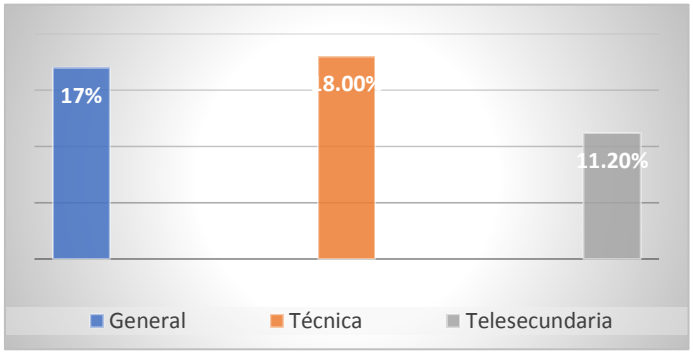


Figura 2 Prevalencia de sintomatología depresiva elevada reciente por tipo de escuela

Se puede dar cuenta que realmente no existe una diferencia significativa sobre la prevalencia de sintomatología depresiva elevada reciente y el tipo de escuela ya que se obtiene un valor de X2=.109.

Asimismo, se encontraron las prevalencias de acuerdo al nivel de marginación de los cuales se puede decir que del total de la población adolescente que acuden a una secundaria con un nivel de marginación muy bajo el 18% presenta sintomatología depresiva elevada reciente. (Ver Figura 3).

De la población total de adolescentes que acuden a una secundaria con nivel bajo de marginación el 16% presenta sintomatología depresiva elevada reciente. (Ver Figura 3).

Del total de la población adolescente que acude a una secundaria con nivel medio de marginación el 11% presenta sintomatología depresiva elevada reciente. (Ver Figura 3).

Del total de la población adolescente que acude a una secundaria con nivel alto de marginación el 12% presenta sintomatología elevada reciente. (Ver Figura 3).

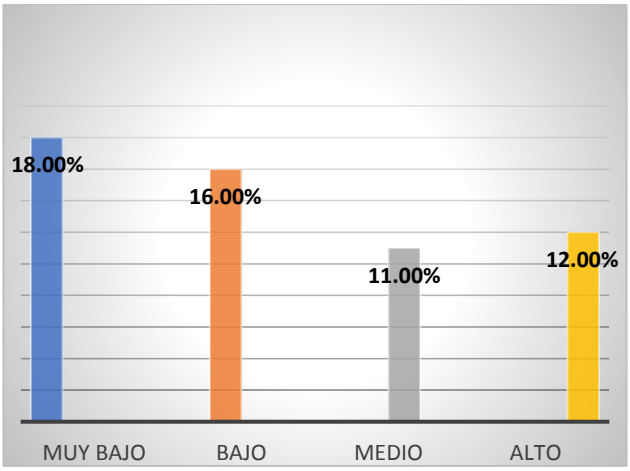


Figura 3 Prevalencias de sintomatología depresiva elevada reciente por nivel de marginación

Se puede dar cuenta que realmente no existe una diferencia significativa sobre la prevalencia de sintomatología depresiva elevada reciente y el nivel de marginación ya que se obtiene un valor de X2=.096.

Respecto a la prevalencia de acuerdo al nivel de marginación y el tipo de escuela se encontraron las siguientes prevalencias:

Del total de la población adolescente que acude a un secundaría general con nivel muy bajo de marginación el 16.9% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una secundaria técnica con un nivel de marginación muy bajo el 22.5% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una telesecundaria con un nivel de marginación muy bajo el 10.3% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población que acude a una secundaria general con un nivel de marginación bajo el 33.3% presenta sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una secundaria técnica con un nivel de marginación bajo el 14.7% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una telesecundaria con un nivel de marginación bajo el 13.3% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una secundaria general con un nivel de marginación medio el 3.4% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una telesecundaria con un nivel de marginación medio el 12.3% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una secundaria general con un nivel de marginación alto el 20.7% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una secundaria técnica con un nivel de marginación alto el 9.3% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4)

Del total de la población adolescente que acude a una telesecundaria con un nivel de marginación alto el 8.9% presentan sintomatología depresiva elevada reciente. (ver Figura 4).

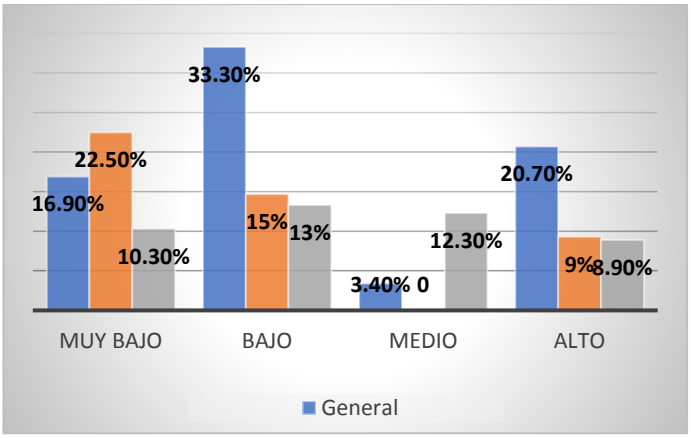


Figura 4 Prevalencias de sintomatología depresiva reciente por nivel de marginación & tipo de escuela

Se pudo conocer también las frecuencias de sintomatología depresiva elevada reciente de acuerdo con sexo, para ello fue necesario establecer un punto de corte para mujeres que es a partir de ≥42 y otro para hombres que es a partir de ≥30; de forma que se puede decir que la frecuencia de sintomatología depresiva elevada en mujeres es de 17.8% y 13.8% en hombres. (Ver Figura 5).

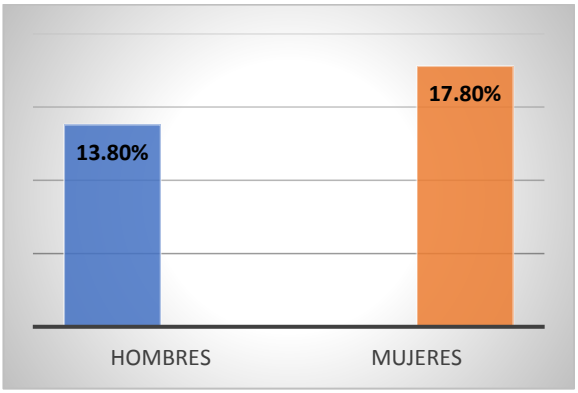


Figura 5 Frecuencia de sintomatología depresiva elevada reciente por sexo

Al hacer un análisis estadístico para saber si hay diferencias significativas entre hombres y mujeres, se puede dar cuenta que esta existe al obtener un valor de X2=.000.

Discusión y conclusiones

El objetivo de este trabajo de investigación fue conocer la prevalencia de sintomatología depresiva en adolescentes estudiantes de secundarias públicas de San Juan del Río, así que la prevalencia de sintomatología depresiva es de 15.9%.

Las prevalencias de depresión en México que han sido reportadas son similares a la encontrada en este estudio, por ejemplo, en un estudio realizado con adolescentes mexicanos de la Ciudad de México y de Michoacán, se encontró que 12% de los adolescentes que participaron presentaron síntomas clínicamente significativos de depresión (Jiménez Tapia, Wagner, Rivera Heredia, & González Forteza, 2015).

De la misma forma estudios recientes muestran resultados similares en cuanto a prevalencia de depresión en adolescentes mexicanos, en un estudio llevado a cabo en 2012 a adolescentes utilizando el mismo instrumento (CESD-R) se obtuvo una prevalencia de 15.6% (Veytia López, González Arratia López Fuentes, Andrade Palos, & Oudho, 2012)

En el informe de Estimaciones Mundiales de los Trastorno Mentales (PAHO, 2017), el continente americano aparece que el 15% de la población total ha presentado algún cuadro del trastorno depresivo, se menciona también que este se presenta con mayor frecuencia en la edad adulta, mencionando que en edades menores a 15 años es más pequeña la cifra, sin embargo, en el presente estudio se puede percatar que ese 15.9% es el que aparece sólo en la población adolescente de este municipio.

La mayoría de los estudios recientes apuntan a un aumento de esta problemática en la salud mental, una de las explicaciones es el aumento de la población a nivel mundial, ya que de 2005 a 2015 aumentó un 18.4%, estas cifras remarcan la necesidad de atenderla de manera inmediata, así que al llevar este problema a la adolescencia se puede dar cuenta que es ahí donde dan inician la mitad de los trastornos mentales (OMS, 2018), o que antes de los 18 años 1 de cada 5 adolescentes habrá padecido un cuadro depresivo, lo que evidentemente convierte a este periodo como crítico (ANMM, 2016).

Para este estudio las diferencias encontradas de frecuencia por sexo son significativas ya que para mujeres la prevalencia fue de 17.8% a diferencia de en hombres con el 13.8%.

A nivel nacional el 19% de mujeres de 15 a 19 años de edad presenta sintomatología depresiva y en mujeres que han estudiado secundaria el promedio es de 18.6%, por otro lado, para mujeres de 5 a 17 años una las principales dificultades severas de funcionamiento es la depresión, (UNICEF, 2015) dado que parte de la sintomatología depresiva es precisamente la falta de energía para llevar a cabo actividades cotidianas en las que se incluye hogar, trabajo, escuela, etc.

De acuerdo a estudios recientes, se ha encontrado que la depresión se manifiesta más en mujeres, este es explicado desde diversos factores que tienen que ver con cuestiones biológicas hasta culturales. Se ha observado que, para la población joven, así como para mujeres, son los grupos más propensos a padecer depresión (Gobierno de México, 2018), dichos datos corresponden a lo encontrado en este estudio ya que un mayor porcentaje de mujeres adolescentes se detectó sintomatología depresiva.

Esta investigación se llevó a cabo con el financiamiento de FOFI y gracias a la beca otorgada por rectoría de la UAQ para llevar a cabo los estudios de maestría de la autora.

Referencias

Acosta Hernández, M., Mancilla Percino, T., Correa Basurto, J., Saavedra Vélez, M., Ramos Morales, F., Cruz Sánchez, J., & Duran Niconoff, S. (2011). Depresión en la infancia y la adolescencia: enfermedad de nuestro tiempo. *Arch NEurociencias Meéxico, 16*(1), 20-25.

American Psychiatryc Association. (2014). *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales DSM-5.* Editorial Médica Panamericana.

ANMM. (2016). Depresión en adolescentes> diagnóstico y tratamiento. *Acadmia Nacional de Medicina, 15*(3), 52-55. Obtenido de https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2017/un175i.pdf

EMOL. (Febrero de 2017). OMS: un 4.4% de la población mundial sufre de depresión y casos aumentan un 18% en 10 años. Santiago. Obtenido de http://www.emol.com/noticias/Tendencias/2017/02/23/846361/OMS-Un-44-de-la-poblacion-mundial-sufre-de-depresion-y-casos-aumentan-un-18-en-10-anos.html

Gobierno de México. (marzo de 2018). *Descifremos*. Obtenido de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/280081/descifremos15-2.pdf

González Forteza, C. F. (2003). Manual conceptual y operacional de las variables del instrumento. México., México.

Guadarrama, L., Escobar, A., & Limei, Z. (s.f.). Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. (UNAM, Ed.) Obtenido de http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no49-2/RFM49208.pdf

Jiménez Tapia, A., Wagner, F., Rivera Heredia, M. E., & González Forteza, C. (2015). Estudio de la depresión en estudiantes de la Ciudad de México y Estado de Michoacán por medio de versión revisada de la CES-D. *Salud Mental, 38*(2), 103-107.

Molina Abolnik, M. (13 de Mayo de 2005). Sintomatología depresiva y locus de control en adultos. Puebla. Recuperado el 2019, de http://repositorio.udlap.mx/xmlui/handle/123456789/8053

OMS. (Noviembre de 2017b). *Depresión*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/es/

PAHO. (2017). *Depresión y otros trastornos mentales comunes: estimaciones sanitarias mundiales.* Organización Mundial de la Salud-Organización Panamericana de la Salud . Obtenido de http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34006/PAHONMH17005-spa.pdf

Pardo A., G., Sandoval D., A., & Umbarila Z. , D. (2004). Adolescencia y depresión. *Revista Colombiana de Psicología*(13), 17-32. Obtenido de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=80401303

Secretaría de Salud. (2013). *Programa de Acción Específico en Salud Mental 2013-2018.* México.

UNICEF. (2015). *Encuesta Nacional de Niños, Niñas y Mujeres.* Instituto Nacional de Salud, México. Obtenido de https://www.unicef.org/mexico/spanish/UNICEF_ENIM2015.pdf

LA IRONÍA DEL CEREBRO ADOLESCENTE: UN ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO

Romero Turrubiates Josué[1], Díaz Calzada Lucero, Ruiz Tovar Silvia, Corona Hernández Hugo, Avecilla Ramírez Gloria Nélida (asesora)

Resumen

La ironía, es un fenómeno lingüístico complejo característico del lenguaje tardío, se presenta dentro de los años escolares, es parte del grupo del lenguaje figurado o no literal. Su adquisición se presenta desde las etapas escolares, aunque recientemente se ha adjudicado a que se sigue desarrollando en la adolescencia y en la vejez. Recientemente se ha estudiado la ironía con técnicas de Potenciales Relacionados con Eventos (PREs), particularmente la ironía de tipo verbal (diferencia entre lo que se expresa y su intencionalidad). Dos componentes se han asociado al estudio de la ironía N400 (asociado al procesamiento de incongruencias semánticas o palabras inesperadas en el contexto de un enunciado) y P600 (asociado a un proceso de reinterpretación semántico y pragmático). En México, se ha estudiado PREs e ironía en poblaciones infantiles y adolescencia temprana (9, 12 y 15 años). El paradigma experimental empleado en este trabajo fue el mismo al de estas investigaciones. Se exploró la actividad eléctrica cerebral la lectura de enunciados irónicos y no irónicos de diez adolescentes de 18 y 19 años. No se encontraron diferencias significativas entre el procesamiento de enunciados dentro de estas edades, se asocia a que el paradigma experimental implementado no presenta una complejidad sintáctica para los participantes de este estudio puesto que esta pensado para población infantil. A pesar de no obtener resultados significativos, el presente estudio sugiere que pareciera que hay un momento en la adolescencia tardía donde por efectos de la familiaridad, se procesa de igual forma aspectos literales e irónicos.

Palabras Clave: Ironía verbal; lenguaje no literal; PRE's.

Abstract

Irony, is a complex linguistic phenomenon characteristic of late language, occurs within the school years, is part of the figurative or non-literal language group. Its acquisition is presented from the school stages, although recently it has been awarded to continue developing in adolescence and old age. Irony has recently been studied with Event-related Potential (ERP) techniques, particularly verbal irony (difference between what is expressed and its intentionality). Two components have been associated with the study of verbal irony N400 (associated with the processing of semantic inconsistencies or unexpected words in the context of a sentence) and P600 (associated with a process of semantic and pragmatic reinterpretation). In Mexico, ERP and irony have been studied in child populations and early adolescence (9, 12 and 15 years). The experimental paradigm used in this work was the same as in these investigations. Brain electrical activity was explored reading ironic and non-ironic statements from ten adolescents aged 18 and 19. No significant differences were found between the processing of sentences within these ages, it is associated to the fact that the experimental paradigm implemented does not present a syntactic complexity for the participants of this study since it is intended for children. Despite not obtaining significant results, the present study suggests that there seems to be a time in late adolescence where, due to familiarity, literal and ironic aspects are processed in the same way.

Keywords: Verbal irony; non-literal language; ERP.

[1] Laboratorio de Neuropsicología Facultad de Psicología, UAQ. jromero26@alumnos.uaq.mx

Introducción

La ironía, es un fenómeno lingüístico complejo característico del lenguaje tardío (Hess, 2010; Nippold, 2007), su desarrollo se presenta en los años escolares que comprende las edades de 5 a 11 años, aunque investigaciones más recientes establecen que es un proceso que continúa desarrollándose de forma gradual en la adolescencia e incluso en la vejez (Nippold, 2007). Uno de los rasgos principales de la ironía, es que corresponde al grupo de fenómenos de lenguaje no literal o figurado, el cual tiene la peculiaridad de expresar significados distintos al contenido de palabras (Grice, 2003).

Para diversos autores, la ironía es uno de los tipos de lenguaje no literal más complejos en adquirirse (Filippova, 2014; Hess, Fernandez y Olguín, en prensa) ya que su adecuada interpretación y uso requiere de habilidades lingüísticas, socio-culturales y contextuales que solo son posibles gracias al desarrollo de las interacciones sociales. La correcta comprensión de la ironía constituye un importante vehículo para el humor y la crítica de algunas situaciones (Calderón et al., 2012).

Banasik y Podsiadlo, (2016) clasifican a la ironía dentro de dos rubros, por una parte, una prototípica o verbal y por otra, una situacional. La ironía prototípica surge de la retórica clásica, la cual establece que existe una discrepancia entre lo que se dice (las palabras) y lo que realmente pasa o se quiere decir (intención) (Hess, Fernandez y Olguín, en prensa; Alotaibi, 2017). Un ejemplo de este tipo de ironía es cuando una persona manifiesta que el estado del clima es muy bueno cuando en realidad está lloviendo (Alotaibi, 2017). Por otro lado, la ironía situacional se define como un producto de una contradicción entre resultados esperados de una acción contra los que ocurren en realidad (Lucariello, 1994) un ejemplo de este tipo es cuando un policía es robado por un ladrón o bien que una estación de bomberos se esté incendiando (Attardo, 2000).

Recientemente se ha incorporado al estudio de la ironía técnicas electrofisiología para poder estudiar el procesamiento cerebral de este fenómeno lingüístico, (Regel et al., 2010, 2011; Spotorno et al., 2013), dentro de estos estudios se ha utilizado mayormente la ironía de tipo prototípica ya que es considerada como una de las más abordadas en conversaciones cotidianas, así como una de las primeras en adquirirse. La técnica electrofisiológica que se utiliza para poder estudiar este fenómeno es denominada Potenciales Relacionados con Eventos (PRE).

Los PRE se pueden definir como una manifestación de la actividad eléctrica cerebral que se obtienen a partir del electroencefalograma (EEG), proporciona información con gran resolución temporal de la secuencia de eventos neuronales, pueden visualizarse como una serie de oscilaciones de voltaje (amplitud), con ondas positivas o negativas que aparecen en un tiempo en específico (latencia) ante la respuesta de un estímulo controlado y reproducido en distintos momentos, dichos estímulos pueden ser sensoriales, motores o cognitivos (Beres et al., 2017). Con la ayuda de los PRE, se han descrito una serie de picos de voltaje los cuales reciben el nombre de componentes, cada uno de ellos está asociado a procesos cognitivos (Beres et al., 2017).

Los componentes que han recibido la mayor atención en la investigación de la ironía han sido N400 y el P600 (Spotorno, et al., 2013). N400 está asociada con el procesamiento de incongruencias semánticas o palabras inesperadas en el contexto de un enunciado, por otro lado, P600 aparece cuando se producen violaciones sintácticas en la estructura de la oración, así como durante el procesamiento de estructuras sintácticas infrecuentes" (Hinojosa, Loeches y Rubia, 2004) en los últimos años, este componente ha sido considerado también como un reflejo de los procesos de re-análisis que favorece a la comprensión (Regel, et al., 2011).

Los resultados obtenidos a partir de los estudios anteriores sobre el procesamiento de la ironía mediante PREs en adultos, han demostrado la presencia de un componente P600 significativo ante la lectura de enunciados de con contenido irónico *versus* los de contenido literal, estos trabajos han asociado que al leer enunciados de tipo irónico, el

cerebro requiere de una variedad amplia de recursos cognitivos a comparación de los literales, ya que los sujetos hacen un re-anáisis del contenido de la oración para obtener su significado.

Recientes investigaciones en México han indagado el estudio de PREs e ironía en distintas poblaciones infantiles y adolescencia temprana (9, 12 y 15 años) (Díaz, 2018; Ruiz, 2019; Corona, 2019). En estos trabajos, se han encontrado diferencias entre el procesamiento acorde a estas edades, se ha determinado de forma conductual que para la edad de 9 años los niños logran reconocer la función comunicativa, es decir empiezan a esbozar los primeros reconocimientos de que lo que dice es algo significa lo contrario, pero todavía no son capaces de comprender la intencionalidad en su totalidad (función discursiva) (Corona, 2019), mientras que para las edades de 12 y 15 años, es posible encontrar tanto la comprensión de intencionalidad como de función comunicativa (Díaz, 2018).

En cuanto al procesamiento cerebral, los anteriores estudios refieren a que es posible encontrar diferencias entre los enunciados literales *versus* los irónicos dado a que presentan un componente P600 mayor en las oraciones irónicas, de manera progresiva se observa que el componente va visualizándose de mejor manera conforme va avanzando la edad. Es de resaltar que, tanto en estos estudios con edades más cortas como en adultos, hay una ausencia de N400.

En la figura 1 puede apreciarse el mapa de amplitud en voltaje del efecto P600 de las edades de 15 años, en respuesta a la lectura de la condición irónica, el valor está cercano a cuatro, lo que significa que el cerebro de estos adolescentes están llevando a cabo un gran procesamiento ante los estímulos de los enunciados irónicos.

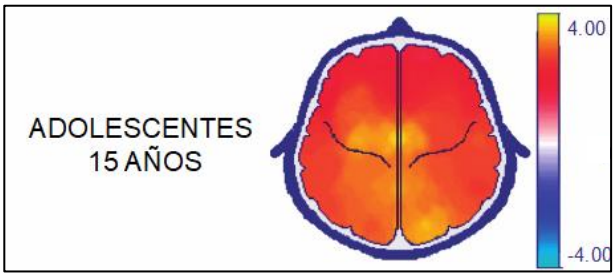


Figura 1. Mapa de amplitud del efecto P600 de adolescentes de 15 años. Tomado de Ruiz, 2019.

El presente trabajo, tomará como referente principal los anteriores estudios. El objetivo de esta investigación fue el poder explorar la actividad eléctrica cerebral ante la lectura de enunciados irónicos y literales para poder observar si se presenta el componente P600, en una población universitaria con la variante de estudiarla entre las edades entre los 18 y 19 años. Se partió de la hipótesis de que se encontrará diferencias significativas, la cual se observará a través de una discrepancia entre el procesamiento cerebral (P600) ante la lectura de enunciados irónicos y literales.

Justificación

Este estudio surge de la necesidad de explorar el procesamiento cerebral que tienen los adolescentes ante la respuesta de le lectura y comprensión de una oración irónica.

El hecho de tener mayor conocimiento de la evolución del lenguaje no literal a través de los años puede servir para que en el futuro se puedan diseñar estrategias que permitan encontrar indicadores para detectar trastornos de la pragmática, del espectro autista, esquizofrenia y demencia senil.

Metodología

Este estudio esta dividido en tres grandes momentos; el diseño del instrumento inspirado en el utilizado por Díaz, (2018); Ruiz, (2019); Corona, (2019); el registro de EEG durante la lectura de oraciones irónicas y no irónicas; la obtención y análisis de los PREs.

El instrumento usado está conformado por un total de 40 historias diferentes. Cada historia es divisible en 3 partes (trama, oración crítica y cierre) en cuya situación participan dos personajes con la misma jerarquía dialógica (e.g., dos niños). En la trama, se narran las acciones de los personajes. Hacia la mitad de la trama, ocurre un hecho que varía dependiendo de la condición de la historia: en la condición irónica, dicho hecho es un acontecimiento negativo (i.e., un hecho debido al cual no se satisfacen las expectativas de la situación), en tanto que la condición no irónica presentaba uno positivo (i.e., un hecho gracias al cual se satisfacen las expectativas de la situación). Ese acontecimiento variable fue denominado contexto. Después de cada contexto, uno de los dos personajes hacía un comentario, que era en realidad el enunciado crítico, mediante la cual dicho personaje expresa su juicio sobre el contexto. El cierre, por su parte, es un enunciado que termina la trama. En las 40 historias con acontecimiento negativo, la oración crítica expresa un juicio literalmente opuesto a lo ocurrido en el contexto negativo, permitiendo una interpretación irónica. En cambio, en las 40 historias con acontecimiento positivo, la oración crítica expresa un juicio que literalmente constataba lo ocurrido en el contexto positivo, lo que no permite una interpretación irónica. Los 40 guiones dieron un total de 80 historias (i.e., 80 ítems experimentales), 40 historias con ironía verbal y 40 sin ironía verbal. Por otra parte, también se desarrollaron 20 historias de relleno (fillers), los cuales son historias que siguen el mismo esquema narrativo descrito en las líneas anteriores. Sin embargo, estos 20 fillers tienen un contexto negativo y una oración crítica que expresa un juicio que refuerza las posibles consecuencias negativas por lo ocurrido en el contexto negativo. Estas historias evitaron que el contexto negativo se convierta en una pista que los participantes usen para anticipar la ironía. En total son 100 historias. Éstas se dividieron aleatoriamente en dos listas (i.e., lista 1 y lista 2), cada una conformada por 50 historias, es decir, 20 historias irónicas, 20 historias no irónicas y 10 fillers. Los estímulos se contrabalancearon de la siguiente manera: la lista 1 tenía 20 historias irónicas, 20 historias no irónicas (cuyos guiones no corresponden a las historias irónicas) y 10 fillers. A su vez, la lista 2, además de sus 10 fillers, tenía 20 historias irónicas que aparecían como no irónicas en la lista 1 y 20 historias que aparecían como irónicos en la lista 1. Este contrabalanceo se hace para evitar que los niños lean dos veces el mismo guión.

El paradigma experimental se presentó en el monitor de la computadora usando el software Estimulador Cognitivo de Neuronic. El contexto de las historias se presentó en oraciones completas, mientras que los enunciados irónicos y sus controles no irónicos, así como la oración de cierre se presentaron palabra por palabra, para evitar que los movimientos oculares afectaran los PRE. A cada participante se le presentó una de las listas aleatorizadas, cada una con 20 historias irónicas, 20 no irónicas y 10 fillers.

Cada una de las 50 historias se proyectó en el monitor de la siguiente manera: primero, en el centro de la pantalla, aparecerá durante 500 milisegundos una cruz de fijación seguida de un post intervalo de 200 milisegundos. Posteriormente, durante 2500 milisegundos y con un intervalo de 200 milisegundos entre cada uno, se mostró uno a uno el total de enunciados breves pertenecientes a la trama. Luego, las palabras de la oración crítica aparecieron una a una en el monitor durante 800 milisegundos con un intervalo de 500 milisegundos entre cada palabra. Finalmente, tras la última palabra del cierre, apareció durante 200 milisegundos un signo de cierre de interrogación (?), el cual indica a los participantes que debían presionar la barra espaciadora para que iniciara la presentación de la siguiente historia. Se hizo una pausa a la mitad del experimento, y además, todos los participantes tuvieron la oportunidad de solicitar un descanso durante el intervalo entre cada una de las historias. Sumando la preparación del participante y la presentación del paradigma, la duración total del experimento fue de aproximadamente de 60 minutos.

Los participantes leyeron las historias mientras se les tomaba el EEG. El registro del EEG se realizó de acuerdo al protocolo de Carrasco et al (2017), colocando una gorra ElectroCap para niños, equipada con los electrodos del sistema internacional de registro 10/20: Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, C3, C4, Fz, Cz, Pz, T3, T4, T5, T6, P3, P4, O1, O2. Las referencias fueron los lóbulos auriculares con

electrodos cortocircuitados. El tiempo de muestreo fue de 5 mseg, y el filtro de banda estuvo entre 0.1 y 30 Hz. La toma del registro se hizo con el sistema Registro de Psicofisiología de Neuronic.

La edición se realizó fuera de línea, y los PRE se obtuvieron promediando ventanas de 1 segundos sincronizadas con la presentación de los estímulos.

Después de obtener los PREs, se calcularon los valores promedio en microvoltios de la ventana correspondiente al componente P600 (de 500 a 800 milisegundos) para cada participante. Con tales datos se realizó el análisis estadístico. La prueba estadística fue una ANOVA de medidas repetidas.

Resultados

Se obtuvieron los registros de los PREs de 14 jóvenes de entre 18 y 19 años que participaron en este estudio de manera voluntaria, y tras firmar un consentimiento informado. Sin embargo, se tuvieron que descartar del análisis los datos de 4 participantes por exceso de artefactos en sus EEGs (parpadeos, movimientos, etc.), quedando una muestra final de 10 participantes. Después de obtener los PRE de cada participante, se hizo un promedio de todo el grupo y se graficaron. En la Figura 2 pueden apreciarse los PRE en respuesta a la palabra crítica de la oración irónica comparados con los PRE en respuesta a la condición no irónica. Como puede apreciarse en la imagen, se aprecia un efecto P600, que se vería como una onda positiva de mayor amplitud en respuesta a la palabra crítica irónica.

En la figura 3 puede apreciarse el mapa de amplitud en voltaje del efecto P600. Ese mapa se realizó haciendo una resta entre los valores de la ventana correspondiente al componente P600 en respuesta a la palabra irónica (500-800 milisegundos), y los valores correspondientes a la respuesta a la palabra no irónica. Como puede apreciarse, el voltaje permanece muy cercano a cero (no hay efecto P600).

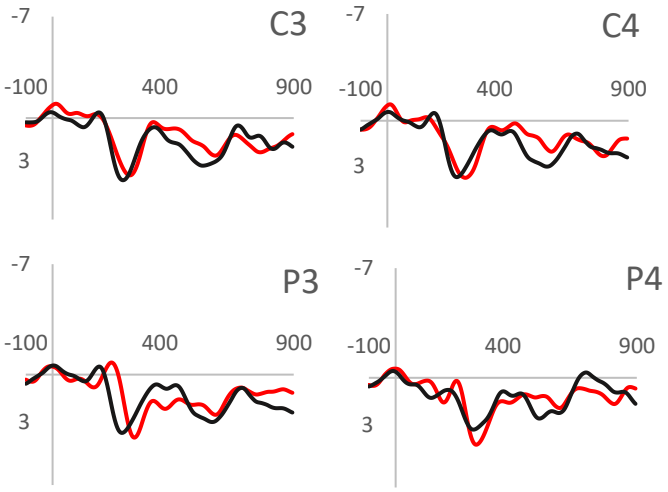


Figura 2. PRE en respuesta a las palabras críticas irónica (en rojo) y no irónica (en negro). No se aprecia componente P600. Se muestran sólo los electrodos centro parietales, C3, C4, P3 y P4.

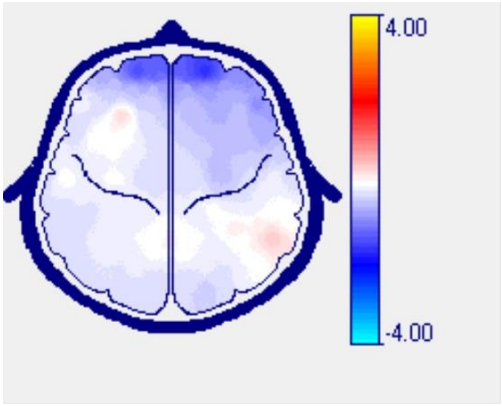


Figura 3. Mapa de amplitud del efecto P600. El mapa corresponde a la ventana de 500 a 800 milisegundos. La escala va de -4 a 4 microvoltios.

Para el análisis estadístico, se obtuvieron los valores promedio en microvoltios de la ventana correspondiente al componente P600 en tareas de ironía (500 a 800 milisegundos), para cada condición y para cada participante. Esos valores se analizaron con una prueba estadística ANOVA de medidas repetidas con tres factores, condición (ironía vs. no ironía), localización (topografía del electrodo) y hemisferio (izquierdo y derecho).

Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas entre las condiciones (F= .043, g.l.= 1,9,

p=.84), por lo que se puede concluir que no se presentó un efecto P600 en respuesta a la ironía.

Discusión

Este trabajo partió de la hipótesis de encontrar diferencias significativas ante el procesamiento cerebral de la lectura de enunciados irónicos y literales. De acuerdo con los resultados anteriormente expuestos, se destaca que no se encontró esa diferencia tal y como inicialmente se esperaba.

Se resalta que el paradigma experimental utilizado ha sido probado anteriormente en investigaciones donde también se estudia el procesamiento irónico en distintas edades (9, 12 y 15 años), (Díaz, 2018; Ruiz, 2019; Corona, 2019), en dichos estudios se han reportado diferencias significativas entre las dos condiciones (irónica y literal), asimismo investigaciones como las de Regel et al., (2010, 2011) y Spotorno et al., (2013, 2012) demuestran que en adultos también es posible encontrar estas diferencias.

Uno de los factores que quizá pudo influenciar en los resultados, es que el paradigma experimental utilizado por Díaz, (2018); Ruiz, (2019); Corona, (2019) está pensado para población infantil, con una complejidad sintáctica más sencilla que el paradigma utilizado por Regel et al., (2010, 2011) y Spotorno et al., (2013, 2012).

A pesar de no haber obtenido resultados significativos, se encontró que al parecer hay un momento en la adolescencia tardía donde por efectos de la interacción cotidiana con el lenguaje no literal y por ende mayor familiaridad, se procesa de igual forma los aspectos literales e irónicos.

Bibliografía

Alotaibi, Y. (2017). A New Analysis of Verbal Irony. International Journal of Applied Linguistics & English Literature, 09 (September 2017) 154-161 http://dx.doi.org/10.7575/aiac.ijalel.v.6n.5p.154

Attardo, S. (2000). Irony as relevant inappropriateness. Journal of pragmatics, 32(6), 793–826

Banasik, N., & Podsiadło, K. (2016). Comprehension of Ironic Utterances by Bilingual Children. Psychology of Language and Communication, 20(3). https://doi.org/10.1515/plc-2016-0019

Beres, A. M. (2017). Time is of the Essence: A Review of Electroencephalography (EEG) and Event-Related Brain Potentials (ERPs) in Language Research. Applied Psychophysiology Biofeedback, 42(4), 247–255. https://doi.org/10.1007/s10484-017-9371-3

Calderón, G., Vernon, S. & Carrillo, M. (2012). Interpretación y reinterpretación de adivinanzas metafóricas: La importancia del nivel de desarrollo y del tipo de tarea en niños de 7 a 13 años, Estudios de Lingüística Aplicada, 56, 61-82.

Filippova, E. (2014). Irony production and comprehension. En D. Matthews (Ed.), Pragmatic development in first language acquisition (pp. 261-278). Amsterdam-Philadelphia: John Benjamins.

Hinojosa, J. A., Martín-Loeches, M., & Rubia, F. J. (1999). Comprensión del lenguaje y potenciales evocados. Estudios de Psicología, 9395(10), 175–188. https://doi.org/10.1174/02109399960256847

Hess Zimmermann, K., Fernández Ruiz, G., & Olguín Briceño, A. (En prensa). Desarrollo de la reflexión metalingüística sobre diferentes tipos de enunciados irónicos. Signos Lingüísticos, 14(28).

Hess, K. (2010). Saber lengua: lenguaje y metalenguaje en los años escolares. México: El Colegio de México.

Lucariello, J. (1994). Situational Irony: A Concept of Events Gone Awry. Journal of Experimental Psychology: General, 123(2), 129–145.

Nippold, M. (2007). Language Development: School-Age Children, Adolescents, and Young Adults. Austin: PRO-ED.

Recchia, H., Howe, N., Ross, H. & Alexander, S. (2010). Children´s understanding and production of verbal irony in family conversations, British Journal of Developmental Psychology, 28, 255-274.

Regel, S. & Gunter, T. (2011). Isn't it Ironic? An electrophysiological exploration of figurative language processing. Journal of Cognitive Neuroscience, 23, 277-293.

Spotorno N., Cheylus A., Van Der Henst J-B. & Noveck IA. (2013). What's behind a P600? Integration Operations during Irony Processing, PLOS ONE, 8, 1-10.

La interdisciplinariedad: Una oportunidad de enseñanza en telesecundaria

Autor:
Felipe de Jesús Santiago Flores.
Facultad de Psicología. Universidad Autónoma de Querétaro. jesus.santiagof@usebeq.edu.mx
Asesoras:
Dra. en D. M. Erika García Torres. Facultad de Psicología. Universidad Autónoma de Querétaro. erika.garcia@uaq.mx
M. en C. Melissa Calderón Carrillo. Facultad de Psicología. Universidad Autónoma de Querétaro. mels_44@hotmail.com

Resumen
La Telesecundaria en México presenta problemáticas educativas que hace que los investigadores pongan su mirada para analizarlas mediante diversas perspectivas. Desde la Matemática Educativa, cabe indagar sobre el tratamiento que realizan los profesores con el saber que enseñan y las estrategias que usan para mejorar los aprendizajes de los estudiantes. El objetivo de este estudio es diseñar e implementar una situación interdisciplinar para la enseñanza en matemáticas, así como caracterizar los saberes que construyen de los estudiantes en este proceso, ya sean matemáticos o extramatemáticos. Se trata de un estudio cualitativo con tipo de alcance descriptivo. Con este diseño se espera dar visibilidad a las actuaciones de los docentes de Telesecundaria para potenciar las características propias de la modalidad.

Abstract
Telesecundaria in Mexico presents educational problems that make researchers look to analyze them through different perspectives. From the Mathematics Education, it is possible to inquire about the treatment that teachers carry out with the disciplinary they teach and the strategies they use to improve student learning. The objective of this study is to design and implement an interdisciplinary situation for teaching in mathematics, as well as characterize the knowledge that students build in this process, whether mathematical or extra-mathematical. It is a qualitative study with a descriptive scope type. With this design, it is expected to give visibility to the actions of Telesecundaria teachers to enhance the characteristics of the modality.

Palabras clave
Interdisciplinariedad, telesecundaria, Matemática Educativa

Key words
Interdisciplinary, telesecundaria, Mathematics Education

Introducción
El nivel secundario en México oferta cinco modalidades por las que un adolescente de entre 11 y 15 años de edad puede cursarlo, las cuales son: técnicas, generales, indígenas, para trabajadores y telesecundarias. De acuerdo con la Dirección General de Planeación, Programación y Estadística Educativa (2018) existen 18,754 escuelas telesecundarias las cuales atienden al rededor de 1,433,688 estudiantes. Dado que se trata de un número cuantioso de adolescentes que están inscritos en dicha modalidad es importante realizar investigaciones que den, en primer momento, visibilidad a lo que sucede en estas escuelas; en segundo, encaminar acciones en pro del aprendizaje de las y los estudiantes.

La demanda curricular entre una secundaria general y una telesecundaria es la misma, es decir que para todas las modalidades se cuenta con el mismo programa de estudios. Una diferencia entre la primera modalidad y la otra es que en la segunda la enseñanza recae en un solo profesor, algo que no sucede en la primera puesto que hay varios especialistas que imparten las distintas asignaturas.

Por lo tanto, el profesor de telesecundaria debe buscar la forma de abordar todos los contenidos y adecuarlos a las necesidades específicas de cada grupo y a los contextos socio-culturales en las que están inmersas. Una de las estrategias a la que recurren es la interdisciplinariedad, por otros nombrada como transversalidad que como ya discutiremos se tratan de conceptos distintos.

Otra problemática que enfrenta la telesecundaria como modalidad es la que se refiere a los aprendizajes en matemáticas. Con base en el INEE (2018) el 66.3% de los estudiantes se encuentra en el *nivel I deficiente* de la prueba Planea aplicado en 2017. Aunque este dato no se debe interpretar como absoluto ni totalitario puesto que se sabe que en este tipo de pruebas intervienen otros factores que permean los resultados, permite dar visibilidad de que algo sucede con el aprendizaje de las matemáticas.

Es por ello que en la presente investigación se discuten varios puntos esenciales, en primer lugar en los antecedentes ¿qué ocurre con la enseñanza de las matemáticas en telesecundaria?; en el planteamiento del problema, se hace visible lo que realizan los profesores a partir de la siguiente pregunta: ¿cómo los profesores de telesecundaria tratan de responder a las necesidades tanto de la enseñanza de las matemáticas como otras demandas externas -el tiempo lectivo y cubrir todos los programas de estudio-? Y es en esta indagación que entra la Matemática Educativa ya que parte de ella le interesa la relación que tiene el profesor con el saber matemático y las acciones que toma para enseñarlo. Posteriormente, se argumenta si lo que ellos conocen como transversalidad realmente responde a sus necesidades y si se podría llegar a un acuerdo en cuanto a propuesta didáctica para abordar contenidos matemáticos y de otras asignaturas. Aunado a ello, se enuncia el objetivo de investigación, metodología y resultados, para finalizar con una discusión sobre la interdisciplinariedad en el contexto de telesecundaria.

Antecedentes

La telesecundaria tiene características muy particulares que se diferencian, por ejemplo, de las técnicas o generales. Se trata de una modalidad que se encuentra por lo regular en las periferias de las ciudades o en contextos rurales. Asimismo, hay una gran diversidad de telesecundarias por lo que se podría hablar de sub-modalidades, lo que quiere decir que hay indígenas, multigrado, bidocentes, unitarias, entre otras.

Se caracterizan porque un docente se dedica a enseñar todas las asignaturas del currículo a un grado escolar -primero, segundo o tercero-. Debido a que la responsabilidad de enseñanza recae en una persona y no en varios especialistas, como ocurre en las generales o técnicas, el maestro se ve en la necesidad de buscar estrategias que le permitan lograr aprendizajes significativos en todas las asignaturas, para así generar que los alumnos sean competentes en su vida cotidiana.

Ante la pregunta: ¿cuál es la relación que tiene el profesor de telesecundaria con el saber matemático y qué acciones toma para enseñarlo?, García (2016) responde que el uso del conocimiento matemático se asocia con la relación que el profesor tiene con el saber, la manera en que organiza la matemática escolar le provee de un sentido de pertenencia que lo identifica como profesor en telesecundaria. Debido a esto, los maestros enseñan la

matemática escolar desde su experiencia y desde el acercamiento que tienen con los saberes matemáticos, fundamentando en ello las decisiones didácticas para impartirla.

Un documento base para los profesores o para las personas interesadas en la organización de las telesecundarias es el Modelo Educativo para el Fortalecimiento de Telesecundaria desarrollado por la Dirección General de Materiales Educativos (DGME, 2011) mismo que se alineaba con el plan de estudios 2011 y con los libros de texto para el alumno y maestro del 2006. Sin embargo, desde ese año se han realizado reformas educativas, la más reciente es la de 2016 que tuvo la característica de integrar la educación media superior en la articulación con los niveles educativos inferiores. Para actualizar los materiales, se hicieron nuevos para telesecundaria, mismos que apenas se están integrando al ciclo escolar 2019-2020, mientras que otras escuelas siguen trabajando con los libros del 2006.

Con lo anterior, se trata de poner a debate que las sugerencias didácticas en matemáticas escritas en los libros de texto 2006, los cuales están al alcance de los profesores y que marcan una pauta de lo que deben hacer en sus clases, siguen siendo muy similares a los libros de la reforma 2016, pues alienta a los maestros a seguir los siguientes puntos:

1. Impartir sesiones de 50 minutos.
2. Explicar los saberes utilizando materiales del modelo de telesecundaria como libros de texto, videos de consulta, interactivos y programas televisados.
3. Proponer problemas debidamente articulados en una secuencia didáctica.
4. Organizar al grupo -individual, en parejas, en equipo o plenaria- para comunicar procedimientos y resultados.
5. Identificar cómo interpretan los alumnos los problemas matemáticos.
6. Asegurar que los alumnos aprendan las nociones o procedimientos que se establecen en los propósitos de aprendizaje.

Estos seis puntos tratan de orientar al profesor, aunque en la realidad educativa, varios han optado por diseñar otras acciones o estrategias que respondan a las necesidades que enfrentan dentro de las escuelas. Éstas deben permitir que se cubran los programas de estudio, se optimice tiempo, se resuelvan problemas específicos del contexto, se tomen como ventaja que son ellos quienes imparten todas las asignaturas y que el aprendizaje de los estudiantes sea favorable.

Las «situaciones integradoras» en una de esas estrategias que diseñan. García (2016) las define como aquellas estrategias en las que los docentes de telesecundaria resaltan elementos y construyen significados asociados a varias asignaturas y que, para ellos, es denominado como «transversalidad».

Si bien, no se trata de una estrategia curricular específica de la enseñanza de las matemáticas, los profesores están preocupados no sólo por esa asignatura sino por el entramado de saberes que deben enseñarles a los estudiantes y que de cierta manera tratan de resolver.

Planteamiento del problema

El tratamiento que realizan los profesores en la enseñanza de matemática es importante de destacar, debido a que muestra cómo tienen un acercamiento con los saberes disciplinares, lo cual debe impactar en el aprendizaje de los estudiantes.

A pesar de que no hay un acuerdo de lo que significa «transversalidad», los maestros de telesecundaria parecen tener ciertas regularidades en su definición. García (2016) trató de indagar sobre la identidad del profesor de esta modalidad y curiosamente varios docentes de algunas partes del país mencionaban trabajar por transversalidad. En las entrevistas que se aplicaron varios recurrían a narrar situaciones como la siguiente:

> "-Profesor: Estábamos viendo Español secuencia cuatro. Se ven los documentos que el muchacho va a necesitar, que ellos hagan una solicitud de empleo. Entonces ahí se pueden ver muchos detalles, entonces empieza uno platicando de la solicitud, que deben de llenar los muchachos para el futuro, entonces ahí se entrelaza Formación Cívica y Ética, Orientación y Tutoría, para el futuro de los muchachos, y luego se maneja la historia del empleo ¿cómo está ahorita la situación actual? **En Matemáticas qué tanto gana uno si se prepara mucho, si se prepara poco**, esto yo ahorita lo hice, sin querer me fui de lleno hasta… sabe, cuando me acordé ya estaba así [manos señalando algo grande]. Los muchachos mismos se fijan porque el mismo bloque II habla de eso, y de Inglés... todo se maneja, la transversalidad, se ve diario" (Fragmento de entrevista, García, 2016, p.7)

Sin embargo, la concepción que se tiene de transversalidad lleva a analizar algunas consecuencias subyacentes, a veces sin ser conscientes de éstas, tales como: banalizar los saberes matemáticos -o los que se seleccionen para los proyectos o secuencias didácticas-, debido a que no por comparar cifras de *qué tanto gana uno si se prepara mucho o si se prepara poco*, ya se está propiciando el aprendizaje de un saber matemático específico. Por ende, faltaría responder: De acuerdo con lo que comentan los profesores, ¿qué se entiende por transversalidad?, ¿es lo mismo que la interdisciplinariedad?, ¿cómo construyen el saber los estudiantes en esa situación?, ¿en qué medida les dan significado? Y ¿qué otros saberes extramatemáticos favorecieron el aprendizaje de ese saber matemático?

Otras consecuencias serían no tener objetivos precisos de la actividad, ni saber qué se espera que aprendan los alumnos. Por lo que parece conveniente seguir investigando sobre aspectos metodológicos, o características de la estrategia misma, y determinar las variables que tendrían que controlarse para diseñar una situación de este tipo.

A lo anterior, se debe agregar que los contextos en los que se encuentran la mayoría de las telesecundarias son desfavorecidos, por lo que a veces comparten características similares tales como: bajas expectativas que los estudiantes le encuentran a sus estudios y que incluso los consideran innecesarios debido a que las prácticas cotidianas del aula se alejan de su realidad o de sus intereses.

Además del libro de textos, otro documento rector es el programa de estudios de Matemáticas, diseñado por la Secretaría de Educación Pública, organismo que evoca como enfoque pedagógico la resolución de problemas como una meta de aprendizaje y como medio para aprender matemáticas, por lo que es importante que el estudiante aprenda a partir de retos que propicien la construcción de estrategias y conocimientos matemáticos que permitan o no llegar a una solución (SEP, 2017). La problemática expuesta en el ejemplo de entrevista no muestra una problemática real ni compleja, ya que no involucra un reto para afrontar y tratar de solucionar.

Uno de los principios pedagógicos expuestos en el mismo documento alude a trabajar la interdisciplinariedad, es decir, a relacionar las asignaturas, áreas o ámbitos para crear estructuras de conocimiento que se transfieran a campos disciplinarios y situaciones nuevas. Esto pareciera ser que es similar al discurso de los profesores en la idea de hacer relaciones entre las asignaturas que enseñan, aunque falta por definir bajo qué circunstancias se hace un diseño de esta índole ya que el documento también advierte que no todos los conocimientos se trabajen de esta forma, ni hace visible en el currículum qué conocimientos podrían trabajarse de forma interdisciplinar (p. 164, SEP, 2017).

En definitiva, parece primordial resaltar que los procesos de enseñanza de las matemáticas en Telesecundaria tienen particularidades que son importantes para el campo de la investigación,

debido a que son oportunidades didácticas que la misma modalidad ofrece con la finalidad de mejorar el aprendizaje de los estudiantes. Además, no es que las «situaciones integradoras» sean una estrategia curricular visibles en los programas de estudio del Sistema Educativo, sino que son acciones que los profesores diseñan para contrarrestar los retos que encaran. A pesar de que se pareciera a la interdisciplina que promueve el programa de estudios, falta por indagar más sobre esta actividad para tener una literatura basta de lo que se entiende por este término en la Didáctica de la Matemática.

Objetivo

Con lo dicho anteriormente, se considera fundamental para esta investigación proponer una situación interdisciplinar, que surge a partir del tratamiento didáctico que realizan los profesores de telesecundaria, con modificaciones pertinentes para convencionalizar y dar formato a ésta. El objetivo general es:

- Diseñar e implementar una situación interdisciplinar a partir de una Modelación Matemática en Telesecundaria.

Marco conceptual

Existe una discusión alrededor de todo del concepto de «transversalidad» por un lado está lo que diseñan los profesores de telesecundaria; por otro, lo que plantean los investigadores sobre el término; y por último, los que orientan sus investigaciones desde una perspectiva interdisciplinar. A partir de esto, se considera necesario hacer una revisión de la tercera concepción que se tiene para comprender la actuación del docente de telesecundaria.

Para empezar, Williams, Roth, Swanson, Doig, Groves, Omuvwie, Borromeo y Mousoulides (2016) plantean que para problematizar la interdisciplinariedad, se requiere entender el significado de «disciplina» o «disciplinariedad». En consecuencia, hacen una revisión histórica encontrando que la segmentación de disciplinas se hizo a partir de que los sujetos tuvieran un rol de trabajo. Es importante tenerlo en cuenta puesto que antes se trataban de explicar los fenómenos de manera holística y no tanto de manera especializada, aunque después se dieron cuenta que era necesario tener un vocabulario específico para poder entender la complejidad del problema.

Por su parte, Roth (2014) indica que la interdisciplinariedad denota el hecho, la calidad o la condición de dos o más campos académicos o ramas de aprendizaje. Esto quiere decir, que se trata de una forma en la que dos o más campos del saber colaboran para explicar un fenómeno natural u objeto de la actividad humana.

Mientras que, al trasladar el término al ámbito escolar, se trata de concretar un proyecto o resolver un problema explicado desde dos o más disciplinas académicas.

Siguiendo con el discurso didáctico, Perera (2008) refiere que la interdisciplinariedad es una estrategia didáctica que prepara al estudiante para realizar transferencias de contenidos que le permitan solucionar holísticamente las dificultades que enfrentará, sea en su futuro desempeño profesional o en la resolución de un problema.

English (2009) menciona algo interesante sobre el trabajo interdisciplinar en matemáticas, pues compara la enseñanza de las matemáticas de forma tradicional con un diseño interdisciplinar; de la primera dice que los alumnos tienden a dejar de identificarse con ellas porque sólo se le dan algoritmos para resolver ejercicios. Sin embargo, si se logra entender el significado interdisciplinario de las matemáticas, existe una oportunidad para alentar a los estudiantes a que reconsideren las matemáticas.

De igual forma, Álvarez (2001) considera la interdisciplinariedad como un método ventajoso, porque permite dirigir el proceso de resolución de problemas complejos de la realidad a partir de formas de pensar y actitudes *sui generis*,

asociadas a la necesidad de comunicarse, cotejar y evaluar aportaciones, integrar datos, plantear preguntas, distinguir lo necesario de lo inútil, buscar marcos integradores, interactuar con hechos, validar supuestos y extraer conclusiones. Por lo que las actividades de los estudiantes en estas situaciones, estarían totalmente encaminadas a buscar una solución a la problemática.

Deteniéndonos a lo que el autor anterior menciona como problema complejo, es importante reconocer que la complejidad surge de la misma problemática a resolver o de la situación; es decir, no tiene que ver con el grado de dificultad del conocimiento por lo cual si se quiere hacer un diseño interdisciplinar no se pensaría que por ser difícil, ya se trabaja de esta forma. Incluso, la complejidad toma en cuenta lo que conocen los estudiantes. Dicha complejidad está pensada desde una mirada en la que no sólo el discurso de una área específica te permita explicar el fenómeno, sino que tendrán que intervenir otras áreas para poder comprender el comportamiento o solución.

Aunado a lo anterior, Hmelo-Silver (2004) profundiza diciendo que las conexiones entre el contenido a veces no bastan para involucrar a los estudiantes en la resolución del problema, sino que es necesario que también hagan una conexión con su vida, por lo que es importante aclarar que para el diseño interdisciplinar se diste de la actividad cotidiana real del estudiante, mas bien se refiere a que el fenómeno que se elija explique algo sobre lo que ocurre alrededor de el sujeto. Asimismo, va a ser necesario que el fenómeno que se elija no se cierre a un contexto de estudio, sino que en varios campos se estudie (Herrington, Reeves y Oliver, 2014).

Referido a un diseño interdisciplinar, Williams, et. al. (2016) mencionan que no deben ser limitados y que podrían incluir otras disciplinas del currículo ya que depende del conocimiento y afinidad del maestro. Aunque, es importante recalcar que realmente el profesor debe conocer el campo disciplinar que quiera abordar ya que se deben dominar los contenidos y la didáctica sobre lo que se quiere proponer, de otra forma, difícilmente se obtendrán aprendizajes significativos.

Un ejemplo que permite vislumbrar cómo hacer un diseño interdisciplinar es el que reportan Gorriz and Vilches (2019) ya que mencionan requisitos que debe tener una secuencia didáctica pensada para promover la interdisciplinariedad y las matemáticas. Entre ellos está: diseñar una guía de trabajo que sirva de apoyo tanto para el maestro y los estudiantes; que la problemática sea real y conocida para los alumnos; que se evalúe el proyecto y que haya coordinación entre las asignaturas.

Metodología

El diseño de esta investigación es longitudinal, debido a que se espera hacer un diagnóstico para analizar un antes de la aplicación y después de haber aplicado.

El tipo de alcance es descriptivo debido a que se espera caracterizar los saberes involucrados de los estudiantes en la situación interdisciplinar.

En lo que toca a qué saberes construyen los alumnos, será necesario hacer un análisis cualitativo en el que se haga a partir de grabaciones y transcripciones de las sesiones para identificar cómo está generando, la situación transversal, saberes en los estudiantes.

El enfoque del estudio es cualitativo porque se trata de comprender el fenómeno a profundidad. Además, de reportar la actuación docente a partir de tres elementos: lo planeado, lo olvidado y el trabajo real.

Al considerar que las telesecundarias están insertas en contextos rurales, este estudio se desarrollará en éste. El grupo en el que se llevará a cabo la investigación pertenece a una telesecundaria de la comunidad *La Laborcilla*, que se encuentra localizada en el estado de Querétaro, México. La escuela es pequeña debido

a que sólo hay un grupo para cada grado escolar -primero, segundo y tercero-. Específicamente se trabajará con estudiantes de tercer grado, los cuales son veinticuatro y las edades oscilan entre los catorce y quince años.

Actualmente, el proyecto se encuentra en una etapa piloto, en la que se está poniendo a prueba el diseño interdisciplinar con el fin de mejorarlo y volverlo aplicar antes de finalizar el semestre.

Resultados preliminares

Esta investigación se encuentra en etapa inicial debido a que se están retomando elementos para el diseño de la situación interdisciplinar. Se siguen haciendo revisiones bibliográficas para ver de qué manera los saberes se pueden relacionar para resolver la problemática que tienen los profesores de Telesecundaria al no tener una metodología clara y así favorecer el aprendizaje en matemáticas y en otras disciplinas.

Aunque se espera que el diseño interdisciplinar dé pautas para trabajos subsecuentes en cuanto a llegar a un acuerdo sobre lo que se entiende por interdisciplina en telesecundaria y así favorecer los aprendizajes de los alumnos, que como se dijo en un inicio, se trata de un número considerable de adolescentes que están inscritos en esta modalidad.

El resultado final de esta indagación será reportar la situación interdisciplinar puntualizando las variables didácticas que se pondrán en juego para que los docentes de Telesecundaria traten de mejorar los saberes de los estudiantes en matemáticas, aunque al tratarse de una modalidad en la que imparten sesiones de otras disciplinas, no se pueden dejar de lado esos otros saberes.

Discusión

Debido a que la modalidad de Telesecundaria presenta diversas problemáticas, los docentes tratan de afrontarlas de una u otra manera. Tan sólo en el ámbito académico, buscan estrategias que más se adecuen a los estudiantes, con el fin de mejorar los aprendizajes académicos de los adolescentes. Pero su búsqueda no sólo se queda en este ámbito, también optimizan tiempo, diseñan proyectos interesantes para los alumnos, incluso sienten la necesidad de convertirse en diseñadores curriculares debido a que consideran que algunos contenidos no son fundamentales para los contextos en los que están inmersos.

La estrategia curricular de situaciones integradoras o como los docentes de telesecundaria lo nombran, la transversalidad, al ser el eje de este estudio, pone al centro del debate la práctica docente situada, debatiéndose entre lo que debe ser y lo que se hace en los contextos reales. Esta investigación pretende ser un aporte sobre las diferentes estrategias que emplean los docentes para potenciarlas y seguir proponiendo formas de abordar la construcción de significados de los objetos matemáticos.

Referencias bibliográficas

Álvarez, M. (Febrero, 2001). La interdisciplinariedad en la enseñanza-aprendizaje de las ciencias exactas en la escuela media. En L. I. Gómez (Presidencia), *Congreso Pedagogía 2001, "Encuentro por la unidad de los educadores",* La Habana.

Dirección General de Materiales Educativos (2011). Modelo Educativo para el Fortalecimiento de Telesecundaria. México: SEP.

Dirección General de Planeación, Programación y Estadística Educativa. (2018). *Sistema Educativo de los Estados Unidos Mexicanos, Principales Cifras 2016-2017*. México: SEP.

English, L. (2009). Promoting interdisciplinary through mathematical modeling. *ZDM - The International Journal on Mathematics Education. Volumen (41)*, pp. 161-181. Germany: Springer.

García, E. (2016). El uso de situaciones transversales como elemento de la matemática escolar y de la identidad del profesor de telesecundaria. En B. Anzaldúa y R. Ávila (Eds.). *Formación y profesionalización docente: Ejes transversales*, 57-69. CRETAM.

Gorriz, M. and Vilches, S. (2019). Chapter 12. Maths Adds Up. In Doig, B., Williams, J., Swanson, D., Borromeo, R. & Drake, P. *Interdisciplinary Mathematics Education. The State of the Art and Beyond.* Germany: Springer Open. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-11066-6

Herrington, J., Reeves, T. C., y Oliver, R. (2014). Authentic learning environments. In J. M. Spector, M. D. Merrill, J. Elen & M. J. Bishop (Eds.), *Handbook of research on educational communications and technology* (4th ed., pp. 401-412). New York, NY: Springer. doi: http://dx.doi.org/

10.1007/978-1-4614-3185-5_32
Hmelo-Silver, C. E. (2004). Problem-based learning: What and how do students learn? *Educational Psychology Review, 16*(3), 235-266. doi: http://dx.doi.org/10.1023/B:EDPR.0000034022.16470.f3
Instituto Nacional para la Evaluación de la Educación (2018). La educación obligatoria en México. Informe 2018. INEE: México. ISBN: 978-607-96697-51-1: México.
Secretaría de Educación Pública. (2006). *Libro de textos. Matemáticas. Telesecundaria.* SEP: México.
Secretaría de Educación Pública. (2017). Aprendizajes Clave para la educación integral. Matemáticas. Educación secundaria. Plan y programas de estudio, orientaciones didácticas y sugerencias de evaluación. SEP: México.
Williams, J., Roth, W-M., Swanson, D., Doig, B., Groves, S., Omuvwie, M., Borromeo, R. & Mousoulides, N. (2016). *Interdisciplinary Mathematics Education. A State of the Art.* Germany: Springer Open. doi: 10.1007/978-3-319-42267-1
Perera, F. (2008). Enseñanza de las ciencias, ¿interdisciplinariedad o integración? *Varona*, *2008*(48-49), 43-49. Recuperado de http://www.redalyc.org/html/3606/360636- 904007/
Roth, W.-M. (2014). Interdisciplinary approaches in mathematics education. In S. Lerman (Ed.), Encyclopedia of mathematics education (pp. 647–650). Berlin, Heidelberg: Springer.

¿Ironía para qué? Reflexiones metapragmáticas en adolescentes

Autor: Andrea Minerva Silva López
(silva.lopez.minerva@gmail.com)
Directora: Dra. Karina Hess Zimmermann
(karinahessuaq@gmail.com)
Co-directora: Dra. Graciela Fernández Ruiz
(gfernández@colmex.mx)
Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

Entre de los temas investigados dentro del desarrollo lingüístico tardío ha destacado el estudio de la comprensión del lenguaje no literal (Tolchinsky, 2004), como es el caso de la ironía verbal Se entiende por *ironía verbal* aquella expresión lingüística en la que mediante un enunciado se manifiesta una discrepancia o contradicción con respecto a algo que ocurre en el contexto en el que aparece dicha expresión (Giora & Attardo, 2014). La comprensión de la ironía verbal conlleva un desarrollo largo puesto que requiere de habilidades cognitivas, lingüísticas, comunicativas y sociales complejas (Filippova, 2014). Para que los niños puedan interpretar la función de una ironía verbal es necesario el desarrollo de habilidades metapragmáticas, es decir, de la capacidad para reflexionar sobre el vínculo entre la expresión lingüística, el contexto en el cual aparece y las intenciones y conocimientos de los interlocutores (Gombert, 1992). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar las reflexiones metapragmáticas de adolescentes de 12 y 15 años sobre la función de la ironía verbal en dos tipos de enunciados irónicos: agradecimiento y ofrecimiento irónico. Participaron en el estudio 32 adolescentes (16 por grupo etario) que se enfrentaron a diferentes situaciones comunicativas escritas que finalizaban con un ofrecimiento o un agradecimiento irónico. Por medio de un guion de preguntas se indagaron las funciones que los participantes atribuían a cada enunciado irónico y en qué tipo de conocimientos basaban estas reflexiones. Los resultados preliminares señalan importantes diferencias entre las reflexiones metapragmáticas realizadas por los diferentes grupos etarios.

Palabras clave: ironía verbal, función de la ironía, reflexión metapragmática, desarrollo lingüístico tardío.

Abstract

Among the topics investigated within later language development, the study of the understanding of non-literal language has stood out (Tolchinsky, 2004), as is the case of verbal irony. Verbal irony is understood as linguistic expression in which a statement manifests a discrepancy or contradiction with respect to something that occurs in the context in which that expression appears (Giora & Attardo, 2014). The understanding of verbal irony implies a complex development since it requires complex cognitive, linguistic, communicative and social skills (Filippova, 2014). Likewise, in order for children to be able to give an interpretation of the function of verbal irony, the development of metapragmatic skills is necessary, that refers to the ability to reflect on the link between linguistic expression per se, the context in which appears and the intentions and the knowledge that the interlocutors have (Gombert, 1992). Based on this, the objective of this study was to analyze the metapragmatic reflections presented by adolescents aged 12 and 15 on the role of verbal irony in two types of ironic statements: acknoledgment and ironic offering. In this study 32 adolescents participated (16 per age group) who faced different written communicative situations that ended with an ironic offering or acknoledgment. Through a script of questions the participants were inquired about the functions that they attributed to each ironic statement and on what kind of knowledge they based these reflections. Preliminary results indicate important differences due to age and the type of reflections made by the participants.

Key words: verbal irony, function, metapragmatic reflection, late language development.

Introducción

El desarrollo del lenguaje siempre ha sido un tema de interés para diferentes disciplinas. Sin embargo, durante mucho tiempo su estudio se ha centrado en la adquisición del lenguaje temprano y es apenas hasta años recientes que se ha comenzado a investigar con mayor profundidad el desarrollo lingüístico tardío (Berman, 2004; Hess, 2010; Nippold, 2004, 2007; Tolchinsky, 2004).

Se entiende como desarrollo lingüístico tardío al comprendido a partir de los 6 años de edad hasta la adolescencia, es decir, aquel que tiene lugar durante los años escolares (Berman, 2004; Hess, 2010; Nippold, 2004, 2007 Tolchinsky, 2004). Éste se diferencia del desarrollo lingüístico temprano en términos de velocidad, prominencia y sustancia, ya que se ha visto que se da como un proceso gradual y progresivo cuyos avances se pueden ver únicamente reflejados en la competencia lingüística y comunicativa de los niños y adolescentes en diferentes situaciones y contextos lingüísticos de gran complejidad (Nippold, 2007).

Adicionalmente, un factor que es fundamental para el desarrollo lingüístico tardío es el metalenguaje. Gombert (1992) define el metalenguaje como la reflexión sobre el lenguaje y su uso y la habilidad intencional del sujeto para monitorear y planear sus propios procesamientos lingüísticos, tanto en comprensión como en producción lingüística. A su vez, el autor plantea que cuando los niños se encuentran en contextos comunicativos más demandantes y extensos, aparecen nuevas formas de lenguaje que responden a diferentes contextos comunicativos y que reconstruyen sus habilidades lingüísticas. Es gracias a esto que surge una conciencia metalingüística en la que el niño es capaz de reflexionar sobre el lenguaje fuera de una situación comunicativa de una forma deliberada. Aunado a esto, para que exista una auténtica conciencia metalingüística se requiere que el conocimiento del sistema del lenguaje sea explícito (Berko & Bernstein, 2010; Hess, 2010; Nippold, 2007).

El metalenguaje incide en todas las áreas del lenguaje, es decir permite una reflexión sobre las reglas y el uso de la fonología, la morfología, la semántica, la sintaxis y la pragmática. Este estudio se centró en las habilidades correspondientes a la reflexión metalingüística del área de la pragmática, es decir, la metapragmática.

La reflexión metapragmática se define como la capacidad de reflexionar de manera consciente sobre el uso del lenguaje incluyendo tanto los aspectos lingüísticos como los extralingüísticos que involucra dicho uso. Por tanto, presupone no solo conocimientos lingüísticos sino también aquellos sobre el contexto donde ocurren las interacciones lingüísticas, así como un conocimiento del mundo (Baroni, & Axia, 1989; Berko & Bernstein, 2010; Collins, 2013; Crespo-Allende, 2009; Gombert, 1987, 1992).

La reflexión o conciencia metapragmática es una habilidad que supone un proceso activo en el que el sujeto no solo es capaz de evaluar las relaciones dentro del sistema lingüístico, sino también aquellas que se establecen entre el sistema y el contexto o situación de uso de la lengua, el hablante, el escucha, el objetivo, el soporte comunicativo, el tiempo y espacio de la comunicación. Además, esta habilidad incluye la capacidad de juzgar la adecuación referencial, la habilidad de determinar el grado de comprensibilidad de una expresión y las capacidades para describir de forma explícita las reglas pragmáticas que regulan el uso del lenguaje. Así mismo, la metapragmática también requiere de la habilidad del sujeto para controlar y planificar sus propios procesos en el uso comprensivo y expresivo del lenguaje (Berko & Bernstein, 2010; Collins, 2013;; Gombert, 1992).

Desde una postura psicolingüística Gombert (1987,1992) define la metapragmática como la conciencia de la relación existente entre el sistema lingüístico y el contexto en el que se usa. Así mismo, señala que es necesario agregar en dicho concepto la habilidad del individuo de monitorear la adecuación del mensaje producido, así como la habilidad para comprender diferentes aspectos de la relación entre el

lenguaje y el contexto en el que es usado. Este autor plantea que es necesario hacer una distinción entre los ajustes automáticos del habla para cumplir con las necesidades del hablante (que serían una habilidad epipragmática) y el monitoreo cognitivamente consciente de los aspectos pragmáticos de un mensaje verbal (metapragmática). La primera actividad refleja un conocimiento pragmático tácito e inconsciente, mientras que la segunda implica traer aspectos de este conocimiento a la conciencia, es decir, llevar a cabo una reflexión explícita.

Gracias a la investigación sobre desarrollo lingüístico tardío se ha logrado reconocer que durante los años escolares se dan avances significativos en todas las áreas del lenguaje. Respecto al área de la semántica-pragmática, que fue de interés primordial de la presente investigación, las habilidades que desarrollan los niños y adolescentes de manera tardía son trascendentales para su competencia comunicativa. De acuerdo con autores como Nippold (2007) y Tolchinsky (2004), desde la edad de doce años, aproximadamente, los niños se vuelven capaces de tomar en cuenta los estados internos y las intenciones de los hablantes, de comprender la ambigüedad en expresiones, de usar las palabras para manipular el estado mental de otros -ya que el lenguaje les permite nuevas formas de representación de las actitudes propias y de otros-, además de que logran comprender el lenguaje figurativo y utilizarlo de forma creativa. Dentro de las habilidades para comprender el lenguaje no literal, destaca la interpretación de la ironía verbal, tema en el que se centrará este estudio.

El uso e interpretación del lenguaje no literal conlleva habilidades cuyo desarrollo es necesario para que los individuos se desenvuelvan en la sociedad como hablantes competentes. El lenguaje no literal, entre el que destaca la ironía verbal, forma parte de los contenidos de enseñanza en los años escolares y también es parte de situaciones comunicativas de la vida diaria. Es por esto que resulta de gran importancia conocer cómo se da el desarrollo de estas habilidades y qué funciones le atribuyen los adolescentes a la ironía verbal, ya que este tipo de lenguaje no literal es altamente frecuente en la vida escolar y cotidiana, pues lo podemos identificar en diferentes situaciones comunicativas como conversaciones, literatura e incluso en programas de entretenimiento. Es por esto que este estudio tomó como eje central la interpretación de ironía verbal.

Por ironía verbal se entienden, generalmente, aquellos enunciados en los que se manifiesta una discrepancia, contradicción, oposición, negación o violación de las expectativas del hablante con respecto a algo que ocurre en el contexto en el que aparece dicha expresión (Giora & Attardo, 2014). Sin embargo, a través de diversos estudios y de acuerdo con diferentes teorías, se ha observado que la ironía verbal abarca no sólo los enunciados en los que se expresa una clara oposición entre palabras y lo sucedido en el contexto, sino también aquellos en los que se puede manifestar una discrepancia entre lo expresado literalmente por el hablante y el contexto, como ocurre en las siguientes formas de ironía (Giora & Attardo, 2014; Kalbermatten, 2010):

- Pregunta irónica (Ejem: cuando una mamá regaña a su hija por tener desordenado su cuarto "¿Ya viste que tu cuarto sigue desordenado?")
- Halago irónico (Ejem: cuando le dicen a alguien que acaba de obtener un diez como calificación "Se nota que no estudiaste")
- Ofrecimientos irónicos (Ejem: Decirle "¡Vamos a un karaoke para que alegres a todos!" a alguien que canta muy mal)
- Agradecimiento irónico (Ejem: decirle "Gracias por llegar a tiempo" a alguien que llegó una hora tarde)
- Hipérbole (Ejem: cuando un niño rompe un plato y su mamá le dice "Sí que sabes destruir una casa")
- Atenuación (Ejem: decirle "Casi no se notó tu error, ¿eh?" a alguien que acaba de cometer un error grave)
- Insinuación (Ejem: decirle "Como que se te da lo de la cantada" a alguien que canta muy mal)
- Analogía irónica (Ejem: "Eres tan mexicano como la pizza")
- Reafirmaciones irónicas (Ejem: en un diálogo:-¡Qué bonito! -¡Sí, qué bonito, ¿eh?)

En el presente trabajo será de interés observar la manera en que adolescentes reflexionan sobre dos tipos de ironía no prototípica: agradecimiento irónico y ofrecimiento irónico. En estos dos tipos de enunciados, la ironía reside en la contradicción entre la acción que se pretende dar (agradecer u ofrecer) y las intenciones con las que son expresadas. Así, por ejemplo, en "Gracias por llegar tarde" dicho a alguien que llegó una hora tarde, no se está realmente cumpliendo el acto de agradecer, por lo que resulta irónico usar un agradecimiento ante una acción que no se debe agradecer.

A raíz de estas diversas presentaciones de la ironía, ésta ha sido considerada como una figura retórica, una implicatura, un acto del habla, una mención ecoica, una pretensión, un recordatorio (reminder), una interpretación no saliente y una matización (Giora & Attardo, 2014). Ante esto, Kalbermatten (2010) señala que, independientemente de la visión bajo la que se defina la ironía verbal, en su mayoría los diferentes autores consideran los siguientes atributos de la misma:

- Oposición entre el significado literal y el intencional del enunciado: se dice que mediante una expresión irónica el hablante quiere decir en realidad lo opuesto a lo que dice literalmente. Diferentes autores han denominado a esta característica de la ironía como negación, discrepancia, inconsistencia o contradicción, incompatibilidad, tensión, el hecho de no ser apropiado, brecha evaluativa, contraste, o incongruencia. Algunos de ellos (Giora & Attardo, 2014) señalan que la oposición presente en la ironía se puede manifestar en diferentes niveles (palabras, enunciados, niveles pragmáticos). Sin embargo, de acuerdo con Kalbermatten (2010), la presencia de una oposición no se considera una condición suficiente para que se pueda dar una ironía verbal porque, como ya señalamos anteriormente, no está presente en todos los tipos de ironía.
- Crítica implícita: por lo general la ironía es asociada a una actitud negativa y de crítica dirigida a una víctima. Además, gracias a la ironía el hablante se mantiene distanciado de la crítica que realiza. Por lo tanto, puede mantener una actitud de crítica implícita. Otros investigadores (Dews, Kaplan & Winner, 1995; Filippova, 2005; 2010; Harris & Pexman, 2003) sostienen que la ironía no necesariamente implica una actitud negativa, sino que también puede ser humorística y afectiva.
- Conocimiento contextual y suposiciones de fondo compartidas entre los interlocutores: diversos autores (Dews, Kaplan & Winner, 1995) reconocen que compartir información lingüística, contextual, situacional y personal es necesario no sólo para reconocer, sino también para entender un enunciado como irónico (al respecto véase también Yus, 2000; 2009).
- Pistas: diversos autores (Giora & Attardo, 2014; Winner & Leekam, 1991; Yus, 2000) señalan que la persona que produce un enunciado irónico puede usar pistas prosódicas, sintácticas, léxicas, morfológicas, tipográficas, quinestésicas y contextuales para marcar al escucha su intención irónica. De acuerdo con diversos estudios (Giora & Attardo, 2014; Winner & Leekam, 199; Yus, 2000) se ha concluido que no hay una entonación irónica per se, pero que sí existe un tono como una marca contrastiva entre la ironía y el sarcasmo. Sin embargo, también se señala que, un tono irónico no es suficiente ni necesario para interpretar un enunciado como tal.
- El ironista y su víctima: En todo enunciado irónico hay un hablante que tiene la intención de ser irónico y una víctima u objetivo al que está dirigido el enunciado.
- Funciones de la ironía: existen diferentes funciones de la ironía verbal, entre las que destacan el ser una estrategia discursiva, una estrategia individual de control, un dispositivo social para la cohesión de grupo o una estrategia para salvaguardar las apariencias (face-saving), entre otras. Estas funciones serán retomadas con mayor profundidad más adelante.

Como se ha podido observar, la ironía verbal resulta ser una expresión elaborada y compleja tanto para el hablante como para el escucha. Esto nos hace cuestionarnos las razones por las que en un momento dado un hablante decide elegir una expresión irónica por encima de una expresión literal. Al respecto,

Filippova (2014) señala que cuando se dice una ironía es porque el emisor busca expresar una actitud particular sobre un evento en particular. La autora menciona que la ironía contiene tres aspectos: forma, contenido y función. Éstos se detallan a continuación:

1) Forma de la ironía: es la presentación en la que se expresa lingüísticamente una ironía, es decir, el enunciado irónico en sí, las palabras mismas. Existen algunos elementos característicos de la forma que sirven para facilitar la interpretación de la ironía como la longitud de la expresión, dado que es más fácil identificar la discrepancia entre lo dicho y la realidad cuando la expresión irónica es larga (Ejem: el sarcasmo) que cuando es corta (Ejem: hipérbole).

2) Contenido de la ironía: El discurso de la ironía enfatiza la inconsistencia entre la expectativa y la realidad por lo que su contenido puede tener diferentes funciones, entre las que destaca la crítica y, en menor grado, el halago.

3) Función de la ironía: la función social de la ironía es mostrar la actitud de una persona hacia otra o hacia una situación. De acuerdo con Filippova (2005) la ironía representa una estrategia para enfrentar situaciones sociales sensibles y está motivada socialmente para balancear el poder dentro de una relación social. Son este tipo de funciones el tema de interés en esta investigación.

En todas las formas de ironía, se expresan indirectamente creencias y actitudes que componen el significado real del hablante (Harris & Pexman, 2003). El escucha debe intercambiar el significado real por el expresado literalmente. Además de esto, para lograr la comprensión de la ironía, se requiere el reconocimiento de la motivación del hablante para usar la expresión irónica (Filippova, 2005). En este sentido, reconocer la motivación del hablante es reconocer la función que tiene un enunciado irónico en un contexto comunicativo en particular.

Diferentes autores (Dews, Kaplan & Winner, 1995; Filippova, 2005, 2008; Harris & Pexman, 2003; Winner & Leekman, 1991; Yus, 2009) han identificado las siguientes funciones de la ironía:

- Función matizadora: la ironía puede atenuar la crítica o el halago implícito. De esta forma, se logra que la crítica irónica sea menos agresiva que la crítica literal y que el halago irónico sea menos halagador que uno literal (Dews et al, 1996).
- Función humorística: la ironía permite al hablante decir algo con humor para demostrar que no está tan molesto y que está en control de la situación. Diversos estudios han mostrado que las expresiones irónicas son percibidas como más graciosas que las mismas expresiones dichas de forma literal (Dews et al., 1995; Filippova, 2014; Harris & Pexman, 2003).
- Posicionamiento social: un enunciado irónico puede ayudar a elevar el estatus social del hablante ante la persona a la que le dirigió una crítica irónica y disminuye el posicionamiento social del que recibe dicha crítica (Dews, Kaplan & Winner, 1995; Filippova, 2014).
- Agresión o crítica negativa / sarcasmo: un enunciado irónico/sarcástico puede tener la función de hacerle saber a la víctima qué se esperaba de ella mediante de una forma cruel y de forma relativamente directa. También se puede emplear para ridiculizar a la víctima de la ironía ().
- Halago irónico: es menos común que la crítica, y se da cuando un comentario irónico expresado de forma negativa se usa para transmitir un mensaje positivo.
- Control de emociones: a veces la ironía puede tener la función adicional de mostrar que el ironista tiene control de sus emociones al expresar una crítica con un comentario irónico y no directo, a la vez que logra comunicar su actitud respecto a una situación o una persona de forma atenuada o humorística.
- Marca de intimidad: en algunas ocasiones la ironía sirve como una marca de unión o intimidad entre las personas que las emplean. Por ello, muchas expresiones irónicas poseen un carácter jocoso, humorístico o satírico, mientras que, al mismo tiempo, enfatizan opiniones o ideas compartidas entre los interlocutores (Yus, 2009).
- Salvaguardar la cara (face saving): la ironía verbal también puede ser utilizada como una estrategia del ironista para salvaguardar su apariencia (cara/face) ante los demás al mantener la expresión de

su actitud a la medida de la relación social y/o el contexto en el que se presenta (Harris & Pexman, 2003; Kalbermatten, 2010; Pexman, Whalen & Green, 2010).

Se ha señalado en estudios recientes que para que los niños y adolescentes logren comprender las funciones de la ironía verbal es necesario que desarrollen la capacidad para identificar el estado mental del otro tomando en cuenta sus expectativas y creencias, así como la habilidad para reconocer las emociones del hablante y enlazar su estado mental a una acción o evento. Así mismo, deben adquirir la capacidad para comprender y predecir el comportamiento del otro y para juzgar lo que es o no es apropiado en los diferentes contextos sociales en relación con las creencias y conductas de los participantes en el contexto comunicativo. Por lo tanto puntualiza que la interpretación de las funciones que desempeña la ironía verbal es de adquisición muy tardía (adolescencia) pues requiere de habilidades correspondientes a la reflexión metalingüística del área de la pragmática, es decir, la metapragmática.

El desarrollo de habilidades para interpretar la ironía verbal aún es un tema poco estudiado, especialmente en el idioma español, por lo que esta investigación resulta relevante como aportación al tema.

Con la revisión de los diferentes estudios que se mencionaron anteriormente, se puede concluir que, en su mayoría, se ha estudiado el desarrollo de las habilidades que muestran niños menores de 10 años de edad para interpretar las funciones de la ironía verbal. Sin embargo, se ha visto que es en la adolescencia cuando se adquieren las habilidades necesarias para interpretar las funciones de la ironía. Por esta razón, este estudio tuvo como participantes adolescentes de 12 y 15 años de edad.

Así mismo, las investigaciones previas sobre la interpretación de la función de ironía verbal han utilizado como instrumento cuestionarios de opción múltiple (Dews et al., 1996; Filippova, 2005; Harris & Pexman, 2003; Winner & Leekam, 1991; Winner et al., 1995, 1996, 2000). No obstante, se considera que con esta técnica se llega a limitar la información que se puede recabar. Con el fin de obtener mayor información por parte de los participantes del estudio, esta investigación propone utilizar como instrumento una entrevista que permita profundizar en la reflexión metapragmática que realicen los adolescentes sobre las funciones que le atribuyen a la ironía y con ello conocer cómo justifican sus respuestas y en qué se basan para responder.

De la misma manera, gran parte de las investigaciones sobre la ironía verbal se han centrado en el halago y la crítica irónica (Dews et al., 1996; Filippova, 2005; Filipoova & Astington 2010; Harris & Pexman, 2003; Winner & Leekam, 1991; Winner et al., 1995, 1996, 2000) en enunciados irónicos prototípicos. Sin embargo, en la presente investigación se plantea la necesidad de conocer qué función le atribuyen los adolescentes a ofrecimientos irónicos y a agradecimientos irónicos donde la intención del ironista al expresarlos no resulta tan transparente como en enunciados con ironía prototípica. Ambos tipos de ironía son actos de habla indirectos que pueden tener muchas funciones.

Se eligen estos tipos irónicos porque se ha encontrado que el agradecimiento presenta mayor facilidad de interpretación, al mismo nivel que la ironía prototípica, mientras que el ofrecimiento irónico resulta ser el más complejo de interpretar. Además ambos tipos pueden presentar las diferentes funciones de la ironía que se eligieron para analizar.

Metodología

Esta investigación fue un estudio con un enfoque mixto con un alcance descriptivo correlacional, pues se tiene por objetivo identificar y analizar qué funciones le atribuyen los adolescentes a la ironía a través de reflexiones metapragmáticas.

Para llevar a cabo este estudio, se trabajó con 32 adolescentes de 12 y 15 años de edad. De los participantes se buscó que 16 de ellos tuvieran 12 años y 16 más 15 años cumplidos de edad. Para cada grupo de edad se seleccionaron 8 mujeres y 8 varones. Dichos participantes son pertenecientes a una escuela privada de la ciudad de Santiago de Querétaro.

Para la selección de participantes se les aplicó una prueba de inclusión para determinar si eran aptos para participar en esta investigación, pues se tenía como

requisito que lograran identificar la ironía en diferentes tipos de enunciados. Esta prueba fue la utilizada en estudios previos sobre ironía. Consiste en 8 historias, la mitad con finales irónicos del tipo prototípico y la otra mitad con finales no irónicos que leerán los participantes. Con esta prueba de tamizaje se buscó seleccionar a los participantes que lograran demostrar que identificaban la ironía prototípica.

Con el propósito de identificar qué funciones le atribuyen adolescentes de 12 y 15 años a la ironía verbal se seleccionaron dos tipos de enunciados irónicos: el ofrecimiento irónico y el agradecimiento irónico. Para evaluar lo anterior, se diseñó un instrumento cuya función fue presentar diferentes historias con las siguientes variables:

- Relaciones cercanas entre los interlocutores y relaciones entre los interlocutores distantes o nuevas. Ejemplo: interlocutores que son amigos de la infancia e interlocutores que recién se conocen.
- Situaciones comunicativas en las que la expresión irónica se dé frente a un público o en privado entre los interlocutores.
- Tipo de enunciado irónico, ya sea ofrecimiento o agradecimiento.

Con estas variables se formó un repertorio en donde se pudieran reconocer las siguientes seis funciones de la ironía: función matizadora, crítica, humorística, control de emociones, posicionamiento social, salvaguardar las apariencias (face-saving) y marca de intimidad.

Dichas historias fueron presentadas por escrito a los participantes. Se les pidió que dieran lectura y al terminar de leer cada historia se les hizo una serie de preguntas cuyo propósito fue conocer qué funciones le atribuían a cada historia con finales irónicos en los dos tipos de enunciados y cómo justificaban su respuesta. Estas indagaciones se realizaron mediante una entrevista cuyo objetivo fue incitar la reflexión metapragmática que los participantes pudieran realizar sobre las funciones que identificaran en las historias irónicas. El instrumento de evaluación fue puesto a prueba de pilotaje antes de realizar el estudio planeado con los participantes seleccionados.

Resultados preliminares

Por el momento, se están analizando las transcripciones de las entrevistas. Sin embargo, se han observado ya claras diferencias entre las reflexiones metapragmáticas sobre las funciones que atribuyen a la ironía los adolescentes de acuerdo con la edad de los participantes.

De manera general se observó que a los participantes de 12 años de edad les significó una tarea difícil la interpretación de la ironía y su función, dado que se presentaron casos en los que interpretaron las situaciones irónicas como literales o no pudieron explicitar cuál era la función de dichos enunciados en los contextos en los que se presentaban.

Respecto a la función humorística de la ironía, únicamente se han encontrado respuestas de los participantes de 15 años en las que atribuyen a la ironía la función de ser una especie de “chiste” los enunciados irónicos presentados, mientras que no se ha registrado que los niños de 12 años le atribuyan dicho uso.

En cuanto a la función de la ironía como crítica negativa se observan diferencias en la capacidad para explicitar dicho uso. Por ejemplo, al preguntarles cuál fue la razón por la que el ironista decidió usar una expresión irónica y no expresarse de esa manera con su oyente sus respuestas fueron:

12 años: “porque a lo mejor tuvieron una pelea antes” (no explicita función)
15 años: “para recordarle que la regó y hacerlo sentir peor” (explicita la función de crítica negativa)

En el caso de la ironía como una marca de intimidad, se registran casos en los que los niños menores no logran reconocer esta función mientras que los mayores sí. Ejemplo:

12 años: “No se vale decirlo así porque llevan mucho tiempo (juntos); se deberían llevar bien. Aunque se le

olvidó podría decir “bueno, no importa, a la siguiente no va a volver a pasar” (no reconocen que puede ser usada para denotar intimidad con el interlocutor)
15 años: “Depende de con quien estés. Si tienes un amigo de mucho tiempo y si ya se llevan así pues aunque suena mal pues es tu amigo y te vas a entender. Pero si es una persona con la que casi no te llevas o alguien con quien no tratas mucho pues es mejor decírselo directo” (reconocen que la ironía marca intimidad entre los interlocutores)

Sobre el reconocimiento de la ironía como una forma de marcar un posicionamiento social se registra una diferencia por edades entre la capacidad de hacer explícita la reflexión sobre la función, ejemplo:

12 años: “no debió decírselo cuando estuvieran enfrente de sus amigos porque tal vez ahora estén enojados con Sara (víctima)” (solo retoma lo referente a la víctima y no la intención del ironista)
15 años: “como están enfrente de amigos lo hace (el ironista) como para humillarlo (a la víctima)” (retoma la intención del ironista para explicitar la función de la ironía)

En cuanto al reconocimiento de la función de la ironía para salvaguardar las apariencias (face-saving) se encontró que los participantes de 12 lograron un reconocimiento parcial de dicha función con respecto al realizado por los participantes mayores:

12 años: “porque lo echó a perder y Roberto (el ironista) no quería quedar mal, y él (la víctima) los hizo quedar mal” (no retoma de forma explícita la función de la ironía respecto al público frente al cuál fue expresada la ironía)

15 años: “porque estaba en una clase de cocina y si los demás probaron el pastel” van a decir “ay, Roberto cocina bien feo”. Entonces ya no van a querer probar lo que hace Roberto y por eso se enoja con Andrés y dice eso” (retoma la intención del ironista y el efecto en la víctima y en el público presente)

Respecto a la identificación del uso de la ironía como una forma de control emocional se encontraron respuestas similares por ambos grupos de participantes:

12 años: “porque se desesperó”
15 años: “porque se había enojado con ella”

No se han obtenido resultados sobre el reconocimiento de la ironía con una función matizadora.

Discusión

Se identifican diferencias entre las reflexiones metapragmáticas de los participantes por edad. En ese sentido, las respuestas de los niños de 12 años, en la mayoría de los casos, parecen hacer constante referencia a la situación comunicativa en la cual se expresó la ironía sin extrapolar esa situación a otros contextos posibles. Así mismo, se observa dificultad para explicitar en qué conocimientos basan sus reflexiones. Ambos comportamientos reflejan características de reflexiones epilingüísticas (Gombert, 1987; 1992). En este grupo de participantes se observa que el reconocimiento de diferentes funciones de la ironía verbal no es tan transparente ni explícito, además de que no se presentan casos en los que reconozcan plenamente la función humorística, matizadora, crítica negativa, ni de posicionamiento social.

Por otra parte los participantes de 15 años lograron reconocer todas las funciones con excepción de la matizadora. Además lograron dar respuestas que hacen referencia a reglas pragmáticas del lenguaje y extrapolar los usos de los enunciados irónicos a diferentes situaciones comunicativas. Se debe agregar que sus reflexiones son más detalladas, lo que refleja mayor capacidad de monitorear sus propias reflexiones metapragmáticas para realizarlas de manera explícita.

Debido a lo anterior, se concluye que como resultado preliminar esta investigación se encuentran diferencias por edades de los participantes, entre el tipo de reflexiones metapragmáticas que pueden realizar acerca de la función que atribuyen a la ironía verbal (tanto en agradecimiento como ofrecimiento irónico) en diferentes situaciones comunicativas.

Queda por analizar si existen diferencias entre el tipo de reflexiones metapragmáticas por tipo de enunciado, así como, realizar un análisis a profundidad de las diferencias encontradas tanto por edad como por enunciado irónico.

Referencias bibliográficas

Andrews, J., Rosenblatt, E., Malkus, U., Gardner, H., Winner, E. (1986). Children's abilities to distinguish metaphoric and ironic utterances from mistakes and lies. Communication & Cognition 19, 3. 281-298.

Baroni, M. & Axia, G. (1989). Children's meta-pragmatic abilities and the identification of polite and impolite requests. First Language, 9, 285-297.

Berko, J. & Bernstein, N. (2010). El desarrollo del lenguaje. Madrid: Pearson.

Berman, R. (2004). Between emergence and mastery: the long developmental route of language adquisition. En R. Berman (Ed.) Language development across childhood and adolescence (pp. 9-16). Philadelphia: John Benjamins.

Collins, A. (2013). Metapragmatic awareness in children with typical language development, pragmatic language impairment and specific language impairment (Tesis doctoral). University of Manchester, Reino Unido.

Crespo-Allende, N. (2009). La medición de la conciencia metapragmática de los niños: resolviendo la ambigüedad en la comprensión oral. Revista de Lingüística Teórica y Aplicada, 47(2), 179-209.

Dews, S., Kaplan, J. & Winner, E. (1995). Why not say it directly? The social functions of irony. Discourse Processes, 19 (3), 347-367.

Dews, S., Winner, E., Kaplan, J., Rosenblatt, E. Hunt, M., Lim, K., McGovern, A., Qualter, A. & Smarsh, B. (1996). Children's understanding of the meaning and functions of verbal irony. Child Development 96, 67, 3071-3085.

Filippova, E. (2005) Development of advance social reasoning: contribution of theory of mind and language to irony understanding (Tesis doctoral). University of Toronto, Canada.

Filippova, E. (2014). Irony production and comprehension. En. D. Matthews (Ed.), Pragmatic Development in First Language Acquisition (pp. 261-278). Philadelphia: John Benjamins.

Giora, R. & Attardo, S. (2014). Irony. En S. Attardo (Ed.), Encyclopedia of Humor Studies (pp. 397-402). London: SAGE.

Gombert, J. E. (1987). Are young childrens speech adaptations conscious or automatic? A short theoretical note. International Journal of Psychology, 22, 375-382.

Gombert, J. E. (1992). Metalinguistic development. Chicago: University of Chicago Press.

Harris, M. & Pexman, P.(2003). Children's perceptions of the social functions of verbal irony. Discourse Processes, 36(3), 147-165.

Hess, K. (2010). Saber lengua: lenguaje y metalenguaje en los años escolares. México: El Colegio de México.

Hess, K. (2011). El papel que juega la cultura escrita en la reflexión metalingüísitca: reflexiones de los adolescentes de dos entornos diferentes. En K. Hess, S. A. Vernon, G. Calderón y M. Alvarado (Coords.), Desarrollo lingüístico y cultura escrita. Puntos, acentos, historias, metáforas y argumentos (pp. 191-218). México: Universidad Autónoma de Querétaro/Porrúa.

Kalbermatten, M. I. (2010). Humor in verbal irony. En Koike, D. & Rodríguez-Alfano, L. (Eds.), Dialogue in Spanish (pp. 69-87). Amsterdam-Philadelphia: John Benjamins.

Nippold, M. (2007). Later language development: School-age children, adolescents and young adults. Austin, TX: ProEd.

Tolchinsky, L. (2004) The nature and scope of later language development. En R. Berman (Ed.), Language Development Across Childhood and Adolescence (pp. 9-16). Philadelphia: John Benjamins.

Winner, E. & Leekman, S. (1991). Distinguishing irony from deception: understanding the speaker's second –order intentions. British Journal of Developmental Psychology, 9, 257-270.

Efectos subjetivos en niñas y niños con un familiar desaparecido.

Autor: Luis David Soriano Herrera[1]. Estudiante de psicología clínica en la Universidad Autónoma de Querétaro. Integrante del proyecto de investigación CONACYT "Infancias amputadas, adolescencias en riesgo, niñez y violencia crónica en el Noreste de México''.
Asesor: Mtro. Luis Fernando Rodríguez Lanuza. Docente investigador de la Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Resumen

El artículo, que se desprende de una investigación de tesis en curso, tiene por objetivo analizar los efectos subjetivos de la desaparición (forzada o por particulares) de un familiar en niñas y niños en México, donde suman ya más de 40,000 desaparecidos (SEGOB, 2019). Si bien la práctica de la desaparición de personas tiene efectos en toda la familia, es fundamental analizar los efectos específicos que provoca en la infancia.

La investigación está orientada por el paradigma hermenéutico y se nutre teóricamente desde el psicoanálisis, aunque recupera aspectos esenciales del campo interdisciplinar de los estudios psicosociales. Metodológicamente, se construyeron dos dispositivos de recolección y análisis de información. El primero consistió en la realización de siete entrevistas, realizadas tanto a psicólogos, como a representantes de asociaciones de familiares de desaparecidos en México y Colombia; y el segundo consistió en la construcción de un estudio de caso a partir de ocho encuentros-entrevistas con una menor que tiene un hermano desaparecido, y con los padres de ambos.

Gracias a ambos dispositivos se logró profundizar en algunos de los efectos subjetivos que provoca la desaparición de un familiar en la vida de los menores. Además, permitió la construcción de un primer borrador de propuesta de acompañamiento psicológico con estos menores. Los resultados aportan a la construcción e implementación de programas políticos, sociales y psicológicos para atender los efectos psicosociales de la desaparición forzada o por particulares en México, donde las niñas y niños con familiares desaparecidos son centrales.

Palabras clave: subjetividad, niñez, desaparición, México.

Abstract

This article, which follows from an ongoing thesis investigation, aims to analyze the subjective effects of the disappearance (forced or by individuals) of a relative, in children in Mexico, where there are more than 40,000 missing persons (SEGOB, 2019). Although the practice of the disappearance of people has effects throughout the family, it is essential to analyze the specific effects it causes in childhood (.

The investigation is guided by the hermeneutic paradigm and is theoretically nourished from psychoanalysis, although it recovers essential aspects of the interdisciplinary field of psychosocial studies. Methodologically, two information collection and analusis devices were built. The first consisted of seven interviews, conducted with psychologists, and with representatives of associations of relatives of the disappeared in Mexico and Colombia; and the second was the building of a case study from eight meetings-interviews with a minor who has a missing brother, and with the parents of both.

[1] Este trabajo se ha nutrido de comentarios y revisiones de la Dra. Raquel Ribeiro Toral y la Mtra. Julia Velázquez Ortega. Así como el apoyo de la Dra. Séverine Durin.

Thanks to both devices, it was possible to delve into some of the subjective effects that cause the disappearance of a family member in the lives of minors. It also allowed the construction of a first draft proposal for psychological support with these minors. The results contribute to the construction and implementation of political, social and psychological programs to address the psychosocial effects of forced disappearance or by individuals in Mexico, where children with missing relatives are central.

Key words: Subjectivity, Childhood, Disappearance, México.

Introducción

La desaparición forzada o por particulares ha ido en aumento, particularmente desde el gobierno calderonista. A inicios de este año, la Secretaría de Gobernación informaba que la cifra de desaparecidos que tenía registrada era ya de más de 40 000 (SEGOB, 2019). Sin embargo, esta cifra se ve cuestionada, ya que otras fuentes señalan que puede haber miles de familias que, por miedo, amenazas y otros factores, no han denunciado la desaparición de alguno de sus familiares (Rodríguez, 2017).

Por otro lado, la práctica de la desaparición de personas se ha extendido a prácticamente todos los grupos y sectores sociales. A diferencia de la segunda mitad del siglo XX, cuando la desaparición forzada era llevada a cabo por agentes del Estado hacia grupos "subversivos", vinculados con grupos políticos o ideológicos específicos (Vicente y Dorantes, 2018), en la actualidad se ha generalizado entre la población mexicana y, con ella, sus efectos devastadores a nivel psicosocial.
En este escenario, las familias merecen una atención especial desde la psicología y las ciencias sociales. Si bien se cuenta con investigaciones académicas recientes y en aumento (Robledo, 2017; Centro Nacional de Memoria Histórica, 2016; Gatti, 2017), es todavía muy poco el trabajo desde la psicología en general y desde el psicoanálisis en particular, si bien este último ha hecho aportes muy importantes al estudio del duelo y la pérdida en general. Asimismo, es muy poco el trabajo académico que se ocupe de los efectos subjetivos que tiene la desaparición en niños y niñas en nuestro país (Hoyos, Romero y Blum, agosto de 2017; Stachansky y Untoiglich, 2017).

Por todo lo anterior, la presente investigación se centra en analizar los efectos subjetivos en las niñas y los niños ante la desaparición, forzada o por particulares, de algún familiar.

La categoría de efectos subjetivos remite al dinamismo de la subjetividad, ya que esta no se encuentra estática, sino en constante re-constitución. Además, la utilización de dicha categoría permitió evitar que este trabajo sea utilizado para concebir dichos efectos como si fueran patologías o para la creación de cuadros nosográficos, ya que este no fue, ni será el objetivo de esta investigación. En otras palabras, no interesa considerar a los niños y las niñas como personas con un trastorno psicológico, o pasivas ante la desaparición de sus familiares sino como personas activas que, desde su corta edad, se esfuerzan por comprender y darle lugar a la pérdida. De ahí que indagar en el acompañamiento psicosocial a la infancia y a las familias con personas desaparecidas sea fundamental para acompañar dichos esfuerzos.

El objetivo general de esta investigación consistió en analizar los efectos subjetivos que traía consigo la desaparición de un familiar en la vida de las niñas y niños

Los objetivos específicos buscaron: a) conocer si las niñas y los niños llegan a elaborar un duelo por su familiar desaparecido; b) aportar conocimiento académico al acompañamiento psicosocial de niños y niñas con un familiar desaparecido y; c) indagar en las particularidades de los efectos subjetivos de la desaparición de un familiar en niños y niñas, tomando en cuenta el tipo de desaparición (de forma violenta y frente al menor, cuando los familiares sabía que podía llegar a ocurrir la desaparición, de manera repentina o si el familiar tenía una relación laboral con algún grupo del crimen organizado, etcétera).

La investigación se justifica política, teórica y metodológicamente. Políticamente, es necesario aportar

a la atención psicosocial de personas con familiares desaparecidos, ya sea desde la práctica clínica privada o la atención pública que se brinda en instituciones gubernamentales que pertenecen al Sistema Nacional de Atención a Víctimas o a la Comisión Nacional de los Derechos Humanos (CNDH), por solo poner dos ejemplos. Estos derechos están instituidos en el artículo 20, apartado C de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos (09-08-2019), así como en la Ley General de Víctimas (03-01-2017), en la cual se define el concepto de víctima, específicamente en el artículo 4, donde se menciona que las y los familiares o personas que tengan relación directa con la víctima, son víctimas indirectas.

Teóricamente, esta investigación posibilita la deconstrucción de conceptos como: duelo, trauma, resignificación, repetición, niñez y subjetividad. Misma que sirvió para re-pensar los fenómenos psíquicos en el contexto mexicano actual. Además, enriquece la teoría psicoanalítica al problematizar y profundizar sus formas tradicionales de abordaje clínico. Finalmente, aporta a la construcción de modelos teóricos sobre la desaparición y los efectos de esta en niños y niñas.

Metodológicamente, esta investigación se justifica ya que su realización exigió la elaboración de una herramienta metodológica original de trabajo con menores en situaciones vulnerables con una mirada ética y crítica. Es así que la metodología utilizada en esta investigación abonará a la realización de futuras investigaciones, no únicamente con niñas y niños con familiares de desaparecidos, sino a diferentes investigaciones que se centren en indagar los procesos psíquicos y sociales de niñas y niños en distintas circunstancias difíciles.

Metodología

La metodología utilizada para la realización de esta investigación es de tipo cualitativa y se sostiene en un paradigma hermenéutico. Tiene un enfoque epistémico contructivo-interpretativo, el cual opta por una epistemología dialógica (González-Rey y Mitjáns, 2015).

Para la recopilación, análisis y redacción de los resultados se construyeron dos dispositivos, con la finalidad de indagar los efectos subjetivos de estos menores en dos niveles: uno general y uno particular.

El primer dispositivo se construyó para realizar una lectura general de los efectos que provoca la desaparición de un familiar en las y los menores. Este dispositivo se constituyó a través de la elaboración e implementación de siete entrevistas a psicólogos, psicólogas y representantes de asociaciones de familiares de desaparecidos tanto de México como en Colombia.

El objetivo de realizar dichas entrevistas fue contar con un amplio panorama de expertos y expertas respecto a los efectos subjetivos que presentan los y las menores tras la desaparición de un familiar.

Las entrevistas realizadas fueron semiestructuradas y tenían como fin abordar categorías de análisis específicas, derivadas del marco teórico psicoanalítico y del campo interdisciplinar de la atención psicosocial a víctimas de violencia.

El segundo dispositivo que se construyó consistió en la construcción de un estudio de caso, a partir de una herramienta metodológica innovadora de investigación con niñas y niños con familiares desaparecidos. La herramienta se utilizó en el trabajo dialógico y lúdico con una menor de 9-10 años que tiene un hermano desaparecido. Cabe señalar que el estudio de caso es un método fundamental para los estudios psicológicos y psicoanalíticos (Ávalos y Orozco, 2014).

La herramienta metodológica consistió en la realización de ocho encuentros-entrevistas. De las cuales dos se realizaron con los padres y seis con la menor. La primera entrevista con los padres fue anterior al encuentro con la menor y requirió plantear las condiciones de los encuentros-entrevistas con la menor y solicitar el consentimiento informado de los padres.

Las entrevistas que se realizaron con los padres fueron semi-estructuradas, ya que estas buscaban abordar temas específicos. En la primera entrevista se ahondo en 4

categorías de análisis, las cuales fueron: Las interrogantes que se hacía la menor en torno a la desaparición de su hermano; el deseo de la niña, a través de las modificaciones en la vida de la niña después de la desaparición; la relación que tenía con la palabra, es decir, el lenguaje como vía de estrategia de orientación en el mundo; y la dinámica familiar en general.

La segunda entrevista, realizada a la mitad de los encuentros-entrevistas con la menor, profundizó en los cambios que hubo en su relación familiar tras la desaparición del hermano. De manera particular, se abordó la relación que tenía la menor con el hermano desaparecido, la forma en la cual había desaparecido el hermano, y el cómo le habían comunicado a la menor sobre la desaparición.

Las sesiones que se tuvieron con la menor, siguieron las puntualizaciones éticas realizadas por el Centro Nacional de Memoria Histórica (2017) de Colombia, esto ya que la forma de trabajo y relación que se promovió con la menor fue de tipo horizontal, tomando en cuenta y reconociendo "las experiencias, capacidades y saberes de cada niño y niña como fundamento de la creación de círculos de experiencia donde la palabra, el juego y las expresiones artísticas son centrales" (pp.22-23). Con esto se construyó una estrategia de confianza y colaboración en los encuentros-entrevistas a partir de estrategias lúdicas – como el dibujo, la lectura de cuentos y el reconocimiento mutuo de la voz y de la escucha entre la niña y el investigador. Los encuentros-entrevistas que se llevaron a cabo con ayuda de la menor se pueden categorizar en dos tipos. Un primer tipo de encuentro-entrevista consistió en sesiones abiertas, en las cuales se dejó que la menor hablará, dibujara o jugara lo que fuera de su interés. Para este primer momento se preparó un block de dibujo, pinceles, lápices de colores, pinturas, tijeras, pegamento y plumones. Además de 5 cuentos elegidos específicamente por la relación que tenían con los objetivos de esta investigación.

El motivo de que los primeros tres encuentros-entrevistas tuvieran una dinámica abierta fue con el fin de seguir los postulados del psicoanalista Erik Porge (2015), ya que buscar que un menor hable de forma directa de un síntoma o, en este caso, de una vivencia dolorosa, en el primer encuentro únicamente podría provocar que este se cierre y pierda toda la confianza ante el investigador.

Fue hasta el segundo momento (encuentros-entrevistas cuatro a seis) que las sesiones estuvieron dirigidas a la realización de una actividad específica.

La actividad que guío este segundo momento fue la elaboración de un Libro de vida (Marchant, 2014) que es:

> […] el recipiente en el cual se verterán, recuerdos, anécdotas, fotografías, y todo aquello que sea relevante de la biografía del niño. Se trata de un libro de memoria y recuerdo del niño que plasma, a través de imágenes (fotos y dibujos) y palabras, la situación histórica del niño. Las temáticas que se proponen abordad en este libro de vida son las siguientes: Identidad […] Historia […] El hogar […] Salud […] Sobre los orígenes […] (p. 186)

Al cual se le realizaron tres modificaciones. La primera estuvo en relación con el nombre que se le dio al momento de darle la consigna al menor, ya que la consigna fue hacer un Draw My Life

> […] un tipo de vídeo en Internet en el que el autor narra su historia de vida […] En los vídeos Draw my life las personas explican su vida a través de dibujos, tal y como el nombre indica. Hacen una breve historia dibujada de su vida y la graban en vídeo. Algunos utilizan lápiz y papel […] (Genially, 24-04-2017).

La segunda estuvo en relación con 'la dificultad para iniciar e inscribir acontecimientos en él'' (Marchant, 2014, p.191) está se solucionó implementando el Juego del Garabato, el cual ''consiste en realizar una serie de garabatos, que empieza uno y que debe ser completado por el otro, tratando el terapeuta de dar sentido al dibujo común a partir de la imagen resultante de su interacción'' (Jarast, 03-02-2014).

Esta última consigna surgió como parte de la dimensión ética en la construcción de la herramienta metodológica, es decir, que dentro de la elaboración de esta, se contempló realizar una actividad de cierre que sirviera como una metodología de construcción de memorias, las cuales le servirían a la menor como recursos psíquicos para afrontar la pérdida de su hermano.

Resultados

La correcta implementación de las herramientas metodológicas permitió que los dispositivos construidos se nutrieran de diferentes datos respecto a los efectos subjetivos que provocó la desaparición de un familiar en la vida de niñas y niños.

El primer dispositivo construido trajo consigo una perspectiva general sobre los efectos subjetivos que presentan niñas y niños tras la desaparición de un familiar, entre los cuales, se encuentran, pero no se limitan a:

- Dificultades en la construcción de una identidad propia. Es decir, que estos menores, en algunos casos no se nombran como ‘’Luis, David, Gabriel, María, Luis […] ’’. Sino que se nombran a ellos mismos únicamente como ‘’hijos(as), nietos(as) o sobrinos (as) de desaparecidos’’. Este efecto no se lleva consigo únicamente el nombre, el cual es gran parte de la identidad de los menores, sino que también la mayoría de las características que les definían. Es decir, además de que ya no se nombran a ellos por su nombre propio, tampoco nombran la cualidades que antes destacaban de ellos mismos como: ‘’ser estudiante de primaria, divertido, jugador de futbol’’. Lo cual, como se mencionó antes, tiene repercusiones en la construcción de su identidad, ya que esta, se construye a partir de que no se contruye
un lugar particular desde el que se pueda enunciar a sí mismo como un sujeto singular. Lo cual trae consigo que los menores queden subsumido en una homonimia, en la cual pasa a identificarse como uno más de las y los menores con un familiar desaparecido, sin rescatar las características singulares que los caracterizan como un sujeto singular.

-Dificultades en la construcción de la identidad del familiar desaparecido. Similar al punto pasado, las y los menores limitan la concepción y recuerdos que tienen con este familiar a su desaparición. Es decir, que estos menores, en su mayoría ya no nombran a su familiar por su nombre, sino que al igual de lo que sucede con su nombre propio, estos lo suplen por el “desaparecido’’. Ya no nombran a su familiar como “mi mamá Juana, mi tío Roberto, mi abuelito Mario’’, sino que se refieren a ellos como ‘’mi mamá la desaparecida, mi tío el que está desaparecido, mi abuelito el que está desaparecido’’. Lo cual también tiene efectos en el linaje de esta familia, así como la dinámica de la misma.

Ambos puntos no surgen única y exclusivamente del menor, sino que se también se ven influenciados por los comentarios que escucha en las conversaciones de sus familiares con otros, así como a los comentarios, chistes y bromas que hacen sus compañeros sobre él o ella. Dicha familia deja de ser nombrado por los otros como los López, los Hernández, los Juárez, sino que comienza a ser nombrada como la familia con un desaparecido; lo mismo sucede con los comentarios de las y los compañeros del menor, ya que estos le comienzan a nombrar directa, o indirectamente como el familiar del desaparecido.

-Las y los menores presentan dificultades para dormir, presentan insomnio, a tal punto que las y los parientes han tenido que recurrir a fármacos para que estos pueda conciliar el sueño.

-Inhibición afectiva, que genera que estas niñas y niños tengan dificultades para relacionarse con los otros.

-Problemas de alimentación, los cuales se presentan en los dos pares dicotómicos opositivos: un exceso de ingesta alimentaria o una preocupantes escasez de ingesta alimentaria.

En el segundo dispositivo creado, del cual se construyó el estudio de caso de una menor con un hermano desaparecido y su familia, se vislumbraron los siguientes efectos subjetivos:

-Dificultades en la construcción de la identidad del familiar desaparecido. Punto en relación a los comentarios que escuchó la menor respecto a la práctica de la desaparición, así como a una búsqueda en solitario que realizó por medios digitales, las cuales se relacionaron con las personas que eran objeto de dicha práctica. Esto provocó que la menor construyera la identidad de dicho hermano a partir de lo escuchado y leído. Identidad que estaba en relación con el crimen organizado y prácticas ilegales, como la ingesta de narcóticos.

-La menor presentó en todo momento estados de somnolencia, los cuales, según lo relatado por ella son constantes.

-Desinterés de realizar cualquier actividad. Aun cuando estas actividades antes le atraían en demasía como es el caso de dibujar, viajar, o estar con sus pares, estas comenzaron a ser delegada por la falta de interés en realizarlas.

-Pesadillas constantes, en las que se presentaban escenas de horror. En algunos casos la figura que escenifica dicho horror se asocia a una figura ficcional del orden cultura, como, por ejemplo, personajes de películas como Saw o It. En algunos casos dichas pesadillas estaban en relación a la desaparición de su hermano, en estos sueños se desplegaban actos y escenas crudas de tortura, donde el desaparecido le suplicaba a la menor ayuda, sueños que le provocaban angustia por no poder hacerlo; en otros casos quien era víctima de dicha tortura era la menor, ya que estas escenas también estaban presentes en sus sueños.

Teniendo en cuenta ambas lecturas, una general y particular sobre los efectos subjetivos de las y los menores, se pudo comenzar a teorizar respecto al proceso de duelo que atraviesan las niñas y niños tras la desaparición de un familiar.

El proceso de duelo requiere un trabajo distinto y más complicado para el duelado en el caso de la infancia. El proceso del duelo en este caso, tiene dos tiempos: un primer tiempo donde los menores introyectan la figura del desaparecido, en la cual el menor reúne diferentes puntos de vista, posturas y opiniones sobre el desaparecidos, los cuales va construyendo con ayuda de los comentarios que tienen las y los parientes.

Dicha introyección de la figura del desaparecido no queda idealizada, o se ve como una imagen negativa, sino que alcanza un punto medio donde dicha imagen queda en relación con la percepción que tenía el menor de dicho familiar antes de la desaparición.

El segundo momento se ve permeado por la aceptación de la no presencia fáctica, así como la modificación en la relación y la ubicación que se le da al familiar desaparecido. Este segundo momento se caracteriza por la singularidad de cada caso, ya que este momento está en relación con la subjetividad de cada menor. En un caso, se ubicó que en este proceso se colocaba al familiar desaparecido en un lugar interno del ser del menor, el menor manifestó que su familiar “estaba dentro de él’’; en otro caso se asoció la presencia del familiar a un objeto simbólico, o se le pensó en un no-lugar, lo cual repercutió en que este familiar desaparecido podía estar con ella siempre.

En ambos momentos, así como en el término de los mismos preexiste la esperanza e incertidumbre respecto al estado del familiar desaparecido. Lo cual podría resultar paradójico para quien piense que el duelo necesita la presencia de un cuerpo fáctico para la elaboración dicho trabajo de duelo. Sin embargo este duelo consiste en la aceptación de una pérdida, no fáctica, sino en la modificación de la relación que se tenía con el familiar.

Además, las entrevistas con los psicólogos y psicólogas posibilitaron la realización de una propuesta de acompañamiento psicosocial con niñas y niños con familiares desaparecidos. Misma propuesta que fue y continúa siendo revisada y comentada por un equipo multidisciplinario de psicólogas, psicoanalistas, escritores de cuentos infantiles, acompañantes terapéuticos y psiquiatras.

Sumado a esto, los resultados de esta investigación recalcaron la importancia de que las niñas y niños no únicamente sean objetos de su historia, sino sujetos de la misma, es decir, que las y los menores con un familiar de desaparecido tienen el derecho de conocer su historia, así como de participar activamente en ella.

Discusión/Conclusiones

Aun cuando este trabajo buscó resolver los objetivos de la investigación, así como responder todas las preguntas que la guiaron, se reconocen también sus límites. Los resultados de esta investigación son apenas un aporte al complejo escenario de violencias que afectan directamente a la infancia en nuestro país. La desaparición de personas en el país es un crimen con efectos subjetivos amplios en el escenario familiar y es necesario seguir indagando en los efectos particulares que tiene dicho crimen en los niños y las niñas.

Esta investigación se limitó a conocer los efectos subjetivos que provocó la desaparición de un familiar en la vida de las niñas y niños. Esto también ha sido un aporte al estudio crítico de la construcción de memorias familiares y públicas sobre la desaparición, que tomen en cuenta las subjetividades de las y los menores, algo que no se ha tomado en cuenta en México. Es importante considerar a los niños y las niñas como agentes activos ante las situaciones difíciles en las que se encuentran; es también importante considerar su voz en los espacios académicos y de toma de decisiones públicas. Su afectación subjetiva ante las desapariciones de familiares debe ser recuperada también como un argumento político a favor de intervenciones psicosociales novedosas y eficaces, que pongan las necesidades de los niños y las niñas en el centro de cualquier programa público o de atención privada.

Mencionado el horizonte al cual se limitó esta investigación, se concluyó que los efectos que provoca la desaparición de un familiar en la vida de las niñas y niños son irreparables, las marcas psíquicas y corporales quedan y quedarán inscritas. Sin embargo, hay mucho por hacer y el psicoanálisis y otras disciplinas vinculadas al campo de la atención psicosocial a víctimas de la violencia en México deberían repensar tanto sus bases teóricas como su práctica cotidiana, para poder construir estrategias de intervención que tomen en cuenta la particularidad del contexto mexicano. El psicoanálisis tiene que construir una crítica conceptual y clínica si quiere tener vigencia ante el tipo de catástrofe social que estamos viviendo. El caso del trabajo clínico de la infancia ha sido siempre uno de los fuertes del psicoanálisis, por lo que es necesario que la labor con niños y niñas que pasen por situaciones de violencia vinculada al crimen organizado – como es el caso de la desaparición de personas – se complejice, se enriquezca con el diálogo con otras disciplinas y logre ampliar sus intervenciones más allá de la clínica tradicional de consultorio.

Es por ello que se resalta la importancia que tiene el acompañamiento psicosocial a familias y niños y niñas con familiares desaparecidos , el cual puede verse suplementado con un acompañamiento psicoanalítico, en el cual el psicólogo o la psicóloga debe comprometerse a cumplir su función desde una postura ética y crítica de su ejercicio profesional.

Aunado a este postulado sobre la importancia de que estos menores sean acompañados, se suma la señalización del deseo de niñas y niños que desean acompañar a sus familiares en la búsqueda, así como en los reclamos de justica. El cual, en medida de lo posible debe ser escuchado. Esta es una línea de investigación pendiente y de suma importancia, para dar cuenta de la participación política de los niños y las niñas en la búsqueda de personas desaparecidas en México y analizar, de forma particular, cuáles son los efectos de esta participación en la vida psíquica y familiar de los niños y las niñas.

Lo que sí es necesario afirmar es que el Estado debe velar por la protección, de todas y todos los familiares de desaparecidos que salen a buscar a su familiar y justicia. Ya que este requisito es indispensable para que las y los menores puedan ejercer su derechos de búsqueda sin el temor de represalias para ellos o sus familiares. Es así

que el papel del Estado cobra una vital importancia en este proceso, en el cual debe apoyar estos procesos de búsqueda. Esto también posibilitaría que las y los menores tomaran una postura activa en dicha pérdida desde el espacio público

Finalmente, es importante señalar que los retos para la psicología y otras ciencias sociales interesadas en el trabajo de acompañamiento psicosocial a víctimas son enormes, pero no por ello irrealizables. Avanzar desde el trabajo académico la comprensión de los fenómenos de la violencia y sus efectos es un paso determinante y un aporte invaluable desde la universidad pública. El aporte realizado en esta investigación busca continuar el desarrollo de un tema poco trabajado y de urgente atención: el trabajo de acompañamiento psicosocial a niños y niñas con un familiar desaparecido en el contexto mexicano. Se espera haber contribuido al conocimiento y al necesario debate público de la infancia en México, las violencias que se viven en el país, pero también la necesidad de pensar a las niñas y los niños como agentes activos ante las violencias que les afectan. Este último punto es fundamental para profundizar en la resiliencia de la infancia y para avanzar también en la discusión sobre la construcción de paz desde las víctimas en México.

Referencias bibliográficas

Avalos, J. & Orozco, M. (2014). La fábrica de casos en psicoanálisis: algunos elementos estructurales y principios de su método. *Uaricha*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/327361724_La_fabrica_de_caso_en_psicoanalisis_algunos_elementos_estructurales_y_principios_de_su_metodo

Cámara De Diputados Del H. Congreso De La Unión. (09-08-2019). Constitución Política De Los Estados Unidos Mexicanos. México: Cámara De Diputados Del H. Congreso De La Unión.

Cámara De Diputados Del H. Congreso De La Unión (03-01-2017). Ley General De Víctimas. México: Cámara De Diputados Del H. Congreso De La Unión.

Centro Nacional de Memoria Histórica. (2016). *Hasta encontrarlos: el drama de la desaparición forzada en Colombia*. Colombia: CNMH.

Centro Nacional de Memoria Histórica y Caja de Compensación Familiar Compensar. (2017). *Herramienta Metodológica del Monumento Sonoro por la Memoria: Mi voz es tu voz, la escucho, la siento y la cuento*. Bogotá: CNMH

Conoce el Draw my life. (24/04/2017). *Genially*. Recuperado de: https://view.genial.ly/58fe13ca2c0c6c3bd0ee4c09/interactive-content-conoce-el-draw-my-life

Gatti, G. (2017). *Desapariciones. Usos locales, circulaciones globales.* Colombia: Siglo del hombre editores.

González-Rey, F. & Mitjáns, A. (2015). Una epistemología para el estudio de la subjetividad: Sus implicaciones metodológicas. *Psicoperspectivas*. Recuperado de: https://www.psicoperspectivas.cl/index.php/psicoperspectivas/article/viewFile/667/451

Hoyos, L., Romero, M. y Blum, B. (agosto 2017). Las Particularidades Del Duelo En Los Niños, Ante La Desaparición De Un Ser Querido. *Revista Chilena De Psicoanálisis*. Recuperado de: http://www.apch.cl/2012/images/stories/documentos/revista/vol33ago/Ortiz.pdf

Jarast, R. (03-02-2014). Ruth y sus garabatos. *El blog de la apm.* Recuperado de: https://opinionesdepsicoanalistas.com/2014/02/03/ruth-y-sus-garabatos/

Marchant, M. (2014). *Vínculo y memoria. Acompañamiento terapéutico con niños internados*. Chile: Cuarto propio.

Porge, E. (2015). *Huir para adelante. El deseo del analista que no retrocede ante los niños.* Argentina: Letra Viva.

Robledo, C. (2017). *Drama Social y política del duelo. Las desapariciones de la guerra contra las drogas en Tijuana*. México: El colegio de México A. C.

Rodríguez, O. (2017). Historia de la desaparición en México: perfiles, modus y motivaciones. *Derecho y Ciencias Sociales.* Recuperado de: file:///C:/Users/Dell/Downloads/4059-Texto%20del%20artículo-11745-1-10-20171103.pdf

SEGOB. (2019). Mensaje del Comisionado Nacional Roberto Cabrera Alfaro sobre las acciones realizadas por la Comisión Nacional de Búsqueda. *Secretaria de gobernación*. Recuperado de: https://www.gob.mx/segob/prensa/mensaje-del-comisionado-

nacional-roberto-cabrera-alfaro-sobre-las-acciones-realizadas-por-la-comision-nacional-de-busqueda?idiom=es

Stavchansky, L. & Untoiglich, G. (2017). *Infancias. Entre espectros y trastornos*. México: Paradiso.

Vicente, C. & Dorantes, C. (2018). Registro y administración de la violencia: usos de la desaparición de personas en México. *Nuevo mundo. Mundos nuevos*. Recuperado de: https://journals.openedition.org/nuevomundo/72697

Reducción de residuos: Impacto de un curso en universitarios

Autores. Maricela Hernández Mandujano, Ariadna Perales Soto, Mónica González Márquez, Jocelyn Cárdenas Mosqueda, Paulina Soto Díaz, Ethan López

Asesora. Dra Evelyn Diez-Martínez

Facultad de Psicología. Universidad Autónoma de Querétaro

alexia_pau@live.com

RESUMEN

A pesar de que existen varias generaciones informadas acerca de la problemática ambiental y el cambio climático, no se ha logrado una educación que cause un verdadero impacto a nivel mundial de manera que genere actitudes proambientales. Este trabajo busca incidir en una de las más grandes problemáticas que aporta al cambio climático: la hipergeneración de residuos; apostando por la generación de consciencia que provoque cambios en las acciones proambientales. El objetivo de la investigación es fomentar la conducta y la consciencia proambiental mediante el diseño de un curso en Facebook para promover el consumo sustentable dentro de los distintos espacios en los que se encuentran los jóvenes. Se publicaron contenidos repartidos a lo largo de cuatro semanas, estos fueron divididos en los temas: Difusión de la página y recolección de datos, Los residuos en el mundo, Consejos: Reducción de residuos, y Consumismo, consumo responsable.

Se exhortó a estudiantes de la facultad de psicología de la Universidad Autónoma de Querétaro vía electrónica y personalmente a participar en el curso. Se elaboró y aplicó un pretest y postest para evaluar los conocimientos iniciales y finales. Para incentivar la participación en éste se realizó un concurso de carteles con tres ganadores, el cual debía de contener algún tema de los vistos a lo largo de las cuatro semanas. Los resultados del curso son favorables, debido a que muestran que los estudiantes lograron reconsiderar diversas formas de actuar que antes no tenían. Implicando un impacto positivo.

Palabras clave. Reducción de residuos, Conductas proambientales, consumo sustentable, conciencia ambiental

ABSTRACT

There are several generations informed about environmental problems and climate change, nevertheless there has not been the expected impact of this information on the change of habits of consumption and pro-environmental attitudes. This work tries to influence young people in one of the biggest problems that contributes to environmental problems: the hyper generation of waste; betting on the generation of consciousness that will cause changes in pro-environmental actions. The aim of the research was to promote pro-environmental behavior and awareness by designing a course via Facebook to promote sustainable consumption within the different spaces where young people gather. The content was distributed over four weeks, these were divided into the next topics: Waste in the world, Advice: Waste reduction, and Consumerism, and responsible consumption.

Students of the School of Psychology the Universidad Autonoma de Querétaro were invited electronically and personally to participate in the course. One pretest and one posttest were developed and applied to evaluate the initial and final knowledge. In the course to encourage the participation a poster contest was created where the competitors should create a poster of some of the issues seen it in the topics during the four weeks. The outcomes reveal favorable results. The course shows that students managed to have reconsider several ways of their acting that they did not have before, involving a positive impact.

Introducción

Las condiciones del medio ambiente en el planeta se están posicionando en niveles alarmantes, por lo que resulta primordial el cuidado y protección de éste. Y esta responsabilidad ambiental no se puede dar sin un previo desarrollo de conciencia ambiental acerca del impacto que los seres humanos pueden generar en la naturaleza.

Toledo y Valladares (2015) mencionan que la conciencia ambiental se refiere a aquellos factores psicológicos implicados en la propensión de conductas proambientales.

Para Encinas y Navarro (2018) la conciencia ambiental se conforma por cuatro dimensiones: afectiva, conativa, activa y cognitiva. La dimensión afectiva hace referencia a las emociones o sentimientos que se generan con respecto a la temática ambiental. La dimensión cognitiva se refiere a los conocimiento que se poseen acerca de las problemáticas ambientales. La dimensión conativa se relaciona con las conductas, acciones, actitudes, ya sean favorables o desfavorables, hacia el medio ambiente. Finalmente la dimensión activa se refiere a las conductas individuales y colectivas que se llevan a cabo para la protección y conservación del medio ambiente.

Una de las vías de generación de conciencia ambiental es la educación ambiental "proceso permanente de carácter interdisciplinario, destinado a la formación, cuyas principales características son el reconocimiento de los valores, desarrollo de conceptos, habilidades y actitudes necesarias para una convivencia armónica entre seres humanos, su cultura y su medio biofísico circundante" (Valera y Silva, 2012 citado de Orgaz-Agüera, 2018).

Los jóvenes representan un segmento considerable como consumidores pero también forman parte del desarrollo de una nueva cultura del tratamiento de los residuos así como estilos de vida más sostenibles, por lo tanto el implementar una educación ambiental en los jóvene es de suma importancia para cambiar el rumbo de la sociedad, conservar y proteger el medio ambiente.

A pesar de que la Universidad Autónoma de Querétaro ha implementado estrategias más amigables con el cuidado ambiental, por ejemplo, tener contenedores para la separación de basura, implementación de la política del no uso de las bolsas de plástico y los desechables, entre otros, con ello no se garantiza que haya un verdadero cambio en los hábitos de consumo y el manejo responsable de los residuos en las y los estudiantes en su vida cotidiana. Se presenta, entonces, la necesidad urgente de cambiar las conductas y actitudes de consumo, ya sea dentro de la universidad así como fuera de ésta.

El presente trabajo tiene por objetivo el analizar el impacto que generó la información proporcionada en la página de Facebook sobre las temáticas abordadas de reducción de residuos en los estudiantes de la Facultad de psicología.

Ante esto, se brindó información semanalmente mediante la red social de Facebook a las y los estudiantes de la Facultad de psicología, en el que se abordaron diversas temáticas semanales, las cuales estaban relacionadas a la reducción de residuos. Se aplicaron dos cuestionarios, uno al inicio para identificar sus conocimientos previos y un cuestionario al final, el cual se aplicó después de compartir en la página de Facebook los tópicos semanales. Esto con el fin de conocer si se generó algún impacto y poder comprobar si cambió su concepción del estudiantado ante la problemática de reducción de residuos. Se alentó a los estudiantes a leer e interactuar con el contenido publicado mediante un concurso de carteles, en el cual, una de las condiciones para participar era estar al tanto de las publicaciones que se compartían semanalmente.

Material y métodos

Para conocer la concepción previa del estudiantado perteneciente a la facultad de psicología sobre la reducción de residuos, se realizó un cuestionario en la plataforma de "google docs." el cual incluía seis preguntas de dicha temática para evaluar los conocimientos iniciales de los estudiantes.

Para dar a conocer el proyecto y la dinámica que se llevaría a cabo, se hizo difusión dentro de la facultad a cada grupo de ambos turnos, sobre los temas a abordar y de la página de Facebook, así como del concurso de carteles, con la finalidad de incentivar, difundir y motivar a la comunidad universitaria a la participación en la temática de educación ambiental.

En la página de Facebook ®, se comenzaron a desarrollar diferentes temáticas (una por semana) durante 4 semanas, esto con el fin de que los

estudiantes pudieran obtener un mayor conocimiento respecto a la temática abordada.

Semana uno:

"Difusión de la página y recolección de datos."
Durante ésta semana, se compartió la página con estudiantes de la facultad de psicología y externos. Se publicó el primer cuestionario con los alumnos buscando sus conocimientos previos mediante las respuestas que brindaron.
"Tomemos conciencia"
Se abordó el tema de "la isla de basura del pacífico" presentando problemáticas actuales, las cuales son resultado de los malos hábitos y poca conciencia acerca de la producción de residuos. Igualmente bajo ésta temática se publicó una imagen sobre los "dos tipos de persona" en la cual se hizo una comparación sobre las que han cambiado sus hábitos y las que no.

Semana dos:

"Los residuos en el mundo"
Se presentaron diferentes contenidos acerca de qué es lo que se hace en diferentes países para reducir sus residuos sin afectar el medio ambiente, desde los residuos en Singapur, hasta Suiza. Se compartieron algunos sucesos alrededor del mundo, los cuales tienen origen en el calentamiento global. Al mismo tiempo se presentó una noticia sobre la contingencia ambiental en Querétaro.

Semana tres:

"Consejos: Reducción de residuos"
Durante ésta semana se presentaron diversos consejos y *tips* para reducir la basura en la casa, en la escuela y el trabajo, al mismo tiempo que se compartieron alternativas para el reemplazo de productos de uso diario como el desodorante. Se compartieron imágenes sobre el "Reto sin plástico" las cuales mostraban diferentes opciones y alternativas para reemplazar productos hechos de plástico por productos reutilizables y ecológicos.
"Zero Waste"
Se presentó el tema "Zero Waste" el cual es un concepto de vida sustentable, basado en la reutilización de residuos que de otra manera serían almacenados y/o incinerados, contribuyendo así a la descontaminación del ambiente. Esto fue posible mediante diversos videos sobre personas que practican este estilo de vida, los cuales fueron compartidos, acompañados de artículos.

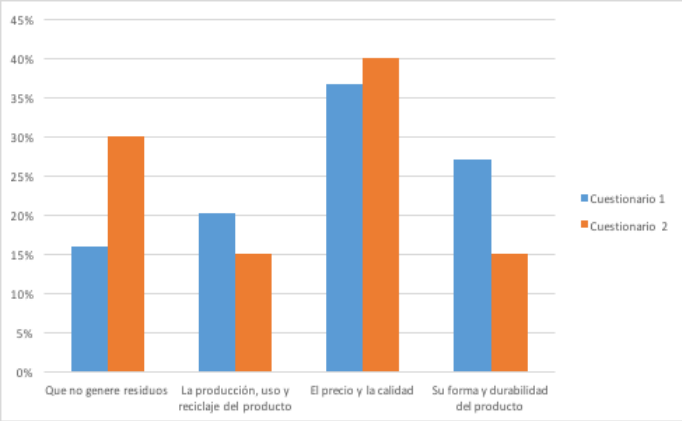
Semana cuatro:

"Consumismo, consumo responsable"
Durante ésta semana se compartió un artículo sobre siete claves para evitar el consumismo desmedido y reducir los residuos que éste deja en el ambiente, con el fin de brindar herramientas útiles para frenar el consumo desmedido e inconsciente. Se presentaron videos sobre la industria de la ropa, el consumismo y el impacto en el ambiente, el cual desemboca en un daño a las personas como al ambiente.
"Las 5 R"
Se compartió una publicación acerca de las 5 "R" reutilizar, reducir, reparar, reciclar y regular. Mostrando la importancia de la aplicación de cada una de ellas, al igual que diversos consejos y *tips* para comenzar a reciclar desde casa. En esta semana se presentó un conjunto de imágenes con diversas manualidades hechas con material reciclado.
Al término del curso se aplicó un segundo cuestionario, se retomaron las preguntas del cuestionario inicial y se agregaron tres preguntas más, esto para conocer si las temáticas abordadas en la página de Facebook había generado un mayor aprendizaje sobre la reducción de residuos en los estudiantes universitarios.

Resultados

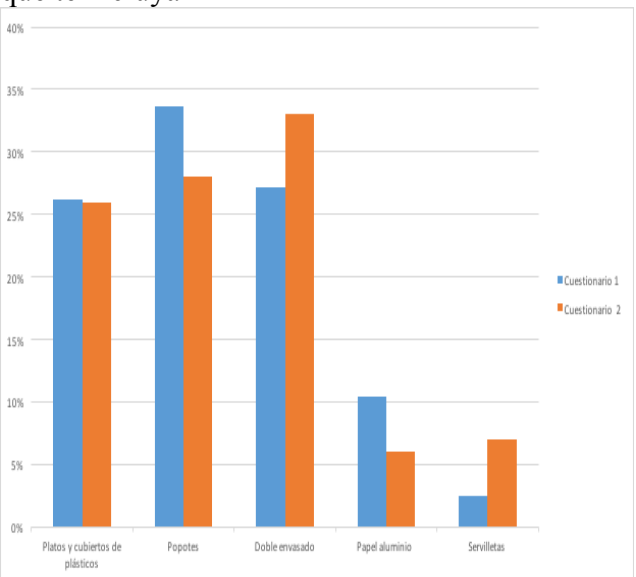
Los resultados fueron obtenidos sacando el porcentaje de las respuestas para cada pregunta. A continuación se presentan las gráficas obtenidas a partir de los resultados arrojados por el cuestionario inicial y el cuestionario final.

Gráfica 1. Marca dos opciones de los aspectos que tomas en consideración al momento de adquirir un producto alimenticio



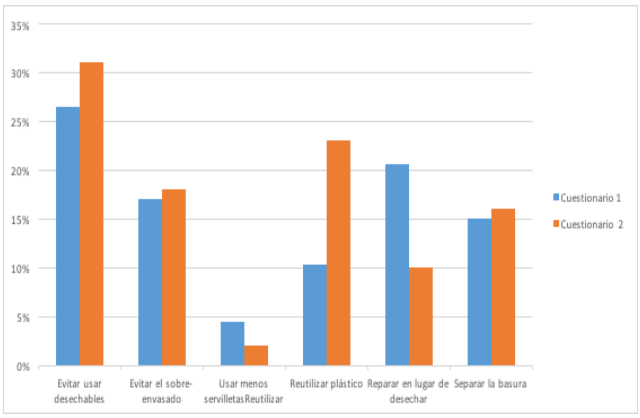
En la gráfica 1 se puede apreciar que al término del curso los universitarios consideran de mayor importancia elegir aquellos productos que no generen residuos, y continúan considerando importante el precio y la calidad, sin embargo, en la opción de elegir productos por su forma y durabilidad disminuye la importancia. En cuanto a la producción, uso y reciclaje del producto, forma y durabilidad del producto se consideró de menor importancia al término del curso.

Gráfica 2. Cuando vas a comprar alimentos evitas que te incluyan



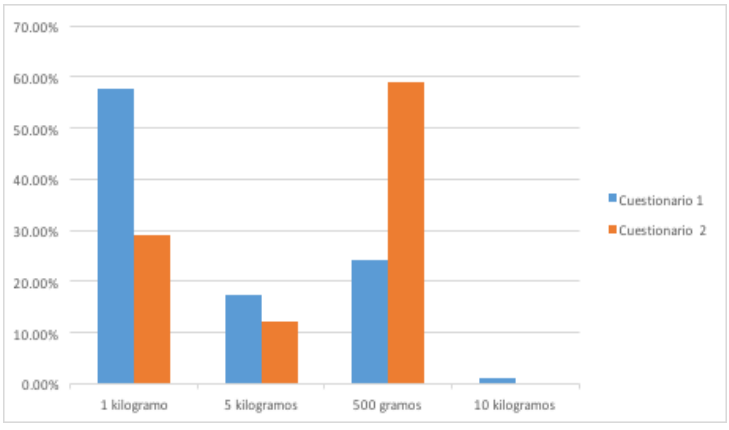
En la gráfica 2 se puede apreciar que evitar el uso de popotes, doble envasado, platos y cubiertos de plástico tiene mayor importancia para los estudiantes que evitar el uso del papel aluminio y servilletas, sin embargo, al término del curso se pudo apreciar en los alumnos una mayor frecuencia en evitar el doble envasado y el uso de servilletas. Se tomó menor importancia en evitar popotes y papel aluminio al término del curso. En ambos cuestionarios la respuesta de evitación hacia el uso de platos y cubiertos de plásticos

Gráfica 3.De los siguientes enunciados, marca 3 que consideras de mayor importancia para producir la reducción de residuos



En la gráfica 3 se observa que tanto al inicio como al término del curso, los y las estudiantes consideran que para producir la reducción de residuos se debe evitar usar desechable, el "usar menos servilletas" no se considerado tan importante en ambos cuestionarios. Con el término del curso, hubo un cambio al seleccionar que se debe reutilizar el plástico y evitar el sobre-envasado principalmente.

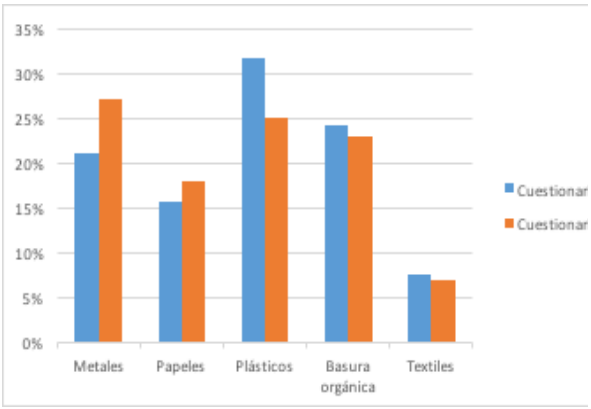
Gráfica 4. Marca la cantidad de residuos (basura) que crees que produces al día de manera personal en tu casa, trabajo y universidad



En esta gráfica se puede apreciar que el estudiantado en un inicio consideró que producía 1 kg. De basura en promedio, y al finalizar el curso, en el segundo cuestionario marcaron que producen 500 gramos. Marcando un cambio considerable en la concepción

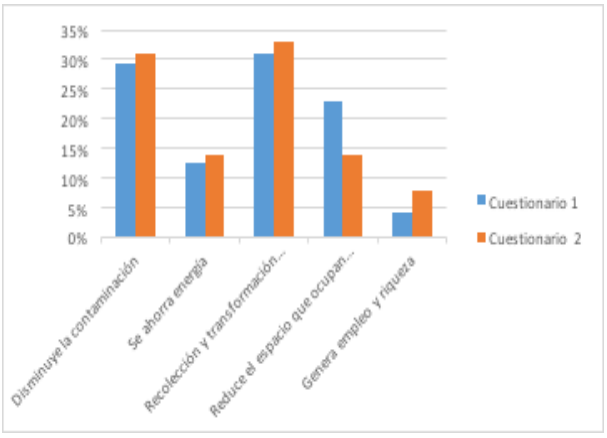
de la cantidad de residuos que producen en su vida cotidiana.

Gráfica 5. Marca 3 opciones donde crees que tú generas la mayor cantidad de producción de residuos



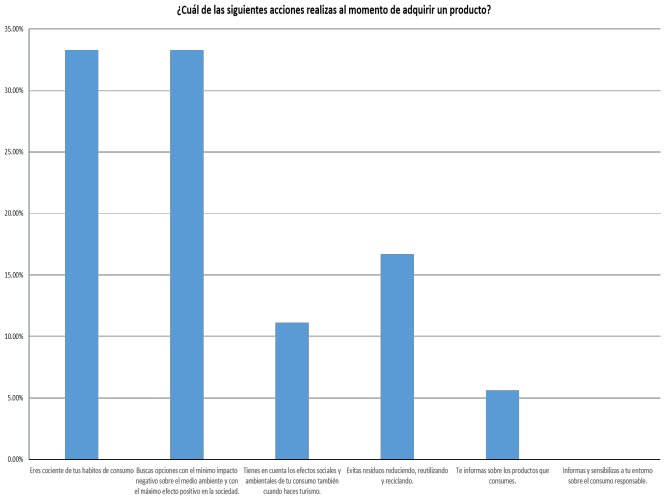
En la gráfica 5 se observa que las y los estudiantes al inicio y al término del curso consideran los plásticos, basura orgánica y metales como los materiales con los que generan mayor cantidad de residuos, sin embargo, al final del curso disminuyó de forma considerable la producción en plásticos, aumentó en metales y papeles y se mantuvo en textiles.

Gráfica 6. Marca 3 opciones donde consideres en qué forma contribuye a la reducción de residuos y al medio ambiente hacer reciclaje



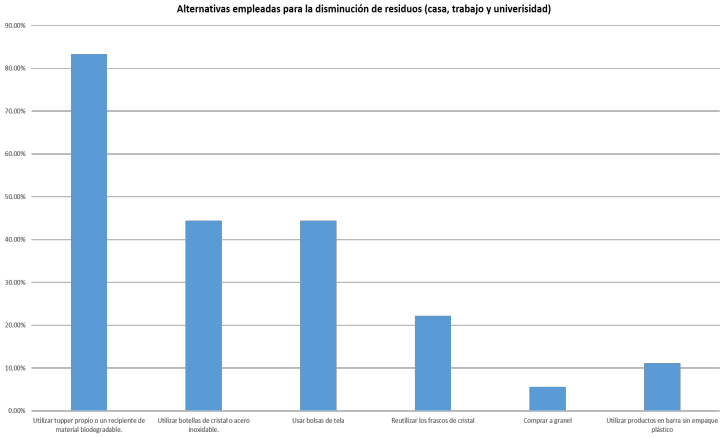
En la gráfica 6 se observa una frecuencia en las respuestas de disminución de la contaminación y la recolección y transformación de los residuos en nuevos materiales al inicio y al final del curso, se presenta un cambio al final del curso en a considerar que los residuos contribuyen generar riqueza y empleo, en cuanto a la opción de reducción del espacio que ocupan los residuos al convertirse en basura se considera de menor importancia.

Gráfica 7. ¿Cuál de las siguientes acciones realizas al momento de adquirir un producto?



En la siguiente gráfica se puede apreciar que los y las estudiantes al adquirir un producto consideran de mayor importancia el tomar conciencia de sus hábitos de consumo y buscan opciones con el mínimo impacto negativo hacia el medio ambiente, y no consideran en absoluto el informar y sensibilizar al entorno sobre el consumo responsable.

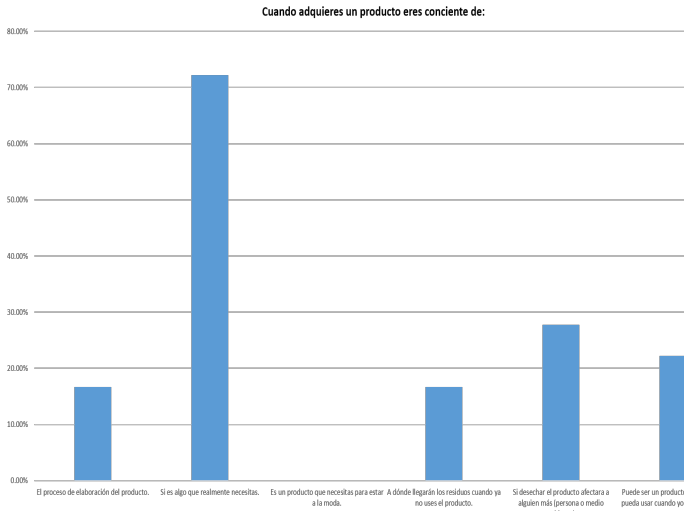
Gráfica 8. Elige las opciones de las alternativas que has empleado para disminuir los residuos en tu casa, trabajo y en la universidad:



Los participantes han tomado diversas alternativas para disminuir sus residuos en su casa, trabajo o universidad, utilizando en su mayoría tupper propio

o recipientes de material biodegradable, igualmente es predominante el uso de botellas de cristal o acero inoxidable. En menor porcentaje pero también importante se presenta la opción de reutilización de frascos de cristal

Gráficas 9. Cuando adquieres un producto tú eres conciente de (marca solo 2 opciones):



De la siguiente gráfica se puede rescatar que el 72% de los participantes son conscientes al momento de adquirir un producto ya que consideran que es algo necesario, otro porcentaje menor pero igualmente representativo muestra que los estudiantes consideran el impacto negativo que genera el desecho del producto.

CONCLUSIONES

A partir de la comparación de los porcentajes arrojados en el pretest y postest, se puede apreciar que los participantes consideraron la información proporcionada en sus respuestas puesto que en varias gráfica se observan modificaciones favorables en las respuestas, mostrando que el curso si tuvo un impacto en ellos, en cuanto a sus concepciones y accionar cotidiano. de la comunidad universitaria que participó en el curso

Cabe resaltar que los contenidos mostrados en la página, la difusión de manera presencial y la invitación a la participación del concurso de cartel (actividad que aún está sin concluir), así como el método no unidireccional, sino bidireccional donde los participantes pudieran también compartir conocimientos de educación ambiental por medio de la red social Facebook contribuyó al impacto de este.

Es importante señalar que a través de los resultados en los test y lo manifestado en la página "reducción de residuos" por la comunidad estudiantil de la facultad de psicología, la temática de la educación ambiental está en un conocimiento al que concluimos como superficial, si bien hay ciertas concepciones de reducción de residuos, es relativamente un tema nuevo ya que todavía se observan prácticas concretas en la comunidad universitaria que ponen de manifiesto que falta mayor conocimiento y difusión de educación ambiental. Estas razones invitan a seguir con este tipo de estudios y la inclusión en ellos de las redes sociales para analizar su impacto.

Bibliografía

Blanco, T. (2014) Cómo hacer desodorante en barra: natural, ecológico y muy económico.
Bioguia. Recuperdo de https://www.bioguia.com/salud/como-hacer-desodorante-en-barra-natural-ecologico-y-muy-economico_29269464.html#

Díaz Encinas, Jocelyn, & Fuentes Navarro, Fabio. (2018). Desarrollo de la conciencia ambiental en niños de sexto grado de educación primaria. Significados y percepciones. *CPU-e. Revista de Investigación Educativa*, (26), 136-163. Recuperado en 09 de septiembre de 2019, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-53082018000100136&lng=es&tlng=es.

Daily, N. [nasdaily]. (2019,05 4). The Exciting Journey of Trash! Recuperado de https://www.facebook.com/nasdaily/videos/vb.574719552680201/807133122991913/?type=2&theater

Hash, G. [Gabehash]. (2017, 09 18) Descubren nueva isla del tamaño de México en el Pácifico pero de plástico 2017. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=FdgXTqilisM&feature=youtu.be&fbclid=IwAR2IlUhMQPzkG5BG6yK294RrK7sd9Qh0TaI3-wL5J5eMdmGIZuGjTianRhE

Orgaz-Agüera, F (2018): "Educación ambiental: concepto, origen e importancia. El caso de República Dominicana ", Revista DELOS Desarrollo Local Sostenible n. 31(febrero 2018). En línea: https://www.eumed.net/rev/delos/31/francisco-orgaz.html //hdl.handle.net/20.500.11763/delos31francisco-orgaz

Sturzenegger, G. (2014) ¿Sabes cuánta basura generas en un día? Estocolmo Suecia. BID Mejorando vidas. Recuperado de https://blogs.iadb.org/agua/es/sabes-cuanta-basura-generas-en-un-dia/?fbclid=IwAR0uPfNHynCd-JifqcqXVOHzD9uIs1V5SlFL5UbV4jsa2qGj3awRFa8J2Rg

Expectativas de inclusión laboral en jóvenes de escuelas técnicas.

Autor: Irving Said Vázquez Huerta. Estudiante de la Licenciatura en Psicología del Trabajo.

Contacto: irvingoo_64@hotmail.com

Asesor: Dr. Rolando Javier Salinas García. Director de la Facultad de Psicología.

Contacto: javier.salinas@uaq.mx

Resumen:

El presente trabajo discute y analiza el entorno industrial que viven los jóvenes de escuelas técnicas del nivel medio superior dentro del Estado de Querétaro, en los municipios de Amealco, Cadereyta, San Juan del Río, Pedro Escobedo y Querétaro, en su relación con factores institucionales (escuelas), factores económicos, factores sociales y factores culturales; que inciden en la construcción de las expectativas de inclusión laboral que tienen hacía el sector automotriz.

El sector automotriz actualmente enfrenta constantes retos de innovación tecnológica e investigación que obligan a los trabajadores a una constante re-adaptación en cuanto a las competencias que el sector demanda. Ante esto, se ha buscado reforzar la interacción que existe entre la industria automotriz y las instituciones académicas, a partir de proyectos de innovación y desarrollo automotriz.

Como ejemplo se puede retomar el "Modelo Mexicano de Formación Dual" el cual "*es una iniciativa que integra la teoría y la práctica, en la que se incorpora al estudiante en actividades laborales que corresponden con su carrera profesional, combinadas con la preparación en la escuela para lograr el perfil de egreso"* (Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica, 2018).

Bajo este eje, se plantea el tema de investigación *"Expectativas de Inclusión Laboral de Jóvenes Estudiantes de Escuelas Técnicas del Nivel Medio Superior dentro del Sector Automotriz del Estado de Querétaro"*, trabajo que se desarrolla como tesis para la obtención de grado en Licenciado en Psicología del Trabajo por parte de la Universidad Autónoma de Querétaro.

El objetivo particular de esta investigación es identificar los factores que permiten la construcción de las expectativas de inclusión laboral por parte de jóvenes que estudian en las escuelas técnicas del nivel medio superior dentro del sector automotriz del Estado de Querétaro. Siguiendo la hipótesis de que los factores sociales y culturales del entorno inmediato son el principal medio por el cual los estudiantes de este nivel académico, dentro del Estado de Querétaro, construyen sus expectativas de inclusión laboral.

El trabajo se desarrolla bajo una metodología de corte mixto, apoyado en la encuesta *"Inclusión Laboral de Jóvenes en el Sector Automotriz del Centro de México 2018"* que permite contextualizar y comprender los escenarios sociales, culturales y económicos bajo los que se desenvuelven estos jóvenes, con edades entre los 16 y los 22 años.

Por último, esta tesis permite darle otra perspectiva al enfoque de la investigación realizada en Psicología del Trabajo, partiendo desde la mirada de jóvenes que todavía no pertenecen a una organización explícitamente, en vez de partir desde la mirada de personas que ya se encuentran insertas en el campo laboral. Este tipo de investigación permite entonces, identificar cómo se ven los jóvenes en relación con los requisitos que se les piden para ingresar a un sector laboral, permite la reflexión, tanto del investigador como de los jóvenes, sobre cómo interpretan la formación que se les imparte en sus respectivas instituciones académicas, además de analizar su punto de vista con relación a las empresas, en este caso, del sector automotriz, que se instauran en sus localidades de residencia

Palabras clave:

Inclusión laboral, Jóvenes, Industria automotriz, Escuelas técnicas, Factores sociales y culturales.

Abstract:

This paper discusses and analyzes the industrial environment in which young people from technical schools of upper secondary level live in the State of Querétaro, in the municipalities of Amealco, Cadereyta, San Juan del Río, Pedro Escobedo and Querétaro, it analyzes their relationship with institutional factors (schools), economic factors, social factors and cultural factors; which affect the construction of the expectations of labor inclusion in the automotive sector.

Nowadays the automotive sector faces constant challenges of technological innovation and research that force workers to a constant re-adaptation in terms of the skills that this sector demands. Because of this, it sought to strengthen the interaction between the automotive industry and academic institutions through innovation projects and automotive development.

As an example, the "Modelo Mexicano de Formación Dual" can be taken up again, which "is an initiative that integrates theory and practice in which the student is incorporated into work activities that correspond to his or her professional career combined with school preparation to achieve the graduating profile" (Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica, 2018).

Under this focus, the research topic "Expectations of Labor Inclusion of Young Students of Technical Schools of upper secondary level within the Automotive Sector of the State of Querétaro" is set forth, paper that it´s presented as a thesis to obtain a degree in Occupational Psychology by the Autonomous University of Querétaro.

The specific objective of this research is to identify the factors that allow the construction of the expectations of labor inclusion within youths attending technical schools of the upper secondary level within the automotive sector of the State of Querétaro. Following the hypothesis that the social and cultural factors of the immediate environment are the main means by which the students of this academic level, within the State of Querétaro, construct their expectations of labor inclusion.

The work is developed under a mixed methodology, supported by the survey "Inclusión Laboral de Jóvenes en el Sector Automotriz del Centro de México SEDESOL 2018" which allows contextualizing and understanding the social, cultural and economic scenarios under which these young people, aged between 16 and 22, operate.

Finally, this thesis allows us to give an alternative perspective to the approach of the research carried out in Occupational Psychology, departing from the point of view of young people who do not belong yet to an organization, instead of departing from the point of view of people already inserted in the labor field. This type of research allows us then to identify how the youths see themselves in relation to the requirements asked to enter a labor sector, allows reflection, both from the researcher and youths, on how to interpret the training they are given in their perspective academic institutions, in addition to analyzing their point of view in relation to companies, in this case, from the automotive sector, established in their residence places.

Key words:

Labor Inclusion, Youth, Automotive industry, Technical schools, Social and Cultural Factors.

Introducción.

El presente trabajo se realiza a partir de la investigación realizada a lo largo de la licenciatura en Psicología, Área del Trabajo, el cual lleva por título: *“Expectativas de Inclusión Laboral de Jóvenes Estudiantes de Escuelas Técnicas del Nivel Medio Superior dentro del Sector Automotriz del Estado de*

Querétaro", investigación planteada como trabajo de tesis para obtener el grado en Licenciado en Psicología del Trabajo por parte de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Un reflejo del alto impacto e importancia del sector automotriz en México tiene que ver con el desarrollo de actividades de desarrollo tecnológico e innovación. En ese sentido, la Asociación Mexicana de Distribuidores de Autopartes (AMIA) identifica el gran reto para este sector en nuestro país, *"reforzar la interacción y promover mayor vinculación industrial, academia, centros de investigación, enfocada a proyectos de innovación y desarrollo tecnológico de la industria automotriz"* (AMIA, 2018, Pg. 20).

Bajo esta línea y de acuerdo con el Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica (2016), CONALEP hizo oficial la oferta de la "Carrera Industrial Automotriz" en los estados de Aguascalientes, Guanajuato y Querétaro, como parte del proyecto *"Formación de Recursos Humanos para el Sector Automotriz en la zona de El Bajío en México"*; Con lo que se busca que los egresados puedan desempeñarse como supervisores del piso de producción o jefes de grupo o área en empresas proveedoras de materia prima o piezas y componentes importantes para la manufactura en la industria automotriz.

Sin embargo, el estudio y análisis de los principales factores que influyen en las expectativas de inclusión laboral, no puede cerrarse únicamente a un aspecto institucional (académico) o a factores económicos. Su análisis va más allá y es conveniente introducir también factores como los sociales y los culturales.

Dentro de la presente investigación las expectativas son entendidas como un constructo subjetivo formado a través de las experiencias del individuo que desemboca en el deseo de lograr un objetivo, meta o proyecto de vida, mientras que la inclusión laboral refiere al proceso de incorporación de los jóvenes a la actividad económica, dentro de una transición social que va del sistema educativo y familiar hacía posiciones de mercado y la independencia familiar.

Los aspectos institucionales se retoman a partir del conocimiento de los jóvenes sobre carreras de TSU, ingenierías o licenciaturas relacionadas al sector automotriz, sus planes de seguir estudiando una carrera relacionada al sector, su conocimiento sobre dónde pueden continuar estos estudios, las becas a las que pueden tener acceso por medio de estas instituciones, la cualificación de sus profesores, equipos y laboratorio de sus respectivos planteles así como los convenios con empresas del sector automotriz con las que éstas cuenten.

Los factores económicos se refieren a la empleabilidad para las personas de su localidad, la consideración de los jóvenes para insertarse en el sector automotriz, la instalación de estas empresas en sus localidades de residencia, la empleabilidad para jóvenes de su edad, el salario ofertado por esas empresas y su comparación con otros sectores, la diversidad de fuentes de empleo en su localidad, los recursos económicos con los que cuentan para continuar sus estudios y la posibilidad de encontrar un buen empleo en el sector automotriz al egresar de la preparatoria.

Los factores sociales considerados corresponden a la infraestructura que aporta el sector automotriz a la localidad donde se instaura, programas de desarrollo social, contribución del sector a servicios de infraestructura de las diferentes localidades, mejoramiento en las vías de comunicación, la cercanía de estas empresas con su lugar de residencia y los comentarios que familiares y/o amigos cercanos les hayan expresado sobre su perfil para ingresar a una empresa del sector automotriz.

Por último, los factores culturales se centran en las tradiciones familiares de laborar dentro de una empresa automotriz, ya sea que familiares cercanos (como tíos o primos) trabajen en estas empresas, los aspectos les llaman la atención del sector automotriz, sus planes (retomados desde la cultura de su entorno inmediato) para continuar con sus estudios, no estudiar por un tiempo, migrar a los Estados Unidos a trabajar, trabajar en un negocio propio, casarse o vivir

en unión libre, trabajar en un negocio familiar o el interés de su familia porque continúen estudiando para trabajar en el sector automotriz.

A partir de estos conceptos ordenadores y el contexto económico-cultural-académico-social del Estado de Querétaro, la presente investigación tiene por objetivo general identificar los principales factores que permiten la construcción de las expectativas de inclusión laboral por parte de jóvenes que estudian en escuelas técnicas del nivel medio superior dentro del sector automotriz en el Estado de Querétaro, teniendo como objetivos específicos la identificación de los principales factores sociales, institucionales, económicos y culturales que intervienen en la construcción de las expectativas de inclusión laboral por parte de jóvenes que estudian en escuelas técnicas del nivel medio superior dentro del sector automotriz en el Estado de Querétaro.

El contexto de la industria automotriz en el Estado de Querétaro

De acuerdo con Salinas et al (2017), gracias a su posición geográfica, el Estado de Querétaro se ha visto beneficiado del proceso de industrialización; un ejemplo son las vías de comunicación que le otorgan una ventaja competitiva, tanto en el mercado interno como en los flujos comerciales internacionales. Sin embargo, esto genera una problemática dual al Estado:

> *"Por un lado, se desarrolla como un territorio capaz de manufacturar productos de estándares internacionales (…) por otro lado, se muestra como una de las zonas más dinámicas del país debido a su orientación a la manufactura de maquinaria y equipo especializado; además, por su ubicación, posee la infraestructura necesaria para comunicar con numerosas entidades mediante redes de comercialización y transporte, lo cual ayuda a reducir costos y da paso a la participación de un mayor número de empresas en mercados comunes"* (Calderón, 2014 [Citado por Salinas et al, 2017 Pg. 36).

Lo anterior se ha visto reflejado en un mayor dinamismo en la atracción de empresas, de acuerdo con Urbiola (2017), la industria manufacturera ha logrado consolidarse como la principal actividad económica del PIB estatal, dividida en tres secciones industriales: metalmecánica, alimenticia y textil. Dentro de la primera, las empresas de maquinaria y equipo, carrocerías, motores, partes y accesorios de vehículos fueron las que encontraron un mayor crecimiento en el Estado, por lo que en el periodo de 1996-2016 la entidad consiguió un crecimiento industrial que le permitió ligar la producción local en cadenas productivas de mercados internacionales, alcanzando un total de 7,302 empresas en el sector industrial, divididas en 21 parques industriales.

Siguiendo la línea de Urbiola (2017), hacía 2015, el 40% de las empresas del sector automotriz se encontraban vinculadas a cadenas productivas de mercados locales e internacionales, donde:

> *"Las cadenas de proveeduría constituyen un vínculo que se busca fortalecer a través de programas de apoyo económico que beneficien: 1. Procesos de emprendimiento en forma directa, a través de programas federales, así como ferias y programas que incluyan a universidades y al sistema tecnológico de educación superior. 2. Procesos de capacitación a los trabajadores, para satisfacer la demanda de trabajo especializado de las empresas grandes de fabricación de autopartes"* (Urbiola, 2017, pg. 24).

Bajo la línea de los programas institucionales que aporta el sector automotriz, el Estado de Querétaro cuenta con su propio clúster automotriz, llamado "Querétaro Automotive Cluster", el cual es *"un modelo de interacción Industrial-Academia-Gobierno, el Clúster Automotriz de Querétaro promueve proyectos y acciones que fortalezcan el*

sector con una visión del impacto regional" (Querétaro-Automotive Cluster, 2019).

Otra oferta institucional que busca apoyar la inserción laboral de los jóvenes de escuelas técnicas a nivel medio superior es el Modelo Mexicano de Formación Dual, el cual *"es una iniciativa que integra la teoría y la práctica, en la que se incorpora al estudiante en actividades laborales que corresponden con su carrera profesional, combinadas con la preparación en la escuela para lograr el perfil de egreso"* ((Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica, 2018).

Salinas et al (2017) mencionan que Querétaro creó la Universidad Automotriz y la Universidad Aeronáutica de Querétaro, con los propósitos de concretar la llegada de una empresa armadora automotriz y formar profesionistas cualificados con las habilidades y competencias necesarias para el sector aeronáutico respectivamente.

De acuerdo con la Asociación Mexicana de Distribuidores de Autopartes A.C. (AMIA, 2018), uno de los retos para el sector automotriz en cuanto a personal cualificado para este tipo de industria es el de generar una mayor vinculación entre la industria, la academia y los centros de investigación que se enfoque en proyectos de innovación y desarrollo tecnológico de la industria automotriz.

Como puede observarse, los convenios entre las instituciones académicas y las empresas del sector automotriz son una constante y un factor que busca brindarle los conocimientos y las competencias a los jóvenes estudiantes para insertarse en este sector, sin embargo, cabe preguntarse: ¿Conocen los jóvenes las opciones institucionales que tienen para estudiar un área relacionada al sector automotriz? ¿Está en sus planes seguir estudiando una carrera en este sector? ¿Estas instituciones cuentan con becas que les permitan a los jóvenes de menores recursos económicos continuar estudiando?, ¿Cuentan con equipo y laboratorios óptimos para la formación de sus estudiantes?, entre otros.

Salinas et al (2017), mencionan que dentro de la zona Centro-Bajío, destacan Aguascalientes y San Luis Potosí con un salario diario de $225.42 y $217.00 respectivamente, lo que deja entrever el bajo salario en el sector automotriz en el Estado de Querétaro*: "en materia de empleo, de los 458,691 trabajadores ocupados en el estado, las industrias manufactureras concentraban el 36.4%; respecto de la remuneración percibida en el sector (…) en Querétaro, de acuerdo con datos del INEGI (2014), el promedio del salario diario era de 140.7 pesos"* (Salinas et al, 2017, Pg. 38).

Bajo esta línea, cabe reflexionar sobre la percepción que tienen los jóvenes estudiantes de escuelas técnicas en el Estado de Querétaro sobre las oportunidades de empleabilidad para personas de su localidad, salarios, comparación de esos salarios con otros sectores de la localidad, conocer si son la única fuente de empleo en su localidad, ¿cuáles son las consideraciones de los jóvenes para insertarse, o no, en el sector automotriz, sus posibilidades económicas para continuar sus estudios y sus posibilidades de encontrar un buen empleo dentro de este sector al egresar de la preparatoria.

Siguiendo la línea de Salinas et al (2017), estos esfuerzos en resaltar el alto desarrollo industrial (en cuanto a los convenios con instituciones educativas y factores económicos) han traído consigo una polarización en cuanto al índice de rezago social, debido a la deficiencia en indicadores de educación, de acceso a servicios de salud y otros servicios básicos, calidad y espacios en la vivienda y activos en el hogar; diferencia notoria entre los sectores que tienen mayor actividad manufacturera y los que no la tienen, dejando con pocas posibilidades de desarrollo económico y social a la población que no se encuentra dentro de la Zona Metropolitana de Querétaro (ZQM), conformada por los municipios de Corregidora, El Marqués y Querétaro, lo que se ve reflejado también en menores oportunidades en cuanto a posibilidades de inserción en el mercado laboral formal de calidad

y acceso a la educación superior para los jóvenes estudiantes.

Carrillo et al (2017) problematizan sobre esta desventaja académica en la inserción al mercado de trabajo en el sector automotriz, destacando que, a partir de la serie de cambios desde la década de los ochenta en la reconfiguración de los mercados laborales, las oportunidades de empleabilidad se han vuelto cada vez más erráticas debido a que exigen una alta preparación técnica ante la constante innovación tecnológica y también es observable una fuerte tendencia por parte de los empleadores que exigen una fuerza de trabajo poco escolarizada y ofrecen la mínima capacitación técnica.

Por último, de acuerdo con Acosta (2017), las oportunidades de empleo crecen constantemente, así como instituciones académicas que ofertan herramientas necesarias para que los jóvenes logren insertarse en el campo laboral. Sin embargo, los jóvenes se enfrentan a otras dificultades tales como: *"desconocimiento de las opciones de estudio y de trabajo, el crecimiento desmedido de la economía informal y la rápida colocación que tienen los jóvenes en ese sector"* (Acosta, 2017, Pg. 1). Por lo que se vuelve importante identificar los principales factores que permiten la construcción de expectativas de inclusión laboral de los jóvenes de escuelas técnicas de nivel medio superior en el Estado de Querétaro al sector automotriz en el contexto actual de la sociedad queretana y su en su entorno inmediato; reflexionando en este último punto aspectos como: los familiares cercanos (tíos, primos, entre otros) que trabajen dentro del sector automotriz, los aspectos generales que les atraen por parte del sector automotriz, sus planes de estudio, por ejemplo: no estudiar por un tiempo, trabajar en una empresa cercana a su localidad, migrar a los Estados Unidos para trabajar, trabajar en un negocio propio, casarse o vivir en unión libre o trabajar en un negocio propio.

Metodología.

La hipótesis general señala que los factores sociales y culturales del entorno inmediato son el principal medio por el cual los estudiantes de nivel medio superior de escuelas técnicas del Estado de Querétaro construyen sus expectativas de inclusión laboral en el sector automotriz.

Como hipótesis complementaria, se señala que los factores institucionales y económicos del entorno inmediato son el principal medio por el cual los estudiantes de nivel medio superior de escuelas técnicas del Estado de Querétaro construyen sus expectativas de inclusión laboral en el sector automotriz.

La presente investigación sigue una metodología de corte mixto que permite contextualizar y comprender los escenarios sociales, culturales, institucionales y económicos donde se desenvuelven los jóvenes de escuelas técnicas de nivel medio superior en el Estado de Querétaro. El instrumento de evaluación *"Inclusión Laboral de Jóvenes en el Sector Automotriz del Centro de México, SEDESOL 2018"* fue aplicado en cuatro Estados de la República: Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí y Aguascalientes. Sin embargo, para el presente trabajo solamente se tomaron en cuenta los datos obtenidos en Querétaro.

La encuesta tiene por objetivo identificar la percepción del universo de estudio sobre la inserción laboral en el sector automotriz en sus comunidades de acuerdo a las siguientes dimensiones:

1. Impacto de las empresas del sector automotriz en el Estado de Querétaro.
2. La inserción laboral en el sector automotriz en el Estado de Querétaro.
3. La inserción educativa en el sector automotriz en el Estado de Querétaro.

El universo de estudio que se abordó para llevar acabo la presente investigación consistió en un total de 1139 estudiantes de escuelas técnicas de nivel medio superior en el Estado de Querétaro, con un total de 889 hombres (Correspondiente al 78.0% de la

población), 249 mujeres (Correspondiente al 21.8% de la población) y una persona que no contestó género (Correspondiente al 0.08 de la población), con edades desde los 16 hasta los 22 años.

La siguiente tabla muestra los planteles y sus municipios correspondientes que accedieron a participar:

Tabla 1
Planteles y Municipios participantes en el Estado de Querétaro.

Planteles que accedieron a participar en la encuesta	Municipio
CONALEP Amealco	Amealco
CECYTEQ Corregidora	Corregidora
CONALEP San Juan del Río CBTIS San Juan del Río	San Juan del Río
CECYTEQ Pedro Escobedo	Pedro Escobedo
CONALEP Querétaro CETIS 105 CECYTEQ Querétaro CECYTEQ Menchaca	Querétaro

Fuente: Elaboración propia con datos de la encuesta: *Inclusión Laboral de Jóvenes en el Sector Automotriz del Centro de México, SEDESOL 2018*

Resultados preliminares

Dentro de la información que ha sido recabada hasta el momento de la redacción del presente trabajo, el 75.77% del total de jóvenes encuestados mencionó que las empresas del sector automotriz sí han mejorado las condiciones de vida de sus habitantes, en primer lugar, debido a que emplean a personas de su localidad y, en segundo lugar, gracias a las mejoras en la infraestructura en su localidad.

El 82.52% considera positivo que se instalen más empresas automotrices cerca de su lugar de residencia. La principal razón es porque ofrecen empleo a jóvenes como ellos, en segundo lugar, porque las industrias de este sector generan empleo para las personas de su localidad y, en tercer lugar, debido a que ofrecen buenos salarios.

Una respuesta que resalta y es de llamar la atención es que el 80.42% de los encuestados mencionó no conocer el perfil que requieren jóvenes como ellos para aspirar a un trabajo dentro de empresas del sector automotriz. Aunque, por otro lado, el 65.14% si ha considerado insertarse en un trabajo dentro del sector automotriz. El principal motivo es gracias a los buenos salarios, debido a que los consideran como los mejores empleos de su región y la cercanía de estás empresas de donde viven.

Otro punto a destacar es que el 63.30% de los encuestados mencionó que considera contar con el perfil y las competencias necesarias para trabajar dentro de una empresa del sector automotriz; siendo los principales factores para que los jóvenes se consideren con el perfil, las siguientes: sus 1) profesores están calificados, 2) sus escuelas cuentan con equipos y laboratorio, 3) sus escuelas cuentan con convenios para prácticas y 4) sus conocidos y familiares les han dicho que cuentan con el perfil.

Las primeras tres opciones que tienen pensadas los jóvenes al concluir su bachillerato son: 1) trabajar en una empresa del sector automotriz, 2) trabajar en una empresa cercana, 3) seguir estudiando algo relacionado al sector o, 4) trabajar en un negocio propio.

Lo anterior indica una ligera tendencia a considerar los factores económicos e institucionales como los principales factores por los que los jóvenes estudiantes de escuelas técnicas del nivel medio superior del Estado de Querétaro construyen sus expectativas, sin embargo, el realizar una conclusión contundente aún es apresurado puesto que todavía falta seguir trabajando con los resultados arrogados por la encuesta y la interpretación de los comentarios hechos por parte de los participantes.

Conclusiones preliminares.

Esta tesis permite darle otra perspectiva al enfoque de la investigación realizada en Psicología del Trabajo, partiendo desde la mirada de jóvenes que todavía no

pertenecen a una organización explícitamente, permitiendo problematizar los principales factores que están detrás de su elección laboral, los principales retos institucionales, sociales, económicos y culturales que están implícitos en este proceso y el grado de consciencia que los estudiantes tienen sobre ellos y sobre la problemática en la dualidad "formación académica-perfil profesional del sector automotriz", en una industria que se encuentra en constantes cambios tecnológicos, que demandan un cambio acelerado en las competencias y conocimientos laborales que se necesitan para ingresar en el sector automotriz.

Actualmente, la industria ha buscado generar vínculos tanto con el gobernó del Estado como con diferentes instituciones académicas, el cual ha destacado como el segundo factor más importante por el cual los jóvenes estudiantes de escuelas técnicas del nivel medio superior han ido formando sus expectativas de inclusión laboral, sólo por debajo del factor económico, donde los jóvenes consideran que los salarios que ofrece el sector son buenos; resultados que, por el momento, confirman la hipótesis complementaria, la cual indica que los factores institucionales y económicos del entorno inmediato son el principal medio por el cual los estudiantes del nivel medio superior de escuelas técnicas del Estado de Querétaro construyen sus expectativas de inclusión laboral en el sector automotriz.

Referencias

Acosta Yañez, S. (2017). *Expectativas de inclusión laboral en jóvenes estudiantes del nivel medio superior dentro del sector aeronáutico de Querétaro (Tesis de grado).* (U. A. Querétaro, Ed.) Querétaro.

Asociación Mexicana de la Industria Automotriz (AMIA). (2018). *Diálogo con la Industria Automotriz 2018-2014.* Obtenido de www.amia.com.mx: http://www.amia.com.mx/boletin/dlg20182024.pdf

Carrillo Pacheco, M. A., & Carrillo Hernández, M. d. (2017). Capitulo 3 Expectativas laborales de la juventud queretana. En M. A. Carrillo Pacheco, *Expresiones del trabajo en Querétaro 2017* (págs. 49-77). Querétaro: CONCYTEQ.

Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica. (30 de 01 de 2018). *La Experiencia del CONALEP en la Formación Dual.* Obtenido de https://www.gob.mx: https://www.gob.mx/conalep/es/documentos/la-experiencia-del-conalep-en-la-formacion-dual

Querétaro-Automotive Cluster. (10 de 02 de 2019). *Querétaro Automotive Cluster: Modelo*. Obtenido de autoqro.mx: http://autoqro.mx/modelo/

Salinas García, R. J., Godínez Flores, J. M., & Ortega Martínez, M. C. (2017). Capitulo 2 ¿Hacia dónde se dirige el desarrollo industrial de Querétaro? Pasado, presente y ¿futuro? de la industria queretana. En M. A. Carrillo Pacheco, *Expresiones del trabajo en Querétaro 2017* (págs. 33-49). Querétaro: CONCYTEQ.

Urbiola-Solís, A. E. (2017). Capitulo 1 Reorientación económica en Querétaro. Hacía un diagnóstico organizacional. En M. A. Carrillo Pacheco, *Expresiones del trabajo en Querétaro 2017* (págs. 13-33). Querétaro: CONCYTEQ.

¿Escuchar música interfiere en la comprensión lectora?

Luis Ignacio Vega Barrios*, Josué Romero Turrubiates

Asesora [1]Dra. Gloria Nélida Avecilla Ramírez*

Resumen

Los estudiantes han generado el hábito de escuchar música a través de auriculares mientras caminan, en bocinas durante una fiesta o desde un televisor en su comedor o sala. La lectura es la actividad de mayor importancia dentro y fuera del aula escolar, sin embargo, los estudiantes han desarrollado hábitos no aptos para estudiar como escuchar música mientras leen. La memoria de trabajo es una habilidad necesaria durante la lectura. Se entiende por memoria de trabajo un sistema que no se limita a almacenar información temporalmente, sino que también la manipula. Una manera de estudiar la memoria de trabajo humana es a través de los Potenciales Relacionados con Eventos (PREs). Para estudiar el proceso de comprensión de oraciones enteras en el cerebro humano se ha usado el componente P600.

La metodología de este experimento fue dividida en: Evaluación inicial de los participantes, la aplicación de un consentimiento informado como consideración bioética, el registro del EEG durante la lectura con música, y el análisis final de los datos.

El objetivo de este trabajo fue explorar si existe comprensión lectora al momento de escuchar música mediante un análisis electroencefalográfico del componente P600. Los resultados estadísticos no mostraron efectos significativos ni en la tarea con música en español ni en la tarea con música en inglés lo que indica que no se presentó un efecto en P600. Se concluye que escuchar música mientras se lee no permite la comprensión lector en su totalidad.

Palabras Clave: Memoria de trabajo, comprensión lectora, música, P600.

Abstract

Students have generated the habit of listening to music through headphones while walking, in speakers during a party or from a television in their dining room or living room. Reading is the most important activity inside and outside the school classroom, however, students have developed habits that are not suitable for studying how to listen to music while reading. Working memory is a necessary skill during reading. Work memory is understood as a system that is not limited to temporarily storing information, but also manipulates it. One way to study the memory of human work is through the Event-related Potentials (PREs). To study the process of understanding whole sentences in the human brain, the P600 component has been used.

Methodology of this experiment was divided into: Initial evaluation of the participants, the application of an informed consent such as bioethical consideration, the recording of the EEG during reading with music, and the final analysis of the data.

The objective of this work was to explore if there is reading comprehension when listening to music through an electrocephalographic analysis of the P600 component. Statistical results showed no significant effects either on the task with music in Spanish ($F = 2.9$, $gl = 1.8$, $p = .125$ or on the task with music in English ($F = 1.88$, $gl = 1.8$, $p = .207$) which indicates that there was no effect in P600. It is concluded that listening to music while reading does not allow the reader to understand in its entirety.

Key Words: Working memory, reading comprehension, music, P600.

Introducción

[1] Laboratorio de Neuropsicología, Facultad de Psicología, Universidad Autónoma de Querétaro.

luisnachover@gmail.com

gloria.avecilla@uaq.mx

En la actualidad, el mundo se enfrenta a un desarrollo paulatino en las tecnologías de la información y comunicación (TIC). Ibáñez (2009), afirma que el desarrollo tecnológico ha provocado cambios en los hábitos de estudio de las personas: "La tecnología cambia y a la vez impone cambios de hábitos".

Los estudiantes han generado el hábito de escuchar música a través de auriculares mientras caminan, en bocinas durante una fiesta o desde un televisor en su comedor o sala. Sin embargo, el hábito de escuchar música ha sido llevado al plano del estudio, es decir, se encuentra presente al momento de desempeñar una actividad académica.

Un hábito de estudio es el método o métodos y estrategias que un estudiante se ha acostumbrado a emplear para la asimilación de unidades de aprendizaje, su aptitud para evitar distracciones, su atención al material específico y los esfuerzos que realiza a lo largo de todo el proceso (Cartagena, 2008, citado en Hernández et al., 2012) de aprendizaje o apropiación de conocimientos. Para Hernández et al. (2012), los hábitos de estudio son los métodos y estrategias que suele usar un estudiante para hacer frente a una cantidad de contenidos de aprendizaje.

La lectura es el hábito de estudio que debería emplearse con mayor frecuencia, ya que éste permitirá una mejor transmisión de información para la incorporación de saberes en la estructura cognitiva. Sin embargo, aunque los estudiantes cuenten con los recursos cognitivos y físicos necesarios para la práctica de éste, no se hace uso de aquellos o se emplean de manera errónea, generando una nula o escasa transmisión de información durante la lectura.

Becerra et al. (2009) encontraron que el 33.6% de estudiantes de una facultad de la universidad nacional de Colombia en Bogotá aseguraron tener una preferencia de escuchar música, chatear en la web y ver tv mientras desempeñaban actividades de estudio. Perona et al. (2014), realizaron un estudio en Barcelona en una universidad sobre el empleo de contenido sonoro mientras se desempeñaba alguna otra actividad de carácter académico, encontrando que 97.1 % de su muestra de los jóvenes estudiantes aseguran realizar actividades académicas mientras escucha "algo". Del total de la muestra poblacional (521 estudiantes universitarios españoles), 30% escucha música mientras escribe, 27.4% escucha música mientras estudia y 16.6% escucha música mientras lee.

La lectura, así como escuchar música son consideradas actividades cognitivas complejas. Baddeley (1999) define la actividad compleja como aquella que demanda concentración máxima de la atención o que requiere la asignación de mayores recursos atencionales. Ibáñez (2009), asegura que el empleo simultáneo de la música con la lectura es un hábito que no genera un aprendizaje en los sujetos puesto a que provoca una interferencia frente a las condiciones de limitación y selectividad, las cuales son características del proceso atencional; afirma además que si el requerimiento de música como acompañamiento es la lectura es necesario, se debería de optar por sonidos que no representen significado para los lectores, ya que el factor emocional puede verse implicado y generar aún más inestabilidad atencional.

La atención no es el único recurso cognitivo que se emplea durante una actividad compleja.

La memoria de trabajo es una habilidad necesaria durante la lectura. Se entiende por memoria de trabajo un sistema que no se limita a almacenar información temporalmente, sino que también la manipula, permitiendo así la realización de actividades complejas, como razonar, aprender y comprender (Baddeley 2019). El modelo de memoria de trabajo de Baddeley & Hitch (1974) se compone de tres elementos:

•El ciclo fonológico, el cual tiene por función mantener secuencias de elementos acústicos y relacionados con el habla.

•La agenda visoespacial, ésta realiza una función parecida al bucle fonológico pero con elementos y secuencias codificadas visual y espacialmente.

•Ejecutivo central, este componente es aquel que controla todo el modelo. Es un sistema de carácter atencional de capacidad limitada que selecciona y manipula material en los subsistemas (o

componentes), actuando como un controlador que gestiona toda la actividad.

El ciclo fonológico sería un almacén temporal y un proceso de repaso verbal (Baddeley, 2019) o bien podría entenderse como aquel que implica un oído de la mente, como una voz de la mente que repite los elementos cuando estos son repasados (Smith y Kosslyn, 2008). Se cree que está involucrado en la adquisición del lenguaje, que facilite la adquisición de gramática y la adquisición de la lectura. Éste componente se encuentra dividido a su vez en dos subcomponentes: el almacén fonológico y el bucle articulatorio (Baddeley, 2019).

El almacén fonológico es un subcomponente en el cual el material se codifica mediante un rastro que desaparece en cuestión de segundos

El bucle articulatorio es el subcomponente del ciclo fonológico que se ve empleado incluso cuando un estímulo es de carácter visual y éste, en su proceso, es capaz de mantener items en el almacén fonológico bajo un proceso de repetición sub-vocal (Baddeley, 2019).

El tercer componente del modelo, el ejecutivo central se entiende como aquel que dirige a la memoria de trabajo, es un controlador atencional más que un sistema de memoria. Los autores Norman y Shallice (1986) proponen que opera de 2 maneras o modos de control distintos:

•Automáticamente, basado en hábitos existentes (tal ejemplo es el de conducir).

•Como un ejecutivo atencionalmente limitado.

Una de sus funciones más importantes es el foco atencional, esto no es más que la capacidad de dirigir la atención hacia la tarea en curso, otra función de éste componente es la atención dividida entre 2 o más tareas (Baddeley, 2019).

Los autores Daneman y Carpenter (1980) aseguran una característica definitoria de la memoria de trabajo, es la simultaneidad de los procesos de almacenamiento y procesamiento. Se ha sugerido que tan solo un subconjunto de la memoria de trabajo se experimenta de manera consciente (Cowan, 1995).

Una manera de estudiar la memoria de trabajo humana es a través de los Potenciales Relacionados con Eventos (PREs). Los PREs son una herramienta de carácter no invasivo que por su alta resolución temporal permite medir fenómenos lingüísticos que según los modelos neuropsicológicos existen durante los procesos de la lectura (Beres, 2017). Los PREs se obtienen del electroencefalograma (EEG) continuo, y se pueden definir como fluctuaciones de voltaje que ocurren en respuesta a ciertos estímulos o tareas cognitivas, como las que se llevan a cabo en la lectura, y se considera que reflejan la actividad neuronal durante ese proceso (Beres, 2017). Los PREs se representan en un plano cartesiano, con el tiempo en milisegundos en el eje X y la amplitud en microvoltios en el eje Y, y son una serie de ondas generalmente de pocos microvoltios de amplitud. Cada onda es llamada “componente” y se le puede relacionar con un proceso cognitivo específico (Beres, 2017).

Los PREs han aportado mucha información respecto a cómo se lleva a cabo el proceso de la lectura en el cerebro. Por ejemplo, se sabe que aproximadamente a los 400 milisegundos después de haber leído una palabra se lleva a cabo el análisis semántico que nos permite comprender su significado, proceso que se refleja en componente negativo llamado N400. Para estudiar el proceso de comprensión de oraciones enteras en el cerebro humano se ha usado el componente P600. El P600 es un componente que aparece a los 600 milisegundos ante incongruencias sintácticas del lenguaje. Sin embargo, se sabe que este componente refleja un proceso de reanálisis de toda la oración recientemente leída, pues la detección de un error sintáctico requiere que el lector haya comprendido toda la oración. El componente P600 parece reflejar un proceso de memoria de trabajo verbal, y dado que esta memoria es limitada, si su capacidad se sobrecarga, el componente P600 no aparecerá, reflejando que el lector no comprendió la oración y por lo tanto no puede detectar un error de sintaxis en ella (Avecilla et al. 2003; Hohlfeld et al., 2019).

El componente P600 puede ser usado como un indicador de que el lector está procesando y

comprendiendo lo que lee, por lo que en este estudio decidimos usarlo para averiguar si escuchar música mientras se lee disminuye la capacidad de comprensión lectora en estudiantes universitarios.

La hipótesis del trabajo es que el procesamiento de oraciones, medida a través del componente P600, se verá afectado por la sobrecarga de memoria de trabajo que implica escuchar música cantada. Se usó música en español y se comparó con música en inglés, con el objetivo de determinar si el hecho de que no se comprenda el idioma de la música que se está escuchando interfiere menos con el procesamiento de lo leído.

Justificación

En México, la comprensión lectora no es la mejor, de acuerdo a los resultados del Programa para la Evaluación Internacional de Alumnos (PISA) (2015). En los resultados de dicha evaluación se encontró que México se encuentra por debajo del promedio de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) en lectura, con una puntuación de 423 (siendo 493 la puntuación promedio de la OCDE). Durante el 2018 el INEGI encabeza un artículo en el Módulo sobre Lectura 2018 (MOLEC). Se encontró que de cada 100 personas lectoras de 18 o más años el 45% declaró leer un libro al año en comparación al 50% que declaró haber leído lo mismo durante el 2015, es decir se nota un deterioro en el hábito de la lectura del 5% en tan solo 3 años.

Esta investigación surge debido a las experiencias de universitarios que reportan escuchar música mientras estudian. Durante el proceso de aprendizaje y adquisición de conocimiento las personas emplean diversas alternativas para facilitar la consolidación de información que se encuentran analizando. Específicamente en el ámbito educativo los estudiantes atraviesan dicho proceso, por el cual se verán en la necesidad de implementar alternativas que les permitan optimizar los recursos cognitivos que los lleven a una adquisición de conocimiento. Saber si las técnicas de lectura de estudiantes universitarios interfieren con su comprensión lectora es crucial en un país de poca habilidad lectora como es el nuestro.

Metodología

La metodología fue dividida en 4 etapas: Evaluación inicial de los participantes, la aplicación de un consentimiento informado como consideración bioética, el registro del EEG durante la lectura con música, y el análisis final de los datos.

Para poder obtener la muestra fue necesario elaborar criterios de inclusión a la misma, los cuales fueron: Ser diestros, ser mexicano, tener el español como lengua materna, no saber inglés o saber sólo lo básico, no saber tocar un instrumento musical, ser estudiante universitario, no haber repetido algún grado escolar y no tener problemas auditivos ni neurológicos.

Evaluación inicial

La aplicación de un breve cuestionario llamado “exploración a los participantes” permitió recabar los siguientes datos: su edad, el conocimiento de un segundo idioma y el porcentaje de comprensión del mismo, si saben tocar algún instrumento musical, si conocen alguna de las canciones que forman parte de los estímulos que fueron presentados durante la aplicación del experimento, saber si han presentado problemas neurológicos o de audición y su lateralidad. Para determinar que los participantes no tuviesen problemas de memoria verbal, se aplicó la prueba psicométrica WAIS-IV, la cual es un instrumento clínico de aplicación individual que evalúa la inteligencia en personas de 16 años a 90 años, 11 meses. Proporciona puntaciones compuestas que representan el funcionamiento intelectual en áreas cognoscitivas específicas y una puntuación compuesta que representa la escala de la capacidad intelectual general. Todos los participantes en este estudio tuvieron puntuaciones dentro de lo normal para su edad en todas las subescalas de la prueba.

Consideraciones Bioéticas

Durante la investigación se presentó un consentimiento informado el cual aclaraba que la participación en este estudio era voluntaria, la información personal proporcionada para la investigación sería totalmente confidencial y no se publicaría información que pudiese identificar al participante. Además, dejaba en claro que la

investigación no generaría un beneficio personal, sino que el objetivo es obtener mayor conocimiento acerca del proceso de la lectura, y dado que el estudio no es diagnóstico no se les entregarían resultados, y no habría una remuneración. Se informó también a los participantes en qué procedimientos participarían, la explicación de los mismos y la aclaración de que no implicaban ningún daño y que se podría retirar de la investigación en cualquier momento si cambiaba de opinión.

Registro del EEG durante la lectura con música

Durante la primera parte del experimento los participantes realizaron dos tareas frente a un monitor, las cuales consistían en la presentación de dos listas de oraciones aleatorias mientras se exponía al participante a una breve lista de música. Los participantes debían de leer con atención cada oración que se presentaba en el monitor, dichas palabras se presentaban una por una con el objetivo de que no hubiese movimientos oculares que interfirieran en el EEG. La mitad de las oraciones tenía una palabra crítica que era errónea pues violaba la concordancia de género. La concordancia es una relación entre al menos dos palabras que se establece con la repetición de uno de los morfemas de género, de número o de persona de cada una de ellas, y que sirve fundamentalmente para relacionar e identificar léxica y sintácticamente las palabras concordantes (Baber Friend, 2002). Los participantes debían señalar con el comando "1" si la oración que leyeron era correcta y el comando "2" si la oración que leyeron contaba con algún error. Mientras llevaban a cabo la lectura, escuchaban una lista de tres canciones en inglés o español, dependiendo el caso. Una vez terminada la primera tarea, se daba unos minutos de descanso para posteriormente comenzar con la segunda lista de oraciones y con tres canciones en idioma diferente al cual habían escuchado anteriormente.

Se elaboraron 30 oraciones las cuales tenían la misma estructura y complejidad gramatical. Se eligió un error de concordancia de género entre sustantivo y un adjetivo.

Ejemplos:

Versión correcta: la chamarra rota* que me prestó mi primo está muy grande.

Versión incorrecta: la chamarra roto* que me prestó mi primo está muy grande

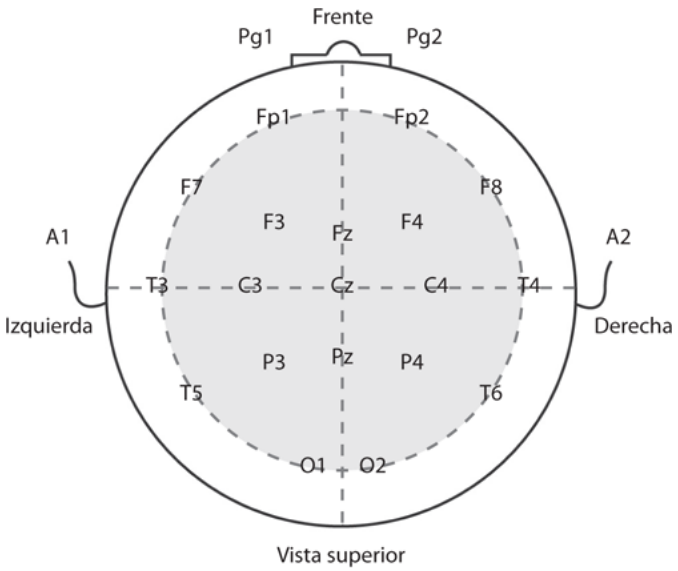
Para el experimento se contó con 4 listas formadas de manera aleatoria. A cada participante se le presentaban sólo dos listas.

Se elaboraron 3 listas de canciones por cada idioma. Un total de 9 canciones en inglés y sus 9 versiones en español se debieron en 3 listas con 3 canciones cada una por cada idioma. A los participantes no se les exponía a dos listas iguales en sus diferentes idiomas, por ejemplo, el participante número uno comenzó con la "lista de oraciones 1" mientras escuchaba la "lista musical en español A", y como segunda tarea leyó la con la lista de oraciones 2 mientras escuchaba la "lista musical en inglés B".

Para la elección de las canciones se consideró que la canción tuviera su versión en español o viceversa, y que los participantes no las conocieran, para eliminar posibles variables de memorias emocionales asociadas a las canciones.

Para poder comprender el proceso de la comprensión lectora, mientras los participantes leían y escuchaban música se les realizó un electroencefalograma (EEG). Para el registro, se les colocó una gorra con electrodos basada en el sistema 10/20 para poder observar la actividad eléctrica de cada uno de los participantes (ver disposición de electrodos en la Figura 1).

Un segundo grupo de 9 estudiantes con las mismas características funcionó como grupo control, al realizar la misma tarea que los grupos experimentales, pero sin escuchar música alguna.



Fuente: Nancy Esthela Fernández Garza: *Manual de laboratorio de fisiología*, 6e: www.accessmedicina.com
Derechos © McGraw-Hill Education. Derechos Reservados.

Figura 1. Ubicación de los electrodos del sistema 10-20.

Siguiendo la metodología de Carrasco et al., (2017) el registro del EEG se realizó colocando una gorra ElectroCap equipada con los electrodos del sistema internacional de registro 10/20: Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, C3, C4, Fz, Cz, Pz, T3, T4, T5, T6, P3, P4, O1, O2. Las referencias fueron los lóbulos auriculares con electrodos cortocircuitados. El tiempo de muestreo fue de 5 mseg (una muestra cada 5 mseg), y el filtro de banda estuvo entre 0.1 y 30 Hz. La edición se realizó fuera de línea, y los PREs se obtuvieron promediando ventanas de 1 segundos sincronizadas con la presentación de los estímulos. La toma del registro se hizo con el sistema Registro de Psicofisiología de Neuronic.

Presentación de paradigma experimental

Los participantes se sentaron en una silla cómoda, con la gorra ElectroCap puesta y conectada al equipo de EEG, enfrente de un escritorio con un monitor a la altura de sus ojos. El EEG se registró mientras los participantes realizaban la tarea de lectura de las oraciones preparadas. Las oraciones de cada lista se presentaron en el monitor de esa computadora usando el software “Estimulador Cognitivo” de Neuronic.

Las oraciones se presentaron palabra por palabra, con letras blancas, en el centro de la pantalla de la computadora. Cada palabra permaneció en el monitor por 550 milisegundos Al finalizar la oración se les presentó en la pantalla a los participantes una señal para responder. Los participantes debían decir si la oración estaba bien escrita o si tenía algún error, usando el teclado de la computadora. Las oraciones se presentaron de manera aleatoria, de modo que los participantes no podían saber si la siguiente oración era correcta o incorrecta. Los participantes podían hacer una pausa si se cansaban. El experimento en total, considerando la preparación del participante, el registro y la aplicación del WAIS IV no duró más de 2 horas y media.

Obtención de PREs

Los PREs se obtuvieron promediando todos los segmentos de EEG sincronizados con la presentación de los estímulos, en cada registro de EEG de cada participante. Las ventanas de análisis comprenden 1000 milisegundos en total 100 milisegundos previos a la presentación del estímulo y 900 milisegundos posteriores al inicio de la presentación del estímulo.

Análisis estadístico

Se hizo una ventana en el segmento de tiempo correspondiente al componente P600, de 550 a 750 milisegundos, y se promediaron los valores de amplitud de los PREs de esa ventana para cada condición, para cada participante. Con esos datos se hicieron pruebas ANOVA con tres factores de medidas repetidas: condición (incorrecta vs correcta), topografía (la localización de los electrodos) y hemisferio. Se corrió una prueba para cada versión de la tarea, una ANOVA para los PREs de la tarea sin música, una para la tarea con música en español y otra para la tarea con música en inglés.

Resultados

Los resultados de los PREs se obtuvieron de una muestra poblacional de 9 participantes (6 mujeres y 3 hombres. Los datos de 4 participantes fueron

removidos debido a que no cumplían con los criterios de inclusión o a que sus registros de EEG resultaron demasiado ruidosos.

En la Figura 2 podemos observar los PRE de la tarea control (sin música). Puede notarse la aparición del componente P600 de mayor amplitud para la condición incorrecta, mientras que en la Figura 3 se puede observar el componente P600 en la misma condición en los electrodos parietales pero con mucho ruido y variabilidad. En la Figura 4, se puede observar una tendencia de presentación del componente P600 en los electrodos parietales, sin embargo, éste se ve variable y con ruido al igual que en la Figura 3.

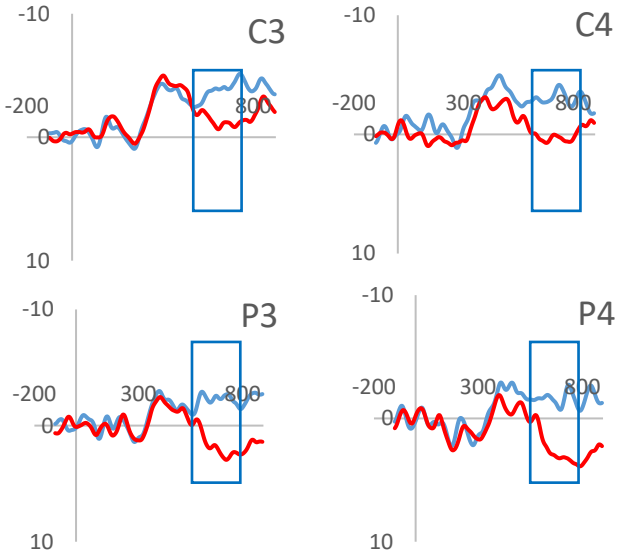


Figura 2. PREs en respuesta a errores sintácticos de concordancia de género, sin escuchar música. La línea azul representa la condición correcta y la línea roja la condición incorrecta. Los recuadros indican la ventana del componente P600.

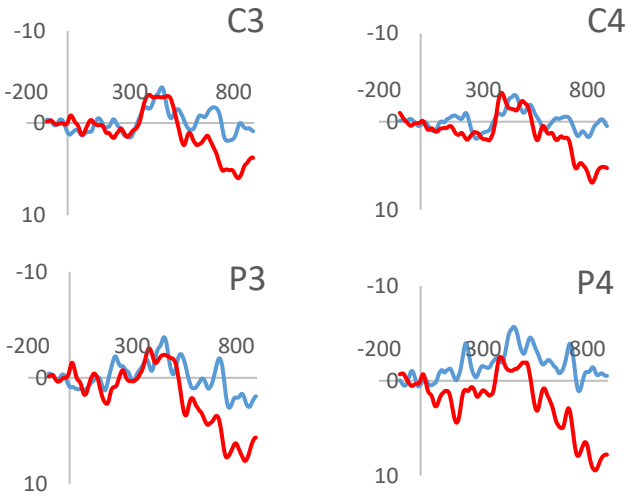


Figura 3. PREs en respuesta a errores sintácticos de concordancia de género, mientras los participantes escuchaban canciones en español. La línea azul representa la condición correcta y la línea roja la condición incorrecta.

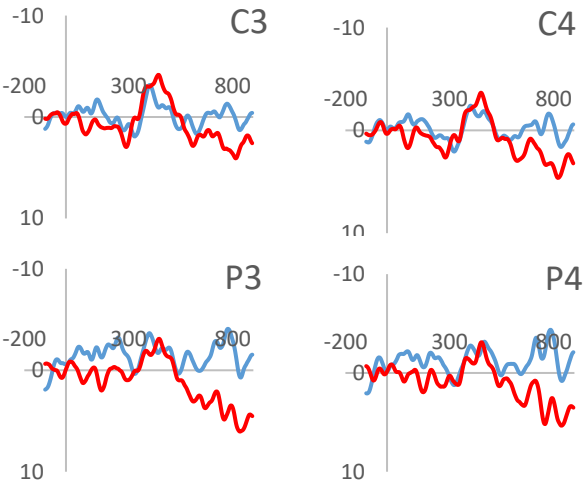


Figura 4. PREs en respuesta a errores sintácticos de concordancia de género, mientras los participantes escuchaban canciones en inglés. La línea azul representa la condición correcta y la línea roja la condición incorrecta.

Resultados estadísticos

En los resultados estadísticos se encontró un efecto principal de condición para la tarea sin música (F=5.566, gl=1,8, p=.046), la amplitud del componente P600 fue mayor para las oraciones incorrectas que para las correctas, lo cual indica que si se presentó un efecto P600.

Los resultados estadísticos no mostraron efectos significativos ni en la tarea con música en español (F=2.9, g.l.= 1,8, p=.125 ni en la tarea con música en inglés (F=1.88, g.l.=1,8, p=.207) lo que indica que no se presentó un efecto P600 en dichas tareas.

En contraste con los análisis visuales de los PREs, los cuales muestran una onda que corresponde a componente P600, la estadística muestra que el efecto P600 no presentó dierencias significativas durante la lectura ante la música en español e inglés en ninguna de las condiciones.

Conclusiones

Los resultados sugieren que escuchar música mientras se está leyendo genera una sobrecarga en la memoria de trabajo, generando que sus subcomponentes no puedan retener y transformar la información que están obteniendo de lo escrito, de esta manera, los recursos atencionales y por ende la comprensión lectora, se ven afectados. Las personas que se encuentren escuchando música mientras están leyendo, tendrían problemas para poder comprender en su totalidad el sentido de éste, debido a la interferencia cognitiva que genera el escuchar música cantada.

Mediante el análisis de los PREs y su estadística podemos ver cómo al cerebro le es complicado discernir entre contenidos correctos o incorrectos debido a la presentación de un estímulo sonoro, la casi nula presentación del componente P600 lo vislumbra.

Con esto no se concluye que escuchar música mientras se lee no permita la comprensión lector en su totalidad, sin embargo es un indicador de que dicho hábito no es el que mejor da resultados a la hora de querer comprender lo escrito.

Se sugiere realizar análisis con variables tales como el género musical, la ausencia de letra en la música y variar los beats dentro de la estructura musical, para futuras investigaciones.

Se sugiere que los estudiantes pospongan el escuchar música mientras se esté leyendo y posteriormente, una vez terminada su lectura, puedan oírla.

Bibliografía

Baddeley, A. D., & Hitch, G. J. (2019). The phonological loop as a buffer store: An update. *Cortex*, *112*, 91–106. https://doi.org/10.1016/j.cortex.2018.05.015

Becerra-Bulla, F., Parra Vargas, M., & Vagas Zárate, M. (2011). Estilo cognitivo predominante en estudiantes universitarios de nutrición y dietética, Universidad Nacional de Colombia-Bogotá, 2009. Rev Fac Med, 59(2), 113–124. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v59n2/v59n2a04.pdf

Beres, A. M. (2017). Time is of the Essence: A Review of Electroencephalography (EEG) and Event-Related Brain Potentials (ERPs) in Language Research. *Applied Psychophysiology Biofeedback*, *42*(4), 247–255. https://doi.org/10.1007/s10484-017-9371-3

Camos, V., & Barrouillet, P. (2014). Attentional and non-attentional systems in the maintenance of verbal information in working memory: The executive and phonological loops. *Frontiers in Human Neuroscience*, *8*(November), 900. https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00900

Carrasco-Ortíz, H., Velázquez Herrera, A., Jackson-Maldonado, D., Avecilla Ramírez, G. N., Silva Pereyra, J., & Wicha, N. Y. Y. (2017). The role of language similarity in processing second language morphosyntax: Evidence from ERPs. *International Journal of Psychophysiology*, *117*. https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2017.04.008

Hernández, C. Rodríguez, N. Vargas, A. (2012). Los hábitos de estudio y motivación para el aprendizaje de los alumnos en tres carreras de ingeniería. Revista de Educación SuperiorUniversidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. Sección. *Revista de Educación Superior*, *3*, 67–87.

Hohlfeld, A., Martín-Loeches, M., & Sommer, W. (2019). The nature of morphosyntactic processing during language perception. Evidence from an additional-task study in Spanish and German. *International Journal of Psychophysiology*, *143*, 9–24. https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2019.06.016

Ibañez,L (2009). ¿Cuál es el beneficio de leer y escuhar músicaal mismo tiempo? *Cepies investiga. 1*(1), 101-111. Obtenido de http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/recepies/v1n1/v1n1_a09.pdf

INEGI. (2018). Comunicado De Prensa Núm. 166/18 27 De Abril De 2018 Página 1/2, 25. Retrieved from https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodemo/MOLEC2018_04.pdf

Majerus, S. (2019). Verbal working memory and the phonological buffer: The question of serial order. Cortex, 112, 122–133. https://doi.org/10.1016/j.cortex.2018.04.016

OCDE. (2016). Resultados Clave. *Programa Para La Evaluación Internacional de Los Alumnso (PISA) 2015*, *205*, 14. Retrieved from https://www.oecd.org/pisa/PISA-2015-Mexico-ESP.pdf

Perona Páez, J. J., Barbeito Veloso, M. L., & Fajula Payet, A. (2014). Los jóvenes ante la sono-esfera digital: Medios, dispositivos y hábitos de consumo sonoro. Communication and Society, 27(1), 205–224.

Wechsler, D. (2008). Escala de Inteligencia de Wechsler para Adultos, 4ª Edición: Manual técnico y de interpretación. Madrid: Pearson

La diversificación de actividades de matemáticas en un aula multigrado

Gabriela Zepeda Padilla
Universidad Autónoma de Querétaro
gzepeda18@alumnos.uaq.mx

Erika García Torres
Universidad Autónoma de Querétaro
erika.garcia@uaq.mx

Resumen: La modalidad multigrado en México fue creada para atender la problemática de analfabetismo en zonas rurales del país. Actualmente, las escuelas primarias multigrado representan el 43% a nivel nacional, sin embargo, no cuentan con una propuesta curricular acorde a sus necesidades. Se ha documentado que una de las estrategias didácticas más recurrentes es la diversificación de actividades. Se reporta un estudio de caso, situado en una escuela unitaria en el Estado de Querétaro, enmarcado en una perspectiva sociocultural sobre la construcción de conocimiento matemático. Se describe una situación observada que caracterizan la práctica docente de la maestra multigrado y que sirven para analizar la organización de la enseñanza de las matemáticas en el aula y, por ende, el aprendizaje de los alumnos.

Abstract: The multigrade modality in Mexico was created to address the problem of illiteracy in rural areas of the country. Currently, multigrade elementary schools represent 43% nationwide, however, they do not have a curricular proposal according to their needs. It has been documented that one of the most recurrent teaching strategies is the diversification of activities. A case study is reported, located in a unitary school in the State of Querétaro, framed in a sociocultural perspective on the construction of mathematical knowledge. An observed situation is described that characterize the teaching practice of the multigrade teacher and that serve to analyze the organization of mathematics teaching in the classroom and, therefore, the students' learning.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia, las escuelas multigrado han existido como estrategia del gobierno mexicano para atender a la población analfabeta de zona rurales del país, frecuentemente esta zonas son poco pobladas. Las escuelas multigrado se caracterizan por la organización y atención escolar que se realiza en varios grados de manera simultánea, ya sean 2, 3 o bien, los seis grados en una misma aula. Por lo general, las escuelas multigrado se sitúan en comunidades rurales, casi siempre en zonas con presencia de población indígena y con altos o muy altos grados de marginación, lo que se asocia con una infraestructura inadecuada. En muchos casos, las escuelas no cuentan con recursos y materiales básicos como agua, luz, internet y personal de intendencia (Juárez, 2017; Juárez, Vargas y Vera, 2015).

En todos los casos, los docentes a cargo de las escuelas multigrado fungen como directores, esto le resta tiempo para sus actividades de enseñanza pues frecuentemente tiene que ausentarse para gestionar asuntos administrativos. Esto se agrava cuando la escuela es unitaria, ya que en una misma persona recaen las responsabilidades administrativas y educativas de los alumnos. Lo que se ha documentado sobre los docentes que trabajan en zonas de alta y muy alta marginación es que son jóvenes, noveles en la docencia y, por lo regular, no viven en la comunidad donde se ubica la escuela, aunque sí provienen de entornos similares (Fierro, 1991; Bustos, 2007). En México, durante el ciclo escolar 2016-2017, se identificaron como multigrado 43.42% de las primarias, esto equivale a 19,813 primarias unitarias públicas atendiendo a 1,259,312 alumnos (INEE, 2018). En el estado de Querétaro, el 36.5% de las primarias públicas con multigrado, esto equivale a 362 escuelas con esta modalidad.

Entre los fenómenos identificados en las escuelas multigrado, se puede mencionar, en primera instancia, que no es concebida como un tipo de servicio escolar que requiere formación docente especializada, es decir, los docentes no son formados en para enseñar simultáneamente a dos o más grados, el docente que concursa para ingresar al servicio general o indígena no es evaluado en específico para la enseñanza multigrado sino en general como docente del nivel correspondiente (preescolar, primaria y secundaria); además, los materiales didácticos no son adecuados para atender a la diversidad de alumnos; y con frecuencia, los espacios y equipamiento de las escuelas son deficientes.

La educación que se imparte en esta modalidad representa complejidades tanto en el currículo como en política pública. A nivel curricular, no se incorpora en el Plan de Estudios de Educación Básica (3-5 años, preescolar; 6-12 años primaria; 12-15 años, secundaria) un tratamiento específico acorde a las características y necesidades de este tipo de escuelas, pues solo se atiende a la modalidad de educación general y de educación bilingüe. En ese sentido, los libros de distribución gratuita en Educación Básica son de dos tipos, un libro por cada grado, o bien, libros específicos en lengua materna indígena para algunas asignaturas, pero también por grado. No se cuenta con libros para escuelas unitarias, o para grupos multigrado, pues tampoco se cuenta con planes de estudio que agrupen los contenidos a aprender si se tienen varios grados en un mismo grupo. Además, la formación inicial de los docentes se enfoca en los grupos con características de educación general o bilingüe, no así en grupos multigrado. De este modo, se advierte a nivel curricular que se invisibiliza en la práctica a la modalidad multigrado. En tanto política pública, al no haber un diseño preciso de un Modelo Educativo Multigrado, se hace evidente el desapego en la implementación de las estrategias, principalmente al interior del aula.

Siguiendo con los fenómenos encontrados en esta modalidad, Santos (2011) identifica a la escuela multigrado no como un problema, sino como una ventaja pedagógica. En su artículo reporta algunas experiencias vividas en escuelas multigrado según la mirada de los docentes que en ellas trabajan; se considera entonces que un alumno de escuela multigrado tiene la oportunidad de convivir de manera cercana con alumnos mayores o menores que él, compartiendo aprendizajes y desafíos cognitivos. Los alumnos mayores tienen la posibilidad de trabajar con otros alumnos y fortalecer sus conocimientos y habilidades, gracias a las metodologías de trabajo diseñadas para aulas multigrado, en México y otras partes del mundo, por desgracia, estas estrategias no se han puesto en práctica de manera generalizada en el país.

ANTECEDENTES

Algunas investigaciones reportan dificultades a las que se enfrentan los maestros para enseñar en las condiciones mencionadas de la escuela multigrado, particularmente la necesidad de reorganizar el currículo de la primaria para abordar temas comunes en los distintos grados, así como implementar formas de organización que reduzcan los tiempos de espera de atención a los alumnos (Block, Ramírez y Reséndiz, 2015).

Es de destacar que los procesos didácticos que ocurren en los grupos multigrado poseen características particulares, pueden ser considerados propios y específicos de la modalidad (Santos, 2011). Esto apunta a centrar la atención en la forma en que, al interior de las aulas, se llevan a cabo los procesos de enseñanza y aprendizaje de las matemáticas, los rasgos propios de los determinan y las formas situadas de producción de conocimiento matemático.

Leyva y Santamaría (2019), hacen un estudio en varias escuelas primarias multigrado, buscando caracterizar los tipos de prácticas que los docentes realizan a diario. En dicho estudio describen algunas de las herramientas didácticas que los docentes utilizan para abarcar mayor número de contenidos, atravesando los grados que constituyen sus grupos y las diferentes materias que imparten. Una de estas herramientas es la diversificación de actividades, es decir, utilizan un mismo tema y lo gradúan de acuerdo al nivel o grado que planeen trabajar. Por ejemplo, en matemáticas, algunos maestros optan por jugar con los rangos numéricos o con la complejidad de las operaciones aritméticas planeadas. De esta forma, el objetivo de la actividad es el mismo, pero existe la posibilidad de ajustar los grados de complejidad de acuerdo a las exigencia de cada grado o nivel que exista en el grupo.

Las actividades diferenciadas, sustentadas en la organización propia del grupo multigrado, supone una nueva propuesta curricular por parte de los docentes que busca atender las distintas necesidades y demandas educativas de los alumnos, fuera de la organización unigrado de los contenidos curriculares (contenidos propios de 2º grado, 3º grado, etc.).
En esta ocasión, abordamos un ejemplo de esta herramienta didáctica, que está relacionada con la resignificación del currículo y la atención a la diversidad -desde lo didáctico-, aspecto medular en la modalidad multigrado (Santos, 2011)

METODOLOGÍA

A través de un enfoque cualitativo y dentro del paradigma interpretativo, se recurrirá al estudio de caso como instrumento metodológico, para analizar la particularidad y complejidad de un caso singular que, para este estudio, consiste en una primaria multigrado unitaria.
La escuela se localiza en el municipio de Pinal de Amoles, Querétaro, México. La comunidad tiene alto índice de marginación y los problemas sociales emergentes son altos índices de alcoholismo, drogadicción, vandalismo y migración nacional y a Estados Unidos.
La escuela es rural unitaria, donde una docente atiende a los 6 grados simultáneamente. El grupo se compone 20 niños: 2 en 3º de preescolar, 5 en 2º grado, 6 en 3º, 3 en 4º, 4 en 5º, 2 en 6º. En cuanto a infraestructura, se cuenta solo con dos aulas, una que se utiliza como biblioteca y sala de medios y un otra, como salón para las clases. La docente a cargo de la escuela, atiende a los alumnos, realiza actividades de dirección, organiza la limpieza de las instalaciones y están en contacto con los padres de familia. Su formación profesional es de maestra normalista y lleva dos años de experiencia trabajando en esta escuela.
Con este contexto, previo consentimiento informado de los padres de los participantes, se tuvo acceso a al aula multigrado, para observar y llevar registro en audio y video de 13 sesiones de clase. Adicionalmente, se realizaron entrevistas a la maestra para conocer sus planeaciones, adecuaciones curriculares, materiales utilizados, así como elementos emergentes que surjan del trabajo etnográfico. Se realizaron transcripciones y análisis de las clases grabadas y los resultados del estudio serán devueltos a la maestra y la comunidad.
La metodología de esta investigación está basada en la etnografía, para sustentar la complejidad de las prácticas docentes. Rockwell y Mercado (2003) argumentaron que en las prácticas docentes intervienen condicionantes más allá del conocimiento pedagógico o del contenido matemático que se posea; están inmersas también las variables institucionales, sociales y personales.

LA CLASE DE MATEMÁTICAS

A través de un primer análisis de las transcripciones, se han identificado diferentes momentos de la clase de matemáticas: la maestra

empieza el día con alguna actividad de lectura y los niños tienen momentos libres para leer el texto que ellos elijan. Más tarde, cuando el momento de matemáticas llega la maestra comienza presentando el tema, proporciona instrucciones generales y organiza al grupo. Este acomodo del grupo puede ser por equipos mixtos -cada equipo tiene integrantes de todos los grados-, por grados, por ciclos (1º y 2º, 3º y 4º, 5º y 6º) o bien, la docente trabaja con todo el grupo al mismo tiempo. Una vez que se ha establecido el acomodo del grupo, la maestra repite la instrucción -puede ser instrucciones para todo el grupo o bien, instrucciones escalonadas, dirigidas a un grado(s) en específico-, da ejemplos para comprobar que las instrucciones se hayan comprendido y da tiempo para resolver posibles dudas. Una vez que la instrucción ha sido comprendida por todos los alumnos, la maestra da paso al trabajo independiente, este es el momento en el que los niños discuten, se organizan y comienzan a trabajar; mientras tanto, la maestra monitorea el trabajo de cada equipo y hace intervenciones personalizadas, se dedica también a contestar las preguntas que hay, además de intervenir si detecta alguna duda o bien, si su objetivo es profundizar o problematizar el objeto matemático que esté trabajando. Este monitoreo también tiene como objetivo revisar el trabajo de los alumnos, lo cual provoca que los alumnos busquen la validación constante de la maestra: se levantan de sus lugares y se acercan a ella para preguntar si van bien o si sus respuestas son las correctas. La maestra toma ventaja de estos momentos de validación y en ocasiones, se observa que institucionaliza los conocimientos y conceptos propios de ese grado o ciclo. Durante la revisión hace preguntas que buscan detonar reflexiones en los alumnos, cuestiona sus procedimientos, da ejemplos y/o corrige los posibles errores -sean conceptuales o de procedimiento-. El proceso de revisión final de las tareas es el momento que más tiempo lleva de la clase, la maestra reporta que la revisión es de lo más difícil porque implica revisar diferentes temas en los libros de texto propios del grado.

Se han identificado muy pocos momentos de exposición de contenido por parte de la maestra, las explicaciones dirigidas hacia todos los alumnos normalmente suceden en la primera actividad o actividad inicial. Si la maestra decide profundizar un tema específico, pide a los alumnos del grado que se junten de tal forma que logre captar su atención.

La organización del grupo, como se mencionó anteriormente, se presenta de manera individual o en equipos, la maestra hace uso de herramientas didácticas como la diversificación de actividades para abordar un mismo tema con múltiples grados de dificultad. Para ilustrar esto a continuación se describe un fragmento de una de clase observada.

Tareas matemáticas y diversificación de actividades

En uno de los episodios observados se abordaron temas como el valor posicional. La organización de la clase en esta ocasión fue en función del grado escolar de los alumnos, con el fin de graduar las actividades y otorgarle un nivel de dificultad correspondiente a cada grado. Esta actividad fue abordada de forma lúdica con un juego llamado "*canicas saltarinas".* El objetivo del juego fue construir cantidades por medio de lanzamiento de canicas a un tablero. Cada niño era responsable de lanzar cierto número de canicas en diez segundos, las canicas que caían dentro del tablero correspondían a la cantidad a representar, cada niño a su vez representaba un valor en la tabla de posiciones numéricas es decir, el primer niño de la fila representaba las unidades el segundo las decenas el tercero la centena y así sucesivamente. Como primera actividad, la maestra pidió que cada alumno trazara el cuadro de valores posicionales, se aseguró que todos los alumnos hubieran entendido cómo trazar este cuadro mostrando el cuadro ejemplo del salón. Mientras los niños copiaban el cuadro que tenían enfrente la maestra aprovechó este momento para atender individualmente a los equipos, pasó grado por grado verificando la organización del cuadro y la limpieza en el cuaderno, esto también le dio tiempo de revisar si la consigna fue clara y modelar dos o tres ejemplos para los alumnos.

Tras haber lanzado las canicas y contar cuántas de estas cayeron dentro del tablero los niños debían registrar (con dibujos o escribiendo cifras, de acuerdo a su grado) las cantidades obtenidas. Por ejemplo, si el primer niño, a quien le corresponden las unidades, lograba anotar cinco canicas dentro del tablero todos los niños

registraban cinco unidades en las tablas de valor posicional que previamente habían trazado.

En el caso de preescolar los niños debían lanzar solamente 10 canicas dentro del tablero y contar cuántas canicas habían logrado anotar, después cada niño debía registrar en su cuaderno -dibujando puntos- la cantidad de canicas obtenidas. En otras palabras si los niños lograban anotar siete canicas, se hacía el conteo, se decía el resultado obtenido y se dibujaban siete puntos en el cuaderno.

Por otro lado los niños de segundo tenían la instrucción de anotar unidades decenas y centenas, los de tercero debían llegar hasta unidades de millar, los de cuarto hasta decenas de millar, quinto y sexto hasta millones.

A modo de cierre, la maestra reagrupó a los equipos y les pidió que utilizan el registro de la tabla, vieran qué números se habían formado y lo escribieran con letra.

Esta actividad propició el trabajo individual y al mismo tiempo el trabajo en equipo, las interacciones que se observaron fueron entre la maestra y los alumnos y entre los alumnos.

El ejemplo anteriormente descrito hace evidentes las condiciones que la maestra crea para diversificar un tema en específico y adaptarlo al grado de dificultad de cada grupo, y a los contenidos que cada grado escolar requieren. Este ejemplo también hace evidente la necesidad de la maestra de considerar los contenidos de los 6 grados escolares así como la complejidad que cada grado escolar implica. Las variaciones que esta actividad presentó están relacionadas primero con lo que la maestra considera debe ser el nivel de cada grado, es por ello que la maestra manipuló los rangos numéricos a los que los alumnos debían llegar. Se observó también que la maestra tiene experiencia para optimizar el trabajo a partir de su trayectoria como docente, por ejemplo usar la copia como herramienta para mantener al grupo ocupado mientras ella monitoreaba de manera individual a cada alumno, o dar indicaciones de forma escalonada, es decir por grado escolar.

CONSIDERACIONES FINALES

Se ha destacado la problemática del aprendizaje de las matemáticas en escenarios socioculturales diversos en cuanto a formas de organización escolar, como es la escuela multigrado. Una escuela multigrado no tiene las mismas características que los demás modelos educativos, pero se insiste en implementar una uniformidad que no tiene, lo homogéneo para todos los centros escolares.

La modalidad demanda atención simultánea del profesor a los estudiantes de diversos grados, lo cual requiere que el profesor sea capaz de organizar y planificar las tareas de tal manera que pueda entretejer los contenidos de las asignaturas y grados, evitando planear y dividir los temas por grados. Esto se evidenció a través de los tres descriptores de la práctica docente que se mencionaron en la sección anterior: ayuda de la maestra a los alumnos, tareas matemáticas y diversificación de actividades y uso del error. Los resultados dan cuenta de la forma en que la maestra organiza su enseñanza, para promover que todos los alumnos construyan un conocimiento matemático en cada sesión. Si bien se continúa con el análisis de la evidencia empírica, se considera que en las actividades que realiza la maestra, incorpora las características de sus alumnos a través de las actividades diversificadas.

Finalmente, consideramos que las condiciones para la enseñanza en esta modalidad son excepcionales y el docente es responsable de crear los escenarios adecuados para el desarrollo de conocimientos. Aunado a esto, consideramos significativo analizar las estrategias y recursos que los docentes día con día construyen en estos espacios, así como las dificultades que enfrentan, con la expectativa de contribuir a la búsqueda de alternativas para superarlas.

Referencias bibliográficas:

Block, D., Ramírez, M. y Reséndiz, L. (2015). Las ayudas personalizadas como recurso de enseñanza de las matemáticas en un aula multigrado. *Revista Mexicana de Investigación Educativa*, *20* (66), 7111-735.

Bustos, A. (2007). Enseñar en la escuela rural aprendiendo a hacerlo. Evolución de la identidad profesional en las aulas multigrado. Profesorado: Revista de Currículum y Formación del Profesorado, 11(3), pp. 6-26. Recuperado de: http:// www.ugr.es/~recfpro/rev113COL5.pdf

Fierro, C. (1991). Ser maestro rural ¿una labor imposible? México: SEP.

INEE. Instituto Nacional para la Evaluación de la Educación (2018). Panorama Educativo de México. Indicadores del Sistema Educativo Nacional 2017. Educación básica y media superior. México: autor.

INEE. Instituto Nacional para la Evaluación de la Educación (2017). Panorama Educativo de México. Indicadores del Sistema Educativo Nacional 2016. Educación básica y media superior. México: autor. Recuperado el 1 de julio de 2019, de: http://publicaciones.inee.edu.mx/buscadorPub/P1/B/115/P1B115.pdf

Juárez, D. (2017). Percepciones de docentes rurales multigrado en México y El Salvador. *Revista Sinéctica, 49*, 1-16.

Juárez, D. Vargas, P y Vera, J. (2015). Condiciones de trabajo y prácticas didácticas de profesores que atienden escuelas primarias rurales en México. *Revista Senderos Pedagógicos, 6, 15-27.*

Rockwell, E. y Garay, C. (2014). Las escuelas unitarias en México en perspectiva histórica: un reto vigente. *Revista Mexicana de Historia de la Educación*, *2* (3), 1-24.

Rockwell, E. y Mercado, R. (2003). La escuela, lugar del trabajo docente. Descripciones y debates. México: DIE-CINVESTAV-IPN.

Santos, L. (2011). Aulas multigrado y circulación de saberes: especificidades didácticas de la escuela rural. Profesorado. Revista de Currículum y Formación del Profesorado, 15(2), pp. 71-91. Recuperado el 1 de julio de 2019, de: http:// www.ugr.es/~recfpro/rev152ART5.pdf



VII

Sociales y Económicas





Índice

Acción Forense Humanitaria.
Karen Campos Rey, Ruíz Díaz María Marcela, Pichardo Hernández Juan Alberto

Los atributos de género como factores impulsores en la migración masculina
Katya Cid Suarez, José Alberto Posadas Juárez

Retorno de la educación superior: Universidades públicas, privadas y UAQ.
Clara Colin Piña, Enrique Leonardo Kato Vidal

Factores Criminógenos influyentes en el fenómeno de la migración
La causa de la causa, es la causa de lo causado. Un análisis criminológico
Ismael López Gómez, José Alberto Posadas Juárez

Neblinómetro para promover la sustentabilidad y la seguridad alimentaria
Ana Victoria Pérez Zamorano, Juan Alberto Jiménez Ogarrio, Dalia Yunnuen Sandoval Montoya

Acción Forense Humanitaria.

Campos Reyes Karen
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Derecho
Cerro de las Campanas, Santiago de Querétaro
C.P. 76010, Querétaro.
Correo electrónico de contacto:
camposrka@gmail.com

Ruíz Díaz María Marcela
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Derecho
Cerro de las Campanas, Santiago de Querétaro
C.P. 76010, Querétaro.
Correo electrónico de contacto:
mar031097@gmail.com

Pichardo Hernández Juan Alberto
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Derecho
Cerro de las Campanas, Santiago de Querétaro
C.P. 76010, Querétaro.
juan.pichardo@uaq.mx

Resumen

En el presente se hablará sobre el fenómeno de fosas clandestinas, se abordará la temática de la revisión de protocolos nacionales e internacionales desde un punto de vista ético jurídico.

Se hablará además de cómo no sólo se investigó sobre las mejores prácticas en este campo de las ciencias forenses en protocolos, sino que además se consultaron diversos expertos en la materia que permitieron ampliar los conocimientos que ya se tenían sobre intervenciones en campo de este tipo.

Gracias a esto se abordará una perspectiva que permita, con base en la experiencia de los entrevistados, optimizar prácticas que al día de hoy ya se realizan, y poder mejorar algunos aspectos de interés.

La investigación, si bien está centrada para realizarse con protocolos nacionales e internacionales, está contemplada para realizarse en el estado de Querétaro, que es el lugar de interés para tal fin.

Summary

At present, the phenomenon of clandestine graves will be discussed, the theme of the review of national and international protocols from an ethical legal point of view will be addressed.

There will also be talk of how not only research on the best practices in this field of forensic sciences in protocols was investigated, but also several experts in the field were consulted that allowed to expand the knowledge that was already available on field interventions of this type.

Thanks to this, a perspective will be addressed that allows, based on the experience of the interviewees, to optimize practices that are already carried out today, and to be able to improve some aspects of interest.

The investigation, although it is focused to be carried out with national and international protocols, is contemplated to be carried out in the state of Querétaro, which is the place of interest for this purpose.

Palabras clave

Dignidad, especialización, expertos forenses, fosas clandestinas, protocolos de actuación.

Keywords

Dignity, specialization, forensic experts, clandestine graves, protocols for action.

Introducción

Actualmente en México el fenómeno de fosas clandestinas que han aparecido va en aumento, debido a esto surge una necesidad cada vez mayor por parte de los órganos encargados de la procuración de justicia de realizar un trabajo homologado, realizado por expertos, con validez oficial que permita hacerle frente de forma eficiente y eficaz a esta problemática social.

Existen hoy en día muchos protocolos a nivel internacional que orientan a los expertos forenses sobre cómo gestionar una intervención en fosas clandestinas, desde su localización y durante todo el proceso jurídico que esto conlleva, muchos de estos protocolos no están homologados entre sí, por lo que resulta difícil monitorear los resultados de las investigaciones en caso de tratarse de diferentes estados o incluso, países.

En este aspecto no solo es importante una correcta intervención, sino que además se tiene que hacer en todo momento con miras en el enfoque de ciencias forenses en conjunto con derechos humanos, para poder proporcionarle a la víctima o víctimas un trato justo, humanitario.

Objetivos

Identificar, a partir de la revisión de los protocolos y lineamientos vigentes tanto a nivel internacional como local, cuáles son las mejores prácticas científicas para la localización, análisis y gestión de restos humanos no identificados en estado de osamenta, los cuales han sido enterrados en fosas clandestinas, que permita proponer una intervención fundamentada en un marco ético jurídico de respeto a la dignidad de los muertos.

Realizar a través de la revisión de dichos protocolos una serie de observaciones que permitan distinguir las buenas practicas en el procesamiento de una fosa clandestina, así como identificar plenamente cuales no lo son. Esto permitirá que el especialista forense pueda desempeñarse de forma coordinada, homologada, con perspectiva de derechos humanos y dignidad para los muertos, en todo momento, desde un marco ético y profesional.

Colaborar con los expertos en la materia, peritos, técnicos forenses, así como capacitadores, en localizar e indagar acerca de áreas de interés o de oportunidad en los protocolos ya existentes, así como nuevas propuestas que puedan surgir a raíz de su experiencia, todo esto para poder lograr un trabajo de calidad y sobre todo un trabajo que pueda servir como base homologada en los estados de la república.

Metodología

La presente investigación fue abordada desde un enfoque mixto, debido a que se utilizaron estadísticas de fuentes oficiales, datos duros de ONG’s que permitan medir el fenómeno de las fosas clandestinas, para poder identificar causas y efectos de estas, así como los protocolos y formas de intervención aplicables al día de hoy en diversas zonas, tanto de forma local como internacional. Se describirán cualidades del fenómeno arrojando recomendaciones específicas para su aplicación en el estado de Querétaro.

Asimismo, se realizará un análisis de las múltiples realidades objetivas acerca del tema, con un alcance de investigación de tipo correlacional debido a que se identificarán las variables que componen el fenómeno evaluando la relación que exista entre ellas.

Para ello se realizó la revisión de protocolos relacionados al fenómeno de fosas clandestinas y su intervención, desde el punto de vista de diferentes enfoques.

La importancia de la especialización para la localización y procesamiento de fosas clandestinas

En todo lugar de investigación, resulta de suma importancia establecer una planificación, organización y coordinación de los trabajos que se llevarán a cabo, así como el personal que estará relacionado en cada una de las tareas.

Ello permitirá la recopilación de información de manera holística, permitiendo una mejor colaboración para la procuración de justicia.

Sin embargo, cabe resaltar que actualmente, específicamente en la investigación de fosas clandestinas, no se trabaja bajo un plan coordinado entre las diferentes ciencias forenses, aplicando de manera individual los métodos y técnicas propios de las ciencias que se trate. Por lo anterior existe deficiencia en la calidad de la investigación, así como repercusiones en tiempo de respuesta. Tras una revisión exhaustiva de protocolos nacionales e internacionales que han sido revisados en torno al tema de fosas clandestinas y la forma en la que se realiza la investigación de estas, se puede ver claramente que el fenómeno está siendo abordado por alguna disciplina en particular, la cual lleva a cabo acciones que no corresponden a su campo de estudio.

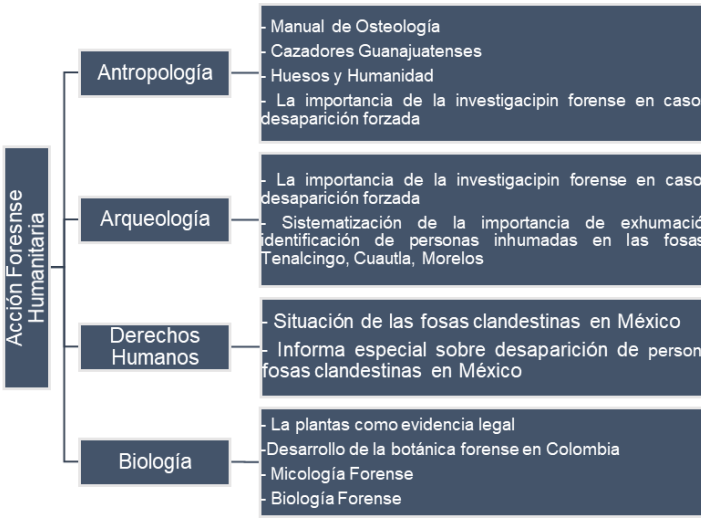


Figura 1: Enfoques desde los que se ha estudiado el fenómeno de fosas clandestinas.

"Las áreas que auxilian a la procuración e impartición de justicia con su aplicación en el ámbito forense, cuentan con métodos y técnicas especializadas y ampliamente conocidas por quien las aplica. Desafortunadamente cuando dos o más investigadores van a colaborar en la investigación de un caso, se considera necesario conocer el trabajo del otro u otros investigadores…".

En relación con lo anterior, no sólo resulta necesario conocer su forma de trabajo, sino establecer un plan coordinado, en el cual las tareas puedan llevarse a cabo de manera colaborativa. Es muy común que un investigador de determinada disciplina no conozca el alcance de los demás participantes con quienes esté en la investigación.

Tal desconocimiento es lo que impide que se ejecute una investigación efectiva e interdisciplinaria, la cual se refiere a la integración de diferentes áreas de estudio, aportando desde sus métodos y técnicas, con un mismo propósito o finalidad.

Dicha colaboración, permitirá además generar buenas prácticas establecidas de tal manera que se aprovechen los conocimientos de todas las disciplinas y priorizando el esclarecimiento del hecho y la pronta procuración de justicia, trabajando bajo un protocolo estandarizado acerca del correcto procesamiento de fosas clandestinas, en el cual se expongan las tareas que corresponden a cada disciplina que participa y la correcta manera de llevarse a cabo, así como priorizar las acciones que deben ser primarias para no afectar la investigación y compartiendo información entre los expertos forenses para llevar a cabo un mejor trabajo de manera coordinada.

La homologación es otro punto importante, puesto que no se puede tener una forma de trabajo distinta en cada lugar. Existen ciertas acciones que son necesarias e indispensables en toda investigación, las cuales no cambiarán aun cuando el contexto sea distinto.

No se debe dejar de lado el digno tratamiento forense, el cual debe procurarse en todo momento, independientemente de si el personal está especializado o no, ya que en todos los casos se debe tratar de manera digna a las víctimas localizadas. Es aquí en donde permea la importancia de un correcto procesamiento de las fosas clandestinas y una debida colaboración entre los diferentes expertos forenses, puesto que es posible que no todos conozcan la forma en la que se deben tratar los restos humanos de manera digna, desde su localización hasta su exhumación y traslado al lugar correspondiente.

A continuación se presentan cuatro pasos que la INTERPOL considera indispensables en toda investigación de índole forense.

Cuatro pasos para la identificación

Puede tomar mucho tiempo identificar con precisión a las víctimas, especialmente si una gran cantidad de personas fueron asesinadas. Las cuatro etapas son:

1 - Examen de la escena: según el incidente y el lugar donde ocurrió, puede tomar días o incluso semanas para que todas las víctimas y sus propiedades sean recuperadas.

2 - Datos post mortem o PM: los restos humanos son examinados por especialistas para detectar evidencia forense para ayudar a identificar a la víctima. Esto puede incluir:

Huellas digitales: si están disponibles, son altamente confiables, pero como las huellas digitales de la mayoría de las personas no están registradas, pueden tener un valor limitado;

Odontología - o examen dental. Los dientes proporcionan una de las formas de identificación más confiables, ya que son altamente durables y la mayoría de las personas tienen registros dentales;;

Perfiles de ADN: se pueden hacer comparaciones directas de una víctima y un perfil tomado de su hogar, por ejemplo, con un cepillo de pelo. Las comparaciones indirectas también se pueden hacer usando el ADN de los padres;

Indicaciones físicas: tatuajes, cicatrices o implantes quirúrgicos que pueden ser exclusivos de la víctima

La identificación visual no se considera precisa.

3 - Datos ante mortem o AM: los registros médicos y dentales, las huellas digitales y el ADN se recuperan de los hogares de las víctimas o son proporcionados por miembros de la familia.

4 - Reconciliación: una vez que se recopilan los datos de AM y PM, un equipo de especialistas compara y concilia los dos conjuntos de información para identificar a las víctimas.

En muchas ocasiones no hay expertos forenses disponibles o simplemente la cantidad de personal no resulta suficiente para atender la demanda social, es por ello que a menudo es necesaria la participación de personal no especializado, quienes por lo general trabajan para alguna organización humanitaria de índole no gubernamental o son familiares de personas desaparecidas.

“La desesperación, frustración e incertidumbre de los familiares respecto del paradero de sus seres queridos así como las condiciones actuales de impunidad y la falta de mecanismos de búsqueda efectivos para dar con el paradero de las personas desaparecidas tanto en vida como en muerte, han orillado a los familiares a hacer sus propias búsquedas de manera individual o colectiva, alentando en los últimos años la exhumación de restos humanos en fosas clandestinas”.

Las acciones que llevan a cabo para la localización de fosas clandestinas y posteriores hallazgos no se rigen bajo protocolos estandarizados, ni con los materiales idóneos para la intervención, puesto que muchas veces se desconoce o simplemente no se cuenta con ello. Tampoco cuidad la procuración de la dignidad humana de las víctimas encontradas dentro de las fosas clandestinas, no se les otorga un trato correcto,

tratándose en la mayoría de las ocasiones simplemente como un hallazgo o un indicio más, descuidando la parte humanitaria que merece y no otorgando un digno tratamiento forense.

Un ejemplo de estas organizaciones ya sea conformado por familiares de desaparecidos o por personas voluntarias es el grupo de Las Rastreadoras de Sinaloa:

Mirna Medina es una mujer activista, quien fue víctima de la desaparición de su hijo en el 2014. Roberto Corrales Medina desapareció el 14 de julio de 2014. Su madre pidió ayuda a las autoridades, pero no tuvo una respuesta satisfactoria, por lo que decidió empezar la búsqueda por su cuenta. Más mujeres en la misma situación se fueron uniendo al grupo, en la actualidad son 220 mujeres en el grupo de Las Rastreadoras de Sinaloa.

Es evidente que en muchas ocasiones la voluntad o interés de las personas es inmensa, más cuando han pasado por una situación en la que ha desaparecido algún familiar o alguien cercano. Sin embargo no se puede poner en riesgo la investigación de los casos, puesto que un mal procesamiento puede dificultar la óptima identificación y por ende no se podrían arrojar resultados cien por ciento certeros ni identificar qué o quiénes están involucrados.

Recomendaciones

Todo el personal (incluidos los expertos forenses) deberían recibir una formación específica, a cargo de profesionales, en relación con:

Las reacciones psicológicas que pueden presentar las víctimas de traumas;

El riesgo de traumas secundarios para las personas que trabajan con víctimas de traumas;

Los medios que puede utilizar el personal para protegerse contra traumas secundarios y el estrés laboral.

Procurar en todo momento la dignidad humana de las víctimas encontradas en las fosas clandestinas y el respeto de sus derechos humanos, otorgando un digno tratamiento forense.

Otra recomendación que resulta importante hacer es, impartir capacitación por parte de expertos forenses al personal o especializado que se encuentra dentro de las organizaciones humanitarias, con la finalidad de que conozcan el correcto procedimiento y no se produzcan alteraciones o perdida de información debido a malas prácticas.

Resulta muy común la alteración del lugar de investigación por personal no especializado, así como la manipulación de indicios, poniendo en riesgo la carga probatoria por un mal manejo y falta del correcto procesamiento.

Todo hallazgo debe ser notificado a la autoridad competente, asimismo, realizar una correcta documentación de las circunstancias en las que se encontró el lugar, cómo es que fue localizado y el personal que estuvo presente, así como las acciones que realizaron en el lugar.

Otra cuestión que resulta importante y que es de suma importancia que conozca todo personal especializado o no especializado es el tema de la seguridad. Al encontrar un lugar en el que presuntamente se encuentran restos humanos existen una gran cantidad de riesgos para quienes tiene contacto con los mismos. Es por esto que se debe conocer correctamente las normas de bioseguridad que son necesarias cumplir, tanto para proteger la integridad de la persona que está interviniendo, como para evitar la alteración o contaminación de los indicios.

En todos los casos en los cuales exista intervención de personal tanto especializado como no especializado, se debe siempre cuidar la parte de la dignidad humana tanto de las víctimas encontradas dentro de las fosas clandestinas como la de los familiares de estas. En todo momento debe estar latente el sentido humanitario y mantener la idea de que se está trabajando con personas y no objetos. Se deben

respetar los derechos humanos y siempre procurar generar un digno tratamiento forense, el cual se puede lograr a través de un correcto procesamiento y una debida investigación entre las diferentes áreas forenses, ya que ello permitirá otorgar la información necesaria para una pronta y correcta procuración de justicia, la cual también atiende a la parte humanitaria hacia las víctimas tanto primarias como secundarias, así como a la misma sociedad.

Trato digno

"Cadáveres, partes del cuerpo, tejidos y restos óseos siempre proviene de individuos particulares e incluso cuando estos individuos vivieron en el pasado distante, nunca pueden ser completamente deshumanizados. Todavía nos recuerdan que fueron una vez uno de nosotros".

A raíz del fenómeno creciente de hallazgos de fosas clandestinas a lo largo del territorio mexicano surge la necesidad por parte de todas aquellas familias que cuentan con una persona en calidad de desaparecida de encontrar respuestas sobre lo que le ha ocurrido a su familiar, los encargados de esclarecer esto, en primera instancia, son los especialistas en el área forense.

La identificación de los cadáveres, el trato digno y la preservación del derecho de las familias a localizar a sus seres queridos suponen un derecho fundamental de las víctimas que se encuentra vinculado con los principios de dignidad humana y el derecho a la verdad.

Debido a esto un factor clave inherente a la labor forense, además de la especialización y las buenas prácticas al momento de tratar con el fenómeno de fosas clandestinas, es el del trato digno hacia los restos o cuerpos sin vida que han sido encontrados, así como para con las víctimas directas e indirectas.

La dignidad humana es:

"un valor, principio y derecho fundamental base y condición de todos los demás. Implica la comprensión de la persona como titular y sujeto de derechos y a no ser objeto de violencia o arbitrariedades por parte del Estado o de los particulares.

En virtud de la dignidad humana de la víctima, todas las autoridades del Estado están obligadas en todo momento a respetar su autonomía, a considerarla y tratarla como fin de su actuación. Igualmente, todas las autoridades del Estado están obligadas a garantizar que no se vea disminuido el mínimo existencial al que la víctima tiene derecho, ni sea afectado el núcleo esencial de sus derechos"

En relación con el trato digno, se considera como el derecho a contar con condiciones materiales de trato acordes con las expectativas de un mínimo de bienestar generalmente aceptadas por los seres humanos. Este derecho implica para todos los servidores públicos abstenerse de practicar tratos humillantes, vergonzosos o denigrantes en el desempeño de sus funciones. Integra el respeto mismo a la persona como tal, como ser humano. Esto implica que los restos de las personas fallecidas sean tratados en todo momento de forma digna y respetuosa, desde su localización y durante todos los procedimientos previstos por la ley y los protocolos correspondientes, de conformidad con los estándares nacionales e internacionales, y en el caso de las víctimas directas e indirectas a recibir en todo momento un trato basado en el respeto, la verdad, el acceso a la información y a la no re-victimización del suceso ocurrido.

El manejo de los cuerpos sin vida o restos humanos implica estar preparados en un amplio espectro, de infraestructura, de capital humano, de la especialización y reglas claras respecto de las instituciones y entidades responsables de proveer y atender lo necesario con relación a esto.

La comunidad de Estados, las organizaciones gubernamentales y no gubernamentales locales, nacionales e internacionales deberán sensibilizar, por ende, a todo el personal involucrado con los casos de fosas clandestinas acerca de sus obligaciones en relación con el manejo de cuerpos sin vida o restos

humanos, así como la gestión de la información que será proporcionada a los familiares de personas desaparecidas que se sumen a la búsqueda y localización de fosas clandestinas en conformidad con los siguientes principios propuestos por el Comité Internacional de la Cruz Roja (ICRC por sus siglas en inglés):

Toda investigación o exhumación debe realizarse en constante interacción con la comunidad y los familiares o sus representantes.

El trato poco decoroso o desconsiderado de los restos puede agravar el trauma de los familiares.

Deben infundirse a los familiares esperanzas realistas de los resultados, teniendo en cuenta el estado de los restos, el número de cadáveres, etc.

Debe ofrecerse información y apoyo psicológico a los familiares.

Debe explicarse a los familiares el curso del proceso de identificación mientras se esté llevando a cabo.

Debe indicarse a los familiares que la identificación se basará en técnicas sencillas o tradicionales primero y que sólo se utilizará tecnología más sofisticada si fuera necesario y estuviera disponible en el contexto.

En cuanto se planifique una exhumación, es necesario ponerse en contacto con los familiares para obtener datos ante mortem.

La noción de "familia" puede variar de un contexto a otro. Es necesario disponer de unas directrices claras sobre el modo de tratar con familias divididas.

En ningún caso de deberá exhibir restos humanos o información privada sobre estos ante medios de comunicación ni se facilitarán las condiciones para su exhibición por dichos medios, incluyendo los medios sociales.

Se procederá con la debida diligencia y celeridad para facilitar la pronta identificación y entrega a la familia (en caso de identificaciones positivas).

Se evitará en todo momento obstruir o dificultar el proceso de identificación de restos humanos, conservando lo más posible el estado original en el que se encontraron y optimizando los procesos con la finalidad de evitar el deterioro de estos. La mutilación o alteración de los restos constituyen una profanación de este.

Un ejemplo en una falta sobre la dignidad de los restos humanos fue el acontecido en Jalisco el 16 de septiembre de 2018 cuando fue reportado en los medios de comunicación un tráiler con 157 cuerpos sin vida que estaban siendo transportados. Ante esto la defensoría pública de derechos humanos del estado de Jalisco inició de oficio la queja 5243/2018/IV a favor de los familiares como víctimas indirectas, así como de la sociedad y de los derechos post mortem y el trato digno de las personas fallecidas no identificadas. Ante este suceso la defensoría de ese estado emitió al Instituto Jalisciense de Ciencias Forenses recomendaciones para trabajar bajo las siguientes directrices:

1. Dignificar el trato de los cuerpos de personas fallecidas no identificadas o no reclamadas hasta el momento por sus familiares y seres queridos.

2. Identificar y, en su caso, determinar violaciones de derechos humanos por el traslado de los cuerpos fuera de las instalaciones del IJCF.

3. Investigar de forma oficiosa si en torno a cada caso de las personas fallecidas se realizaron las acciones procedentes para garantizar los derechos de las víctimas directas e indirectas.

4. Investigar y documentar las posibles vulneraciones de derechos humanos en cada una de las carpetas de investigación, iniciadas con motivo del hallazgo de personas fallecidas no reclamadas, así como a las autoridades involucradas.

5. Analizar las probables omisiones, irregularidades o dilaciones en los procedimientos seguidos para la identificación de las personas fallecidas y la búsqueda

de indicios, datos e información, para la localización de familiares

6. Verificar el cumplimiento de los lineamientos del Protocolo para el Tratamiento e Identificación Forense.

Con las cuales se pretende que se establezca una guía sobre cómo intervenir en los casos de fosas clandestinas y de tratamiento de restos humanos procurando garantizar en todo momento el respeto y la dignidad para las víctimas directas e indirectas.

Recomendaciones:

Establecimiento de un cementerio forense, conforme a los protocolos y lineamientos locales e internacionales para inhumaciones controladas e individualizadas de los restos humanos aún no identificados a los cuales ya se les hicieron los estudios genéticos correspondientes.

Priorizar un registro o banco nacional de datos que permitan la identificación forense, en los cuales se tenga la información de los restos encontrados que aún no han sido identificados, siguiendo las recomendaciones expuestas en el Protocolo para el tratamiento e identificación forense, el cual contempla la inclusión de los 7 dictámenes básicos, en materia de antropología forense, video, fotografía forense, medicina, dactiloscopia, genética y odontología forense.

Respetar en todo momento la dignidad de los restos, garantizando en todo momento que el depósito sea digno y óptimo en condiciones, siendo extremadamente cuidadosos en la individualización de cada uno de ellos.

Contar con el personal profesional, técnico y científico especializado necesario para desarrollar y aplicar un área de búsqueda e identificación de personas, cadáveres y restos humanos de manera oportuna, completa, ágil y certera.

Elaborar un protocolo especializado para la gestión, el manejo y la identificación de cadáveres y restos humanos, cuyo hallazgo se vincule con los reportes de personas desaparecidas, extraviadas o ausentes, buscando cotejar principalmente exámenes de ADN.

Referencias

PROCURADURÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA (2015) Protocolo para el Tratamiento e Identificación Forense. MÉXICO.

CONGRESO GENERAL DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (2017) Ley General en materia de desaparición forzada de personas, desaparición cometida por particulares y del sistema nacional de búsqueda de personas. MÉXICO.

Comité Internacional de la Cruz Roja. (Noviembre de 2004). Prácticas operacionales idóneas en relación con el tratamiento de los restos. Recuperado el 07 de Agosto de 2019, de https://www.icrc.org/es/doc/assets/files/other/icrc-003-0858.pdf

Comisión Nacional de Derechos Humanos (2017) Informe especial de la Comisión Nacional de los Derechos Humanos sobre desaparición de personas y fosas clandestinas en México, México: CNDH.

Gobierno Federal (2017) Ley General en materia de desaparición forzada de personas, desaparición cometida por particulares y del sistema nacional de búsqueda de personas, México.

A. Quinatana (2003) Métodos de recuperación, tratamiento y preparación de los restos humanos, España.

S. Nuñez (1995) La exhumación y sus aportes ministeriales y judiciales. Un caso de radical cambio judicial por exhumación, Costa Rica: Scielo.

Organización de las Naciones Unidas (2006) La exhumación y sus aportes ministeriales y judiciales. Un caso de radical cambio judicial por exhumación.

Autor: Katya Cid Suarez – katycs.97@gmail.com

Asesor: Dr. José Alberto Posadas Juárez – anthroposxxi@gmail.com

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Derecho
Licenciatura en Criminología

LOS ATRIBUTOS DE GÉNERO COMO FACTORES IMPULSORES EN LA MIGRACIÓN MASCULINA

Resumen:

Con el propósito de contribuir información, sobre la situación migrante masculina de Centroamérica y México hacia los Estados Unidos de América, en este documento se muestran testimonios captados por medio de entrevistas a hombres migrantes. Estos brindan un panorama con una perspectiva de género acerca de la migración realizada por hombres. Se parte desde la hipótesis donde los atributos de género son factores impulsores y decisivos a la hora que los hombres migrantes deciden emprender su difícil viaje hacia los Estados Unidos de América con el fin de ser proveedores y sustentadores de sus familias, las cuales son dejadas atrás en sus respectivos lugares de origen.

Las conclusiones muestran una delgada línea entre los atributos de género y el ámbito económico y monetario como mayores impulsores en la migración por parte de hombres.

Palabras clave:

Migración masculina, atributos de género, masculinidad, responsabilidad, estructura cultural.

Abstract:

With the purpose of contributing information, as well as informing about the male migrant situation of Central America and Mexico to the United States of America, in this document we verify testimonies captured through interviews to male migrant population. These interviews provide an overview with a gender perspective about male migration. It is based on the hypothesis where gender attributes are driving and decisive factors when migrant men decide to embark on their difficult journey to the United States of America in order to be providers and supporters of their families, which are left behind. in their places of origin.

The conclusions detailed a thin line between male gender attributes and the economic and monetary field as major drivers in migration by men.

Keywords:

Male migration, gender attributes, masculinity, responsibility, cultural structure.

Introducción:

De acuerdo al tema de la población migrante para la siguiente investigación, el objetivo de la misma fue determinar si los atributos de género, en un contexto social o familiar, son importantes en cuanto a la migración masculina hacia otro país, en especial, de Centroamérica y México hacia los Estados Unidos de América, y las formas en las que estos se demuestra.

Por lo tanto, la pregunta de investigación es la siguiente: ¿Los atributos de género, en contextos sociales y familiares, son factores impulsores dentro de la migración realizada por hombres?

Desarrollo:

Con el fin de dar respuesta a esta pregunta de investigación, se formuló la siguiente hipótesis: La figura del hombre, dentro de los esquemas tradicionales es percibido como el proveedor y por lo tanto debe cumplir estas expectativas satisfactoriamente. De manera habitual, este rol puede ser pasado de generación en generación y con una gran carga cultural, la cual debe ser satisfecha.

*Todos los nombres aquí mostrados serán pseudónimos por razones de privacidad y ética

En cuanto al rol estereotipado masculino, se partirá desde esta base teórica:

> Foucault […] explica cómo es que un sistema se incorpora dentro de un pensamiento o, un quehacer político y social que permea el imaginario colectivo a partir de una relación cultural específica que se impondrá a través de determinados rasgos en la cotidianidad de los sujetos, creando entonces una perspectiva dominante de las relaciones personales y sociales que deben tener las sociedades… (Foucault en Macías, 2014, p. 78).

Esto dado que el peso del rol masculino dentro de la sociedad es un factor importante el cual los hombres, en su mayoría aspiran a llenarlo usando a la migración como una herramienta útil para ello.

> La representación tradicional del migrante mexicano a Estados Unidos ha construido un hombre en búsqueda de empleo o de mejorar sus condiciones laborales, que emigra solo o acompañado de su cónyuge. Asimismo, la emigración de los varones se ha asociado al cumplimiento del papel de proveedor económico de la familia […], considerado el mandato fundamental de la masculinidad hegemónica…
>
> (Rosas y Connell en Torre y Rodríguez, 2018, p.141).

El tema y la hipótesis se consideran ya que, en su mayoría, la población migrante es compuesta por hombres. Aunque cada vez las mujeres entran más en estos ámbitos, el género masculino sigue siendo el mayoritario.

> En cuanto a los flujos recientes, la migración mexicana y la proveniente de los países del TNCA es aún más masculina. En el primer caso, el volumen de hombres supera en 18% al de mujeres y, en el caso de la migración de los países del TNCA, en 26%2. (American Community Survey en Canales y Rojas, 2018, p.16)

Teniendo este tema e hipótesis en mente, se generaron entrevistas a hombres migrantes de diferentes edades para de este modo, poder comprobar o refutar la hipótesis previamente establecida. Entre las distintas entrevistas se pudieron observar varios puntos de vista y razones que estos hombres daban para emigrar de sus diferentes lugares de origen.[1]

El primer hombre entrevistado Juan[*], de 36 años, originario del país de Guatemala, lleva 14 años en situación migrante, con familia en Estados Unidos y en Guatemala. Él refirió en la entrevista que la mayoría en su entorno social han decidido salir hacia los Estados Unidos. Entre sus motivos para salir de Guatemala, fueron la calidad de vida que se encuentra en Estados Unidos y la cuestión económica, donde el trabajo en Estados Unidos es mayormente remunerado a diferencia de Guatemala o México. En cuanto a su perspectiva sobre el rol masculino de la sociedad, se encuentran rasgos del estereotipo masculino. Mencionó que la liberación de la mujer no ha sido lo mejor y resulta en muchos problemas, ya que, desde su manera de pensar, él dice que las mujeres no han podido manejar de la mejor manera las posiciones que ahora tienen.

Tiene muy claro que hay aspectos para cada uno, y que el ahora estar en una época donde hay más libertad, ha traído problemas al no haber tanto control como lo había antes. Esto es, donde el orden patriarcal significaba que la familia se encontraba bien sujeta y controlada.

De igual manera, también habló sobre su caso, donde él sí se siente responsable por su familia y por aportar en ella, viéndolo como algo que a él como hombre le

[1] La metodología empleada en esta investigación fueron el trabajo de campo como lo son las entrevistas semiestructuradas realizadas en el estado de Querétaro a hombres migrantes provenientes de Centroamérica y México, así como la grabación de audio de las mismas y consulta de datos duros sobre información acerca de porcentajes de flujos en la migración contrastando la migración masculina y la migración femenina. Por lo tanto, se también se realizó trabajo de gabinete.

*Todos los nombres aquí mostrados serán pseudónimos por razones de privacidad y ética

corresponde. Tal como Vega comenta en la siguiente cita de su artículo, la masculinidad es importante para este sujeto, así como la responsabilidad de mantener a su familia.

> Por ejemplo, para adecuarse al modelo dominante local de la masculinidad, se espera que los varones adultos actúen como hombres, mostrándose públicamente con la capacidad de mantener a su familia, y en muchos de los casos para saber mandar y lograr la obediencia de la esposa. En este caso un migrante que no cumpla con el rol esperado de ser buen proveedor económico, se enfrenta, potencialmente, a ser censurado no solo por su familia sino por toda la comunidad de donde es originario. (Vega, 2009, pp. 57-58).

De esta forma se confirma la importancia de mantenerse como el proveedor para con sus descendientes, en especial en el aspecto económico y el contar con la sujeción de la misma.

Este no fue el único caso que se encontró durante las entrevistas que tuvieran un sentimiento similar. De acuerdo con el caso de Pedro*, con 36 años y originario del país de Guatemala, se observa un fuerte sentido de responsabilidad, afecto y compromiso con su familia. Al tener estos vínculos familiares tan fuertes, son notables los factores de género que lo comprometen a proveer por el bienestar de su esposa e hijas. Es sus propias palabras logró expresarse de la siguiente manera:

> *Yo quiero que mis hijos tengan lo que yo no tuve. Quiero que tengan paz, que estudien, que sean hombres de bien; que no caigan en las pandillas, que no caigan en la droga, que no caigan en la delincuencia.*
>
> *Los quiero mucho, los extraño… Ellos me quieren mucho, me extrañan. Mi mujer me quiere mucho; yo más que nada lo hago por ellos.* (Pedro).

Para esta situación más en particular, se puede identificar la certeza de la siguiente cita con relación a la masculinidad del sujeto en cuestión y sus relaciones y lazos familiares.

> La migración en los varones es un fenómeno que no puede dejar de atravesar las discusiones sobre la masculinidad y la reproducción en el sentido que propone Núñez, trascendiendo el papel de la fecundidad y paternidad para consolidarse en un sentido de protección de los miembros de la familia. (Montes de Oca et al, 2012, p. 87).

Explica que principalmente es por su familia la razón por la que decidió salir de Guatemala, con la esperanza de poder darles algo mejor, algo que él no tuvo; lo ve como su responsabilidad.

> *Los salarios pues son muy bajos, no me alcanza para darle de comer a mi familia, no me alcanza. O sea, sí me da para lo normal, pero yo quisiera que mis hijos estudiaran, tener algo propio, porque allá pago renta. Yo quisiera un terrenito y ahí fincar un cuartito dónde vivir… Por eso yo voy para allá, para poder darles lo que pues a uno le faltó.* (Pedro).

Por parte de este individuo, se ve un rol marcado estereotipado masculino en contraste con los de una mujer, donde, en sus propias palabras expone lo siguiente:

> *Uno debe ser responsable con los hijos, con la mujer ¿sabe por qué? Porque ya cuando uno ya tiene familia tiene que luchar por ella […] yo tengo la idea de regresar, pero pues a lo mejor si veo que está bien allá, a lo mejor puedo mandar a traer a mi familia… Quiero cruzar, trabajar y ver si puedo traerlos o regresar.* (Pedro).

Como se logra apreciar, durante las migraciones de estos hombres, por su lugar originario, se habla sobre una migración dentro del marco ilegal. Citando a Merton, él nos menciona un concepto llamado, “estructura cultural de una sociedad: los objetivos culturalmente definidos y

*Todos los nombres aquí mostrados serán pseudónimos por razones de privacidad y ética

los medios institucionalizados para alcanzarlos." (Merton citado en Taylor et. al. 1997, p. 108).

Derivado de esto, Merton elabora unas tipologías, donde aplicadas se puede "describir las acciones de hombres que hacen elecciones significativas, que aceptan o rechazan metas culturales y que aceptan o rechazan medios institucionalizados" (ídem, p. 112). Dando esto como resultado cuatro adaptaciones, en la migración podríamos encajar a "la innovación, la adopción por parte de los ciudadanos de medios ilegítimos para buscar y alcanzar el éxito." (ibidem, p. 113).

En los casos previamente examinados, se identifica como la meta cultural de estos sujetos se encuentra dentro de los atributos de género masculinos, la protección o ayuda hacia sus familias, en especial a sus descendientes. Esta meta la pretenden realizar en otro país, arribando de forma ilegal y no por los medios institucionalizados en sus lugares de origen, ya que no les son alcanzables.

Como otro caso, se encuentra Moisés*, de 28 años y procedente de Guatemala. Él cuenta entre los motivos por los cuales decidió salir de allá e intentar cruzar hacia los Estados Unidos, los siguientes:

> *Para generar dinero para mis hijas, tengo dos… para tener dinero, porque en Estados Unidos ganan en dólares…*
>
> *Por la economía, porque los países bajos, los países de Centroamérica…el gobernante, el presidente… todo el dinero se lo agarran ellos.* (Moisés).

Sus razones se encuentran mezcladas. Él sí comenta el sentirse responsable por proveerle a sus hijas algo mejor, pero principalmente menciona el tener una mayor ganancia económica que la que podría obtener en Guatemala.

En cuanto a la entrevista realizada a Joaquín, originario de San Luis Potosí, él relató su experiencia como persona que hasta unos 6 años atrás, pertenecía a la población migrante, pero ahora se encuentra en una situación de residencia más estable. Él cuenta que, con la cercanía al tren, desde el lugar donde residía, al principio era algo divertido y como un medio de transporte, fue más fácil el poder cruzar hacia la frontera.

Sus motivos no eran monetarios ni con un sentido de responsabilidad, simplemente fueron por diversión. En sus propias palabras él lo narra de la siguiente manera:

> *El tren era como un transporte, una diversión… pero ya después ya nos íbamos rumbo a la frontera y ya nos íbamos más lejos. Ya cuando acordé, no pues ya andaba allá de aquel lado... un tiempo ya casi le andábamos cruzando ya para Canadá, pero como tipo explorando y pues en ese tiempo no buscábamos tanto el trabajo, sino que simplemente como es la juventud, como explorando nomás.* (Joaquín).

Con esta cita se logra notar otro aspecto de la migración, donde como factor impulsor, al criterio del entrevistado, es diferente al que pudiera esperarse dado a las dificultades que acompañan el migrar a Estados Unidos de manera ilegal.

Conclusiones:

Tomando en cuenta a los últimos testimonios, es notable como no todas las experiencias de los migrantes giran en torno a los atributos de género. El fenómeno de la migración es multifactorial, varios factores son los que influyen en los sujetos y son los que los llevan a tomar la difícil decisión de dejar a su familia y/o lugar de origen en busca de una mejor calidad de vida en un lugar lejos de su antiguo hogar.

Se puede observar una delgada línea entre los atributos de género como factores impulsores en la migración masculina y la cuestión económica como motivantes a emprender el largo y difícil camino de la migración.

Con la información recabada por medio de las entrevistas en esta investigación, se puede observar como este fenómeno influye en muchas esferas del ámbito social, y aunque es más común ver a la migración desde un aspecto masculino, sería de mucha riqueza el poder contar con el contraste femenino de la misma.

*Todos los nombres aquí mostrados serán pseudónimos por razones de privacidad y ética

Referencias Bibliográficas:

CANALES, Alejandro y ROJAS, Martha: "Panorama de la migración internacional en México y Centroamérica", en *CEPAL – Serie Población y Desarrollo,* núm. 124, p. 16. Recuperado el 13 de agosto de 2019 en: https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/43697/1/S1800554_es.pdf

MACÍAS, Rolando: "Las prácticas corporales para la construcción del actor, la identidad genérica y la(s) masculinidad(es)", en *El Cotidiano*, núm. 184, p. 78. Recuperado el 8 de agosto de 2019 en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=32530724009

MONTES DE OCA ZAVALA, Verónica; DÍAZ ÁBREGO, Margarita; HEBRERO MARTÍNEZ, Mirna: "Migración, salud y masculinidad. Don Leovigildo y su familia: tres generaciones entrelazadas por la salud y migración en Guanajuato. Estudio de caso", en *Revista del Centro de Investigación,* Universidad La Salle, vol. 10, núm. 38. Recuperado el 22 de julio de 2019 en: http://www.redalyc.org/pdf/342/34224543007.pdf

Taylor, Ian; Walton, Paul; Young, Jack. (1997) *La Nueva Criminología: contribución a una teoría social de la conducta desviada.* Buenos Aires: Amorrortu.

TORRE, Eduardo y RODRÍGUEZ, Cynthia: "Migración y masculinidades: análisis de la experiencia de un joven que emigró por amor" en, *Desacatos*, núm. 56, p 141. Recuperado el 7 de agosto de 2019 en: http://www.scielo.org.mx/pdf/desacatos/n56/2448-5144-desacatos-56-140.pdf

VEGA, Germán: "Masculinidad y migración internacional: una perspectiva de género", en *Aldea Mundo*, vol. 14, núm. 28, pp. 57-58. Recuperado el 8 de agosto de 2019 en: http://www.redalyc.org/pdf/543/54317603006.pdf

*Todos los nombres aquí mostrados serán pseudónimos por razones de privacidad y ética

Retorno de la educación superior: Universidades públicas, privadas y UAQ.

Autor:
Clara Colin Piña
Clarapina2023@gmail.com
Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

El objetivo de este trabajo es calcular el retorno público de la educación superior; es decir, el impacto productivo de los egresados de universidades públicas en la economía, a nivel nacional y el que tienen los matriculados de la UAQ en Querétaro, México. Además de calcular el retorno promedio que perciben los egresados de las universidades públicas a nivel nacional, el que perciben los egresados de la UAQ y el que obtienen los egresados de las universidades privadas a nivel nacional.

Para lograrlo construí la contabilidad del crecimiento con el modelo KLEMS que utiliza INEGI; posteriormente calculé la tasa de retorno sobre la inversión anualizada; con referencia en el trabajo *Compara Carreras* de IMCO (2019).

Se obtuvo tasas positivas en todos los casos:

- El retorno público a nivel nacional es de 6.3%
- El retorno público de la UAQ en Querétaro es de 15% (2011-2014) y 16% (2015-2017)
- El retorno que perciben los egresados a nivel nacional es de 12.3% (escuela pública) y 3.7% (escuelas privadas); el de los egresados de la UAQ es de 12.6%; en promedio.

A partir de estos resultados concluimos que los egresados de las universidades públicas tienen un impacto positivo en la economía y para los profesionistas es rentable estudiar una carrera universitaria; esto evidencia la necesidad de resolver la difícil situación financiera en la que se encuentran 11 universidades públicas del país.

Palabras clave:

Tasa de retorno, pública, inversión, educación, profesionistas, egresados, universidades.

Abstract

The objective of this paper is to calculate the public return to higher education; that is, the productive impact of graduates of public universities on the economy at the national level and that of UAQ enrollees in Querétaro, Mexico. In addition to calculating the average return received by graduates of public universities at the national level, that received by UAQ graduates and that obtained by graduates of private universities at the national level.

We built the growth accounting with the KLEMS model used by INEGI; later we calculated the annualized rate of return on investment; with reference to IMCO's work Compara Carreras (2019).

We got positive rates in all cases:

- Public return at the national level is 6. 3%.

- The public return of the UAQ in Queretaro is 15% (2011-2014) and 16% (2015-2017)

- The return of graduates at the national level is 12. 3% (public school) and 3. 7% (private schools); that of UAQ graduates is 12. 6%; on average.

Graduates of public universities have a positive impact on the economy and it is profitable for professionals to study a university degree; this evidences the need to resolve the difficult financial situation in which 11 public universities in the country find themselves.

Keywords:

Rate of return, public, investment, education, professionals, graduates, universities.

Introducción

El debate moderno sobre la idea de que los países más avanzados recibirán un retorno importante de la educación terciaria; en comparación de los países más rezagados (pobres) que reciben el mayor retorno de la educación primaria; dados sus rústicos procesos productivos y carente tecnología; concuerda con la investigación realizada por Banerjee y Wilson (2016) en la colonia Victoria en Australia, que estudió el efecto de la educación en la productividad durante el periodo de 1860 a 1938, encontrando que la escolarización fue un factor importante para incentivar la productividad durante todo el periodo y que su impacto fue aumentando; destacan que la educación básica fue un elemento positivo de la productividad durante la primera parte del periodo, en donde la educación terciaria (universitaria) no es significativa para la productividad hasta 1891, esto lo explican por el desarrollo tecnológico de los sectores.

Los retornos de la educación universitaria se pueden ver perjudicados por la mala asignación de recursos; es decir, cuando una persona no trabaja en algo para lo que estudio; por ejemplo, cuando vemos a un ingeniero vendiendo tacos (esto por distintas razones), a un economista trabajando como contador o a un licenciado en Filosofía sin empleo; en ausencia de este hecho, los ingresos promedio serían más altos, y los diferenciales de ingresos en todos los niveles escolares se ampliarían, lo que aumentaría los rendimientos de la educación López Calva (2019).

La inversión en educación superior la hacen los gobiernos y los estudiantes; estos últimos con la esperanza e ilusión de recibir un beneficio futuro que les dará sueldos más elevados y por consecuencia una mejor calidad de vida; en comparación a otras personas que sólo cuentan con educación media superior o básica.

De acuerdo con el Instituto Mexicano para la Competitividad (2019) en su trabajo "COMPARA CARRERAS"; los estudios profesionales son el nivel educativo que tiene un mayor impacto en el sueldo percibido por los trabajadores; en promedio incrementa 72% respecto al sueldo que percibe una persona que sólo tiene bachillerato; sin embargo, no son los únicos que se pueden ver beneficiados de ser profesionistas; un país con altos niveles de capital humano calificado puede tener mejoras en la productividad.

Con base en lo anterior, el retorno de la educación superior lo estudiamos desde dos perspectivas: pública y el que reciben los egresados universitarios. Es decir, en términos de productividad, ¿Cuál es el impacto que tienen los trabajadores con estudios universitarios en la economía? Y ¿Cuál es retorno de invertir en una carrera universitaria para los profesionistas?

Nuestros resultados muestran una tasa de retorno positivo para ambos casos; público y para los profesionistas; siendo mayor para los egresados a nivel nacional; con 12.3%; ya que el retorno público a nivel nacional es de 6.3%; esto de manera anualizada. Las tasas de retorno de la inversión en educación que se obtuvieron para la Universidad Autónoma de Querétaro son positivas; el retorno público anualizado para los periodos 2011-2014 es de 15.6% y de 16% para 2015-2017 y el retorno que perciben los egresados de la UAQ; es de 12.6%, considerando datos promedio de todas las carreras que reporta IMCO que son de esta Universidad.

Este trabajo surge de la inquietud e incertidumbre que se tiene por la situación financiera de las 11 universidades que en la actualidad se encuentran en quiebra; o que de no atender su situación financiera pronto se encontraran en ese estado. Tal es el caso de

la Universidad Autónoma de Querétaro; que según la actual rectora de la máxima casa de estudios para 2021 se encontrara en quiebra técnica.

Las medidas que se han tomado aún no son claras en el efecto que deberían tener sobre el presupuesto; según el periódico "El FINANCIERO" hay universidades que no sólo necesitan un rescate financiero; como se suele realizar año con año; si no que además se requiere un importante cambio estructural que verdaderamente solucione el problema financiero en el que se encuentran las universidades.

Es muy importante mencionar cuales serían los efectos o las pérdidas que se tendrían de no resolver esta situación; y uno de los resultados de este trabajo lo hace, calculamos el costo de oportunidad al que se incurriría de no apoyar a la Universidad Autónoma de Querétaro; así como los beneficios que la educación universitaria tiene en términos económicos.

Desafortunadamente; las pérdidas en términos de productividad no son las únicas que se tienen de cerrar las universidades; además, tenemos una gran e importante pérdida de empleos; la reducción en la oferta educativa, que deja a muchos jóvenes con menores oportunidades de estudiar una carrera profesional y buscar un mejor futuro; porque estas universidades representan la posibilidad de una mejor calidad de vida para muchos jóvenes en situaciones económicas de escases.

Por lo anterior, está la necesidad de generar nuevos argumentos que nos ayuden a solicitar un presupuesto suficiente para que las universidades, que tanto han aportado a la sociedad, continúen desarrollándose; además de que evidencia la necesidad de resolver este problema derivado de los beneficios que se perderían de no atender la situación

El objetivo de este trabajo es calcular el retorno público y el que perciben los egresados universitarios de las universidades públicas a nivel nacional y de la Universidad Autónoma de Querétaro; además de calcular el retorno que perciben los egresados de las universidades privadas y compararlo con el que perciben los de la UAQ y los de las escuelas públicas.

La estructura de este trabajo es a) resumen b) abstract c)introducción d)metodología e)resultados f) conclusiones g)agradecimientos h) referencias

Metodología

Contabilidad del crecimiento

La contabilidad del crecimiento y la tasa de retorno sobre la inversión anualizado son los elementos principales que utilizamos para lograr nuestro objetivo.

La contabilidad del crecimiento describe las fuentes de crecimiento de un país y la variación que ha tenido en el tiempo; utiliza una función de producción:

$$Yt = At(Kt)^{\frac{1}{3}}(Lyt)^{\frac{2}{3}} \quad (1)$$

At puede concebirse como el acervo de ideas, al igual que en el modelo de Romer o en términos más generales como el nivel de Productividad Total de los Factores. Si queremos conocer la tasa de crecimiento de la producción Yt; bastaría conocer la tasa de crecimiento de todos los términos del lado derecho de nuestra función, entonces:

$$gYt = gAt + \frac{1}{3}gKt + \frac{2}{3}gLyt \quad (2)$$

La ecuación 2 lo único que muestra es que la tasa de crecimiento de la producción es la suma de las tasas de crecimiento de los factores que la generan: la PTF, el capital y el trabajo.

En esta investigación consideramos la composición del trabajo, ya que, discriminamos entre dos tipos de

trabajadores; las personas con educación terciaria (Lat) y toda la demás población trabajadora (Lyt); por lo tanto, el total de la fuerza trabajador ($\bar{N}$) es la suma de ambas.

$$Lyt + Lat = \bar{N}$$

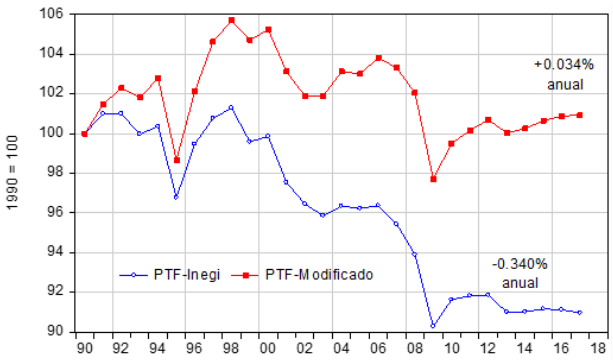
(3)

Entonces la tasa de crecimiento de producción; está en función de las tasa de crecimiento de: La PTF, el capital, el trabajo calificado y el trabajo no calificado. Es por eso que la contabilidad del crecimiento nos ayuda a medir el impacto productivo de los profesionistas en la economía.

Utilizamos información del Sistema de Cuentas Nacionales del INEGI; en donde en el apartado de "Productividad Total de los Factores" encontramos información sobre la contabilidad del crecimiento, que reporta el INEGI.

Con esos datos se calculó una versión de PTF INEGI descontando los servicios laborales. En la gráfica se usa 1990 = 100. La serie PTF es una reconstrucción ad hoc, en forma de índice, de la tasa de crecimiento reportada por INEGI-KLEMS.

Gráfica 1 México. Productividad total de los factores con y sin ajuste por calidad de los servicios laborales



Fuente: INEGI y Elaboración Dr. Enrique Kato

Conceptualmente la PTF se obtiene de la siguiente manera

$$\Delta PTf = \Delta\text{Producción} - \Delta\text{Contribución de los factores}$$

(4)

En la metodología KLEMS contribución de factores descuenta: (1) la calidad de los servicios laborales, (2) la calidad de los servicios del capital y (3) la energía, los materiales y los servicios.

Para poder estimar la contribución económica de los trabajadores con estudios universitarios. Se modificó el cálculo de la PTF. En nuestro cálculo, se descontaron la calidad de los servicios del capital y la contribución de los factores energía, materiales y servicios, es decir

$$\Delta PTF = \Delta\text{Producción} - \Delta\text{capital} - \Delta(\text{Energía} + \text{Materiales} + \text{Servicios})$$

(5)

La evolución de la PTF modificada y la PTF de INEGI se reporta en la gráfica 1. En general, la metodología KLEMS reporta una disminución de la PTF del orden de un tercio de punto porcentual (-0.3%) al año en el período 1990-2017. En nuestro cálculo, la PTF tiene un comportamiento horizontal, esto es, existen algunas variaciones, pero la tendencia es hacia un estancamiento de la PTF a lo largo de las tres décadas analizadas.

La estimación se realizó usando ecuaciones simultáneas. La primera ecuación es la función de producción agregada

$$\Delta PTF = \Delta\text{Producción} - \Delta\text{Servicios de capital} - \Delta(\text{Energía} + \text{Materiales} + \text{Servicios})$$

(6)

La estimación se realizó usando especificación log lineal. La variable es el logaritmo del valor agregado nacional. El término es el logaritmo del índice de la PTF modificada, calculada como ya se describió. El parámetro es la contribución del capital y se asume que es la contribución del factor trabajo.

En la segunda función se midió el impacto de la escolaridad alta (i.e. educación superior) de los

trabajadores y de las tecnologías de la información y la comunicación. La especificación usada fue

$$A_t = \beta_0 + \beta_1 s_t + \beta_2 \tau_t + \beta_2 w_t + \varepsilon_t \quad (7)$$

Donde la variable es el logaritmo del número de trabajadores con educación superior y es el logaritmo del acervo de tecnologías de la información y la comunicación (TIC). Por último, es un conjunto de tres variables, éstas son: dos variables dicotómicas para corregir el impacto de las crisis de 1995 y 2009, la tercer variable es un término auto regresivo de orden uno para eliminar la correlación serial. El parámetro de interés es el que mide el impacto de la educación superior de los trabajadores en la productividad total de los factores.

El acervo de TIC no está reportado en las estadísticas de INEGI KLEMS, por lo cual es una cifra de elaboración propia usando la metodología de inventario perpetuo, a semejanza de los procedimientos utilizados por INEGI. Los bienes de capital no TIC usando una tasa de depreciación del 6%, para los bienes de capital TIC se supuso una depreciación de 18% anual, equivalente a una vida útil de 5.6 años. Sólo se usó ese supuesto. En las estimaciones no se probó la significancia estadística de otros valores para la depreciación del capital.

Los parámetros estimados en el período 1990 – 2017 fueron

$$y_t = -6.9 + 1.7A_t + 0.88k_t + \in_t \quad (8)$$

No se reportan los coeficientes estimados para las variables dicotómicas de las crisis de 1995 y 2009. En la primera ecuación, todos los parámetros fueron significativos al 0.01 por ciento.

$$A_t = -0.1 + 0.22s_t + -0.053\tau_t + 0.45A_t + \varepsilon_t \quad (9)$$

El coeficiente del acervo TIC no fue estadísticamente distinto de cero. El coeficiente de la alta escolaridad fue muy positivo (+0.2), con un intervalo de confianza al 95% de +0.1 al +0.3.

Tasa de Retorno Sobre la Inversión Anualizado

El Instituto Mexicano para la Competitividad (IMCO 2019) elaboró un trabajo de investigación *Compara Carreras*; en el que ofrece un panorama general de las características universitarias e información educativa sobre 51 carreras universitarias y 17 carreras técnicas. Dentro de los hallazgos que encontraron está la tasa de retorno sobre la inversión anualizada (RSI anualizada) que mide el retorno que perciben los egresados a nivel nacional, de cada una de las profesiones que reporta IMCO (2019).

Utilizando como referencia la metodología del trabajo descrito en el párrafo anterior; empleamos la forma en la que calcula la RSI anualizada y la aplicamos para obtener el retorno público y el que reciben los profesionistas de la inversión en educación superior.

Para el retorno de los profesionistas empleamos:

$$\text{RSI } anualizada = \left[\left(\frac{(\Delta w) * 12 * 40}{Costo\ promedio}\right)\right] - 1 \quad (10)$$

Donde:

Δw representa la diferencia que existe entre el salario promedio que reciben las personas con educación universitaria y el que perciben los que sólo tiene bachillerato; de acuerdo con IMCO (2019), el salario de los primeros es de 11,467 y el de los segundos 6,673; por lo tanto la diferencia es 4,794; esto se multiplica por 12 porque la diferencia es mensual y la tenemos que convertir a anual y por 40, porque la vida laboral de una persona termina, en promedio a los 63

e inicia a los 22 o 23; por lo tanto, las personas laboraran 40 años durante toda su vida.

Costo promedio representa el costo promedio de estudiar una carrera universitaria, lo calculamos, de igual forma, con información de IMCO (2019), ellos reportan el costo de estudiar cada una de las carreras y nosotros lo promediamos; es importante señalar que IMCO realiza el estudio para universidades públicas y privadas; para calcular la RSI anualizada de los egresados de escuelas públicas; sólo se consideró información de las escuelas que cumplieran con esta característica, para el RSI anualizado de los egresados de escuelas privadas; de igual forma, sólo se consideraron escuelas con esa característica y para calcular el retorno que reciben los egresados de la UAQ, utilizamos información de IMCO; pero sólo la que correspondía a la universidad; lo anterior, para calcular principalmente el costo medio.

La variación salarial entre universitarios y trabajadores solo con bachillerato; que se considera, es la misma para calcular el retorno de los egresados de escuelas públicas, privadas y UAQ; lo que cambia es el costo promedio.

Para calcular el retorno público, utilizamos el mismo método; solamente que en el numerador consideramos la aportación que realizan en promedio los profesionistas al PIB y el denominador la inversión en educación universitaria dividida por el número de profesionistas.

$$RSIanulizado = \left[\left(\frac{MPI * 12 * 40}{Gasto\ promedio}\right) - 1\right] \quad (11)$$

El MPI es el resultado de:

$$MPI = \frac{E * VA}{L_Alta} \quad (12)$$

Donde "E" es el valor de elasticidad que tiene PTF en la contabilidad del crecimiento (.2), VA el valor agregado promedio de 1990-2017 y L_ALTA los trabajadores con estudios universitarios.

Y representa el valor agregado que aporta cada uno de los profesionistas a la economía; ya que el dato es mensual se multiplica por 12 para convertirlo a anual y posteriormente por 40; porque nuevamente es el tiempo de vida laboral.

El gasto promedio, es el resultado de promediar el gasto en educación universitaria de 2000 a 2010 entre el incremento en el número de profesionistas entre 2000 y 2015 que pertenecen a universidades públicas.

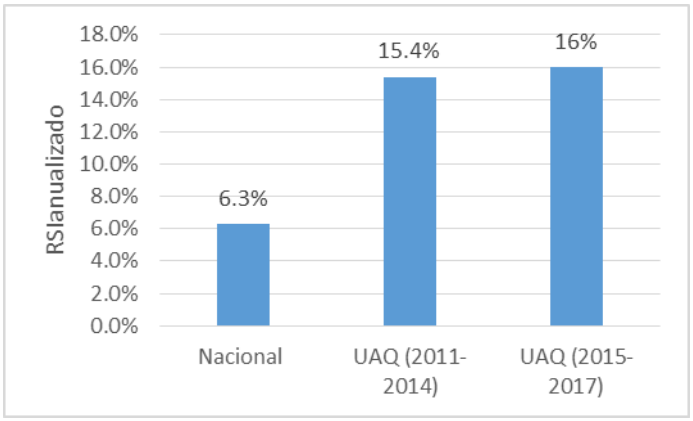
El RSI anualizado de la Universidad Autónoma de Querétaro; se calculó de manera similar al retorno público a nivel nacional; solamente que el valor agregado (VA) es de Querétaro y es el promedio a precios constantes de 2003 a 2017, L_ALTA son los matriculados en la UAQ entre 2011 y 2017; el RSI anualizado es para dos periodos 2011-2014 y 2015-2017; esto porque, la matricula tiene un incremento mucho mayor en el segundo periodo.

Cabe destacar que el RSI anualizado; es precisamente eso, anual; esto quiere decir, que el retorno de la inversión en educación no es por toda la vida laboral de los profesionistas; si no por un año de trabajo; entonces si multiplicamos nuestras tasas de retorno por 40 años, los valores son enormes.

Resultados

Todas las tasas de retorno son positivas, el retorno que perciben los egresados universitarios es mayor que el retorno público. La tasa de retorno público a nivel nacional es de 6.3%, y la tasa de retorno público de la Universidad Autónoma de Querétaro en los periodos 2011 -2014 es de 15.4% y de 16% entre 2015 y 2017.

Gráfica 2: Retorno público



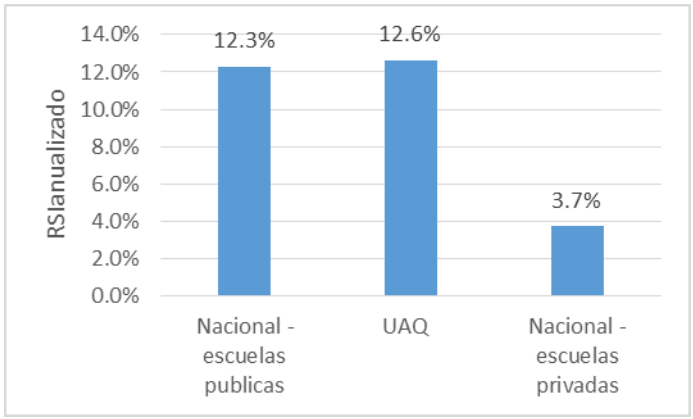
Fuente: ASF, INEGI, UAQ y elaboración propia.

Como se puede observar la gráfica 2; el retorno público de la Universidad Autónoma de Querétaro es mayor que el retorno público de la inversión en educación pública a nivel nacional; y es mayor en el segundo periodo que en el primero.

Es muy importante observar el beneficio de la máxima casa de estudios de Querétaro; ya que derivado de la situación financiera en la que se encuentra y que de no atender a la brevedad con soluciones contundentes y definitivas la perdida en la que se incurriría es sumamente grande e importante; eso sin considerar los beneficios de externalidad que generan los profesionistas, los empleos que se perdería y las oportunidades de los jóvenes para estudiar una carrera universitaria.

Los resultados del retorno que reciben los egresados de universidades públicas son positivos y grandes, si se comparan con el que perciben los egresados de escuelas privadas.

Gráfica 3: Retorno privado



Elaboración propia con datos del Instituto Mexicano para la Competitividad

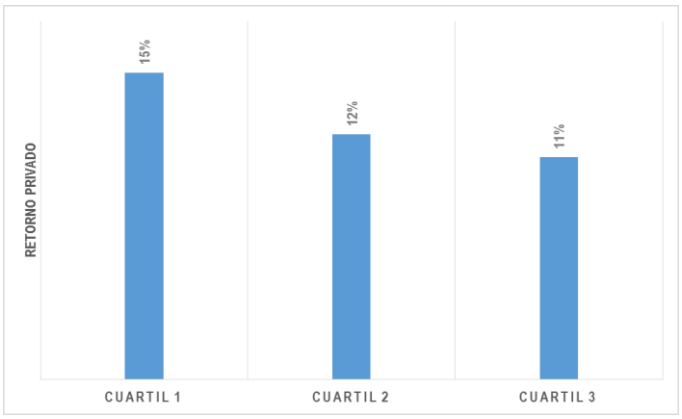
Como se puede observar en la gráfica tres, el retorno nacional y de la UAQ es muy similar; esto quiere decir que en promedio, los estudiantes reciben una tasa de retorno sobre la inversión de 12.3% a nivel Nacional (si es escuela pública) y de 12.6% los egresados de la UAQ.

Estos resultados, comparados con el RSI anualizado que perciben los egresados de una escuela privada, son mayores. En una escuela privada, en promedio el retorno es de 3.7%, esto derivado del costo promedio al que se incurre.

Por ejemplo, el costo promedio de estudiar una carrera universitaria en una escuela pública es de $21,153 y el de estudiar en una escuela privada es de $532,399.3; ambos representan, en promedio, el costo total de estudiar una carrera pero en diferentes tipos de escuela. El primero representa el 4% del segundo, lo que nos muestra lo accesible que es la educación universitaria pública para los jóvenes que somos de escasos recursos.

Decidimos no sólo enfocarnos en el retorno que se recibe si se considera un costo promedio y también lo calculamos por cuartiles:

Gráfica 4: Costo de estudiar una carrera en escuela pública; por cuartiles



Elaboración propia con datos del Instituto Mexicano para la Competitividad.

Considerar sólo los costos promedio nos aleja de los demás resultados que tienen alta probabilidad de ocurrir; por lo tanto, de la serie de costos totales de estudiar una carrera en una universidad pública, que proporciona IMCO (2019), no sólo obtuvimos el promedio; además calculamos primero, segundo y tercer cuartil; para conocer el retorno que perciben las personas que están por debajo y por encima del promedio.

En todos los casos el retorno es positivo y mantiene una tasa alta; lo que quiere decir que en general; la educación universitaria pública es una buena inversión para las personas que deciden ser profesionistas. Los que tienen costos por encima del promedio; percibe un RSIanualizado de 11% y los que están por debajo del promedio un retorno del 15%.

Conclusiones y recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos podemos concluir qué:

- La inversión en educación pública es rentable de manera pública y para los egresados universitarios.

- De no atender la situación financiera de las universidades que se encuentran en quiebra o pronto lo estarán, habrá una pérdida importante, en términos de productividad del 6.3%, y es importante recordar que no es lo único que perdemos.

- Los profesionistas, en promedio, perciben una tasa de retorno de 12.3% y los de la UAQ de 12.6%; que en comparación con el que reciben los egresados de una universidad privada, es considerablemente mayor.

- El costo promedio de estudiar una carrera en una escuela pública representa el 4% del costo promedio de estudiar en una escuela privada; por lo tanto, la educación pública es muy accesible en la actualidad, en comparación con las escuelas privadas.

Como la literatura describe, la educación terciaria (universitaria) tiene un efecto positivo en la economía, en este caso, es así, la educación universitaria aporta en términos de productividad. Estos hallazgos funcionan como evidencia de la necesidad que se tiene sobre rescatar las universidades del país que se encuentran en una situación financiera crítica y ahora que sabemos que la inversión en educación universitaria tiene un retorno positivo; se podría investigar sobre que se necesita para que sea aún mayor el retorno que se percibe.

Agradecimientos

La investigación es una de las áreas más generosas que existe; da y crea conocimiento y quienes lo adquieren tienen la oportunidad de compartirlo; como es el Dr. Enrique L. Kato Vidal, a quién agradezco por su orientación durante el desarrollo de este trabajo; así mismo, agradezco al FONDO DE PROYECTOS

ESPECIALES DE RECTORÍA que gracias a su gestión de financiamiento he logrado encontrar hallazgos que estoy segura son de utilidad para futuras investigaciones y evidencian la necesidad resolver la problemática financiera de las universidades públicas en México.

Referencias

Banerjee, R. & Wilson J. K.. (2016). Roles of Education in Productivity Growth in Australia, 1860–1939. ECONOMIC RECORD, 92, 47-66.

Benos, B. & Karagiannis, S. (2016). Do education quality and spillovers matter? Evidence on human capital and productivity in Greece. Economic Modelling, 54, 563–573.

García Gasca, T. (2019). 1er Informe. 2019, de Universidad Autónoma de Querétaro Sitio web: https://www.uaq.mx/docs/informes_rectoria/1er_informe_TGG/1er_Informe-Dra.Margarita_Teresa_de_Jesus_Garcia_Gasca.pdf

Instituto Mexicano para la Competitividad . (2019). COMPARA CARRERAS . 2019, de Instituto Mexicano para la Competitividad Sitio web: https://imco.org.mx/comparacarreras/metodologia

Kupets, O. (2015). Skill mismatch and overeducation in transition economies. IZA World of Labor, 2016:224.

Levy, S. (2018). Esfuerzos mal recompensados. 1300 New York Avenue, N.W. Washington, D.C. 20577: Banco Interamericano de Desarrollo.

Levy, S. & López-Calva, L.F. (2019). Persistent Misallocation and the Returns to Education in Mexico. 2019, de World Bank Policy Research Working Papers Sitio web: http://documents.worldbank.org/curated/en/540981546873707376/pdf/WPS8690.pdf

Factores Criminógenos influyentes en el fenómeno de la migración

La causa de la causa, es la causa de lo causado.
Un análisis criminológico

Autor: Ismael López Gómez
isma-arm19@ hotmail.com
Asesor: Dr. José Alberto Posadas Juárez
antthroposxxi@gmail.com
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Derecho
Licenciatura en Criminología

Resumen

Este trabajo se desarrolla con un enfoque criminológico e interdisciplinario, como resultado, llega a una reflexión multi-causal para descifrar la toma de decisiones que influyen en los migrantes centroamericanos que residen hoy en día en la ciudad de Querétaro, determinando así el curso que llevan, como residencia temporal o permanente, destino, ocupación en el trayecto o destino final.

Summary

This work is carried out with a criminological and interdisciplinary approach, as a result, it reaches a multi-causal reflection to decipher the decision-making that influences the Central American migrants who currently reside in the city of Querétaro, thus determining the course they take, as temporary or permanent residence, destination, occupation on the route or final destination.

Palabras clave: análisis, criminológico, interdisciplinar, multi-factorial, decisiones, migrantes, estigmatización, predisponentes.

Keywords: analysis, criminological, interdisciplinary, multi-factorial, decisions, migrants, stigmatization, predisposers.

Introducción

De manera internacional, el fenómeno de la migración, tiene una acumulación documental considerable, se habla de sus orígenes, de los riesgos que hay a la hora de llevarla a cabo, e incluso de los efectos que trae consigo de manera individual (para el migrante) y de manera general (para la sociedad), pero estos documentos, aparte de mostrar su punto de vista, son referencias para los discursos y opiniones políticos, sociales y culturales de cada país en general, cayendo así en la estigmatización, la criminalización y en la ilegalidad, mismos temas, que la criminología puede abordar, analizar y romper, es decir, ahora le corresponde a la criminología, abordar este fenómeno social, y si es posible, desmenuzarlo, aplicando uno de sus principios básicos, la descriminalización.

Objetivos

En el trabajo de investigación para el Verano de la Ciencia, celebrado en el periodo julio-agosto. Los temas de interés para la investigación son los factores criminológicos que propician la residencia temporal o permanente de los migrantes centro-americanos en México. El tema que se plantea, es abordado con un análisis criminológico, interdisciplinario y objetivo, aprovechando así las distintas áreas que maneja la criminología, como; la psicología, la sociología, la geopolítica, el derecho, la antropología-cultural, entre otros. Con este enfoque, se busca identificar los factores criminológicos (endógenos y exógenos), que puedan propiciar la residencia temporal o permanente de los migrantes centro-americanos en México.

Metodología

En el transcurso de la investigación se visitaron centros de atención al migrante como el CAMMI (Centro de Apoyo Marista al Migrante) y el comedor comunitario que se encuentra en el convento de Santa Clara de Jesús, en estos lugares varios migrantes asisten, para recibir alimentos, ropa, y servicios de higiene, se aprovechó esta situación para hacer trabajo de campo, tomando fotografías, videos, notas, registros y diarios de campo, con

*Se utilizarán seudónimos por razones de seguridad con los informantes

principios de la etnografía. Con el fin de recopilar información y testimonios reales respecto a la situación del migrante, se recurre a la entrevista semi-estructurada y el rapport, para recopilar historias de vida, y tener un acercamiento real y conciso, al final, cabe mencionar que el trabajo que se realizó se hizo con equipos de trabajo y un análisis multifactorial y la interdisciplinario, con un enfoque criminológico.

Desarrollo

Las causas de la migración son abordadas, trabajadas y analizadas por las ciencias sociales, la economía y la política, e incluso se ha tratado de intervenir con varios enfoques; desde programas de beneficencia no gubernamentales, tratados internacionales relacionados con los derechos humanos, apoyos económicos e incluso movilizaciones de fuerzas armadas por parte de los países del norte (Estados Unidos y México).

Lo único que cambia es la intervención, la política, la operación, las leyes, e incluso las medidas preventivas, pero por más esfuerzos que se hacen, la migración sigue hasta el momento.

> Hoy es generalmente aceptado el hecho de que la raza humana apareció en primer lugar en el este de África y que el poblamiento de los demás continentes tuvo lugar durante centenares de miles de años a través de grandes migraciones. En este contexto de muy largo plazo, la migración interterritorial aparece como un aspecto fundamental de la naturaleza humana. (Sutcliffe, 1998, p. 14)

La migración es una conducta sumamente ligada a la historia del hombre, hablamos de una acción y una tradición, progenitora de la civilización e incluso es la que ayudo a consolidar nuestro mundo socio-político, y una conducta social más antigua que las agrupaciones primitivas; como las tribus y los feudos, e incluso podría decirse que es la génesis de lo que hoy llamamos Estado-nación.

Lo que se plantea es que el origen de la civilización, es la migración. Pero hay que considerar que con el paso del tiempo, se fueron consolidando las naciones, y con ello se fueron organizando mejor, al punto de que poco a poco se fueron cediendo libertades individuales para ganar derechos universales, pasando de las costumbres a los acuerdos y de estos a las leyes.

Pero, ¿Por qué la ley se contrapone a migración? Porque existe una migración que si es aceptada y otra que es rechazada, es aquí cuando la ley interviene y determina lo que será correcto e incorrecto, lo que será legal e ilegal, es decir, la ley es la que determina la migración legitima e ilegítima.

Con la ley, vienen las normas y con ellas los documentos que las validan. Al traducir toda está cadena causal, se tienen que realizar todos los trámites pertinentes de acuerdo a la localidad o sistema de cada país, y con eso, obtener la documentación adecuada para ser legal en tu lugar de origen ya sea como originario o como migrante. ¿Pero qué pasa si no se sigue este proceso? Se cae en la ilegalidad.

Discusión y resultados

Ricardo, al colaborar con su historia explica lo siguiente. Él proviene de Honduras y tiene 53 años. Menciona que tiene aproximadamente 40 años en situación de migrante, no cuenta con documentos de origen debido a que no fue registrado después de su nacimiento en su país. Su caso refleja el problema de ilegalidad ante el sistema con el que muchos migrantes se enfrentan.

> He buscado la manera en las caravanas, he tratado de ver cómo me ayudan...que me den un documento. Yo he ido con las autoridades y me piden documentos- no, no los tengo, yo necesito un papel, algo que me identifique como soy, - me contestan; no podemos hasta que su país diga lo que está diciendo usted- dijeron que a todas las caravanas les iban a dar visa humanitaria... fui el único que dejaron sin papeles, dijeron que no podían que, porque no tenía alguna información de mi gobierno que dijera lo que yo estaba diciendo, bueno. Estoy en el limbo como le comento.
>
> –Ricardo

Esta situación lo vuelve un sujeto ilegal, en México, en Estados Unidos y en su lugar de origen, Honduras. Debido a que no fue registrado desde su nacimiento, Ricardo cuenta con un factor estructural que lo hace ajeno al sistema, lo excluye de la sociedad, lo vuelve un migrante más.

> Es cada vez más difícil para un inmigrante comprobar su derecho al asilo político o su status familiar. Y estas medidas se justifican con el argumento de

*Se utilizarán seudónimos por razones de seguridad con los informantes

> combatir solicitudes fraudulentas. Al mismo tiempo, las restricciones han producido un incremento en la inmigración clandestina a través de vías de entrada no habituales. (Ídem).

En la situación de Ricardo, todas las personas que lo atendieron pudieron descartarlo y denominarlo como un mentiroso, o un delincuente. Debido a la desconfianza que tiene la sociedad y las instituciones, aunado a la estigmatización hacia los hondureños por las caravanas migrantes que han cruzado las fronteras, el factor externo que los estigmatiza, tiene más efecto cuando consideramos que en la actualidad el rezago social ha provocado un déficit en la ideología colectiva acerca del tema de la migración, y que ha afectado la convivencia entre los migrantes y la sociedad en general.

Las caravanas han implicado que criminales que no habían podido salir antes (de Honduras), que no encontraban la salida de como escaparse, pagar sus delitos, entonces se han venido en las caravanas y ahora, no solo el país de nosotros está afectado...como hondureños, nos han venido afectando aquí... la reputación de nosotros los hondureños... le dice uno es hondureño - ha no, malandro, ladrón, mal viviente, o no quiere trabajar.

-Ricardo:

Entonces, con lo anterior, queda en claro un factor importante a considerar en el fenómeno de la migración, "la oportunidad". Al usar el enfoque Interdisciplinario, se puede ligar con siguiente punto; "las necesidades humanas", citando a Maslow:

> Se basa en la existencia de una serie de necesidades que atañen a todo individuo y que se encuentran organizadas de las más urgentes a las que lo son menos. Esto se debe a que, según Maslow, nuestras acciones nacen de la motivación dirigida hacia el objetivo de cubrir ciertas necesidades, las cuales se ordenan según la importancia que tengan para nuestro bienestar. (citado de Franco, 2018).

Todos los humanos tienen necesidades, y Maslow habla de la jerarquía que estas tienen, ordenadas de acuerdo a su importancia vital.

En la parte más baja de la estructura se ubican las necesidades más vitales y prioritarias para la supervivencia del migrante; estas son las necesidades fisiológicas y debemos de profundizar en ellas.

> Estas constituyen la máxima prioridad del individuo, ya que se encuentran relacionadas con su supervivencia y reproducción. Además, también se encuentran aquí la alimentación, la sed, el mantenimiento de una temperatura corporal adecuada, el sexo y la respiración. (ídem).

Una de las últimas entrevistas fue con Adriana, quien lleva 3 años en situación de migrante, ella proviene de El Salvador y comenta que la situación en su país está muy mal.

Cuenta que hace no más de 19 años se dolarizo la economía en EL Salvador, afectando el estilo de vida de los salvadoreños pues el salario mínimo es de 5 dólares al día, además, nos explica que por sí no fuera poco el salario, casi no hay trabajo, lo que obliga a la gente a buscar recursos para sobrevivir por otros medios.

Hasta que cambiaron la moneda, estuvo todo más caro, digamos, una hamburguesa, antes valía 50 pesos, pero como ya es en dólar, son 8 dólares… y la renta no se diga … la renta esta de 2 mil pesos. Por eso allá lo que hacen es unirse, la familia, entre varios ya pagan una renta, porque solo así.

-Adriana.

Cuenta que, con el paso del tiempo, la gente se hartó, y que por eso se salen muchos del país, dejaron todo para ir a buscar una mejor vida. Esto lo podemos relacionar con la oportunidad para satisfacer el segundo nivel de las necesidades humanas, la cual es el nivel de la búsqueda de la seguridad.

> Con su satisfacción se busca la creación y mantenimiento de un estado de orden y seguridad. En este nivel encontramos la necesidad de estabilidad, de tener empleo, recursos, salud y protección, entre otras. Estos deseos se relacionan con el temor de los individuos a perder el control sobre su vida, y están íntimamente ligados al miedo, principalmente a lo desconocido. (Ibídem).

Esta situación económica, invade a mucha gente, por lo que la misma comienza a satisfacer esta necesidad a costa de lo que sea, incluso a costa de otros. En la declaración de Adriana, se confirma esta parte; también por lo mismo, porque si no hay trabajo que vas a comer, la gente se desespera, hace cualquier cosa, más esos que tienen vicios, veda, son los primeros que hacen cualquier cosa.

Algo similar a lo que está pasando en el Salvador, ocurre en Honduras, Ricardo menciona que la seguridad, la economía y la corrupción han afectado

*Se utilizarán seudónimos por razones de seguridad con los informantes

el estilo de vida de las personas, la convivencia social y laboral, es decir, estos factores externos y colectivos son suficientes para salirse de Honduras.

Nadie puede irse a quejar, porque, si se queja, pues como son las mismas policías las que le quitan el dinero, tons como va a quedar uno...usted pone la queja hoy, mañana amanece muerto, y si no es usted, es alguien de su familia...entonces es una pérdida de tiempo, quedarse a hacer un negocio o querer trabajar allá o levantar el país, porque si levanta el país, haga de cuenta que está haciendo un hoyo pa' usted mismo, entonces, ¿para qué?, no hay motivación... toda la gente se está viniendo por eso. -Ricardo.

La migración es una respuesta a las necesidades humanas, las necesidades de seguridad, fisiológicas (básicas) entre otras y es posible ligarlo con lo que dice lo Sutcliffe;

> La migración es un fenómeno que responde a la necesidad humana, igual que muchos más, como el trabajo, la seguridad social, etc. A veces responde a necesidades de emergencia. La migración es la escapatoria de una suerte que parece todavía peor. Así algunas migraciones son acciones impuestas por la fuerza al migrante. No tiene ninguna elección real y la única alternativa puede ser la muerte. (Sutcliffe, 1998, p. 19)

Aunque retomando lo que cuenta Adriana: la gente se desespera, hace cualquier cosa. Las acciones y conductas de las personas, pueden ser diversas. Algunas pueden caer en la informalidad, o sentar las bases de sus objetivos, en la ilegalidad, todo eso, sin importar el costo, los daños, o el riesgo que implica para otros es decir, el fin justifica los medios. La experiencia de Adriana sirve para vincular con lo que dice Ricardo:

¿A poco usted podría vivir en un lugar que estén matando gente, que estén matando familias enteras diario?... lo primero que ve en las noticias es que mataron a una familia, camionetas llenas en las panguitas atrás, muertas, balaceaos.

Con estos 2 análisis, se entiende que el hombre es un ser bio-psico-social, dado a que se ve influido por factores psicológicos (endógenos), biológicos (endógenos) y sociales (exógenos), estos factores, influyen en los humanos proporcionalmente con el contexto en el que se encuentran, las oportunidades que se presentan, y los medios legítimos o ilegítimos

Cada nación, país, y estado, tienen sus propias normativas, leyes y modos de actuación, estas están basadas en las necesidades del hombre, pero, también en la seguridad individual y general de la sociedad, todo con el fin de asegurar el bien común. ¿Esa es razón suficiente para delimitar lo que es considerado migración ilegal o legal?

> Junto a las nuevas dinámicas de los flujos migratorios se desarrollan políticas migratorias restrictivas, que nos obligan a adoptar otro tipo de modalidades. El incremento de las oleadas migratorias y la incapacidad de los países de destino (principalmente los de la Unión Europea y Estados Unidos, así como Australia y otros más) de crear la suficiente oferta de empleos han desembocado en la aplicación de una serie de políticas orientadas a restringir la migración. (Muñoz, 2002)

Lo que es legal un día, al día siguiente puede ser ilegal, es decir, de un día para otro, dependiendo de la situación, contexto y los resultados, se puede generar un cambio en la toma de decisiones, cambiando la postura política y social, es ahí cuando tiene que intervenir la ley y el Estado. Como en la posguerra, que genero una gran movilidad en la población de los países afectados (Europa), este efecto, impacto en las políticas y modos de actuar en los Estados anfitriones e incentivo su política interna, su economía (PIB) e incluso transgredió en su integración poblacional

Si bien, hablamos de un principio causal, que detona esta causa de la causa. Entonces podríamos hablar de la economía y las estrategias que emanan de está.

> Las relaciones interinstitucionales, que se establecen en la implementación de las políticas, resultan fundamentales para el éxito de la GIG y, por ende, para el de la política. Dichas relaciones están dadas por el entrelazamiento de las reglamentaciones, los procesos y los recursos que se manejan entre las instituciones de los órdenes de gobierno, que participan en la puesta en marcha de programas o políticas. (Ramos, 2015)

Los factores económicos se deben de incorporar en la toma de decisiones del migrante, pero también se debe de aterrizar el impacto del discurso político del Estado-nación y su relación íntimamente

*Se utilizarán seudónimos por razones de seguridad con los informantes

proporcional al fenómeno migratorio dado a que este fenómeno es un tema que influye en la economía a causa de las divisas y la fuga de ingresos de los países.

Es aquí, donde la criminología puede participar, tomando en cuenta los factores ambientales, sociológicos y su relación con los predisponentes biológicos y psicológicos. Este sería el llamado, enfoque multifactorial:

> Una consecuencia natural del paulatino enriquecimiento de los análisis ambientales es el llamado enfoque multifactorial cuya razón de ser estaba en la pretensión o en la necesidad de dar cuenta de la posible incidencia causal de una multiplicidad de circunstancias que, de ordinario, parecen hallarse presentes cuando el delito se produce, y cuya combinación, de una u otra forma, puede ser empleada para determinar la posibilidad o la probabilidad de la aparición de comportamientos desviados." (Pérez, 2011b, pp. 3–4)

Mismo que la criminología ha aportado desde inicios del siglo xx, y para fines de este trabajo, nos servirá para relacionar este fenómeno multicausal de la siguiente manera.

La hipótesis a contrastar en la investigación es: Los migrantes pueden experimentar un sinfín de experiencias, retos e incluso historias de vida, que bien, pueden impactar en su paso por México. Los factores exógenos se pueden entender como los agentes externos o ajenos al sujeto, puede ser un ambiente construido, generado o fabricado por las conductas o los patrones humanos, como; el barrio, la dinámica de la vivienda, los medios de trabajo y la estructura social o política, este concepto, en combinación con el factor endógeno, que se puede entender como los agentes internos del sujeto bio-psico-social (en este caso, para la práctica metodológica, el migrante) como la edad, el sexo de la persona, sus características físicas, culturales y psicológicas. Estos factores en combinación, pueden influir en las decisiones del migrante, haciéndolo cambiar de parecer con sus planes a corto, mediano o a largo plazo, siendo como resultado, el tiempo de su estadía aquí en México.

En el transcurso de la investigación, con la finalidad de contrastar la hipótesis y la realidad de los migrantes, la entrevista semi-estructurada ayuda para contrastar la teoría con la realidad. En estas entrevistas, las declaraciones, hacen notar la necesidad de tener una mejor situación económica, como lo explica Adriana: mi sueño es tener mi casa propia ... el que tiene su casa, ya la va pasando para comer.

También destaca la necesidad de estar en un lugar más seguro, como lo explica Ricardo:

> Ha honduras yo puedo regresar, puedo ir, pero no puedo estar, porque, porque, en primer lugar, yo fui uno de las personas que me puse en contra de bandas delictivas, tuve problemas con ellos, tuvimos altercados, balaceras, entonces ellos están esperando a que yo llegue para ver que hacen conmigo, pero igual, yo siempre voy, por eso me tardo poquito, una semana o dos, y si salgo, salgo camuflajeado y esa no es vida, esa no es vida... -Ricardo.

En otra entrevista, hablamos con Hugo, el cual proviene de Guatemala y nos cuenta que tiene 8 años en situación de migrante en México, su historia es bastante interesante. Su principal motivo de salida fue su situación familiar, Venia muy jodido familiarmente, mi idea fue quedarme en México, viviendo, y no regresar, por problemas familiares, menciona que había mucha presión familiar te cansa tanto desmadre de familia quiere decir, que Hugo lo que quería era salir de esas incomodidades, es decir, no sentía que pertenecía ahí, aunque admite que también, él tuvo algo que ver: yo por mi rebeldía, por sistemas drogadictas perdí a mi familia.

Esto nos llevaría a contrastar la situación de H con la teoría de las necesidades de Maslow, y nos referiríamos a la última, que es la autorrealización, y es la siguiente:

> Es de las necesidades psicológicas más importantes del ser humano se encuentran la necesidad de afecto y amor, necesidad de pertenencia y necesidad de reconocimiento. La necesidad psicológica más elevada del ser humano, se halla en la autorrealización; y es a través de su satisfacción como se encuentra una justificación o un sentido válido a la vida. (Franco, 2018).

Para Hugo, Su estadía en México fue agradable

> lo que me motiva en México es... no te dejan morir, el mexicano, te echan la mano... el mexicano te ayuda, aunque te vean con cara de perro, te ayuda". "lo único que yo espero es, que realmente se cumpla eso que dicen las casas del migrante... echarle ganas... y que México pueda tener para el centro americano un lugar base, para que

*Se utilizarán seudónimos por razones de seguridad con los informantes

el centro americano pueda tener un lugar donde quedar, estudiar y tener este, mucha amistad con el mexicano... habemos muchos centro-americanos muy cerrados de mente, en el sentido de que somos solitarios, no expresamos lo que somos, no expresamos lo que sentimos, porque si nos miramos bien, nosotros mismos pensamos cosas...tu existencia es ...de niño vienes escuchando mucha violencia, de adulto, violencia... quedas traumado, y nunca ese trauma nunca lo entiendes, nunca lo sacas...hoy en día los jóvenes se pierden en las drogas, porque ese trauma no lo pueden sacar, o esa base familiar, donde hay tantas cosas, no pueden salir al sol, porque no tienen algo en base... -Hugo.

Para Ricardo, su estadía en México se ve influenciada por su situación legal, lo que le motiva a estar en México es su libertad. Tiempo atrás, estuvo preso en EUA, salió libre en 2014.

Pero como le digo yo a ellas (sus hijas), mira , a mí no me cuesta cruzarme la frontera, no me van a agarrar, pero, el día que yo quiera trabajar, o que quiera salir a flote, el gobierno se va a dar cuenta, y me van a dar no solo el tiempo que me queda, sino me van a dar más tiempo y ahí sí, no creo que yo aguante otros 20 años preso... eso es lo que me está motivando a estar aquí en México.
-Ricardo.

Pero, Ricardo, al venir de honduras, tiene otro factor a considerar, ese es el de la seguridad. La violencia que se vive es muy cotidiana: ¿a poco usted podría vivir en un lugar que estén matando gente, que estén matando familias enteras diario?... lo primero que ve en las noticias es que mataron a una familia, camionetas llenas en las panguitas atrás, muertas, balaceaos.

Y el problema es que el gobierno, ha tratado de brindar los medios para satisfacer la necesidad de seguridad, pero con unas medidas un tanto ortodoxas. El gobierno solo pudo repartir permisos de portación de armas a cambio de una cuota monetaria.

Que dijo el gobierno, no saben qué, que no nosotros no podemos estarlos cuidando a todos, lo que podemos hacer es que vamos a estar dando permiso de portación de armas. Necesito que me den un permiso de portación de armas -sí, 500 lempiras- y no le dicen que clase de arma quiere usar, no le preguntan nada. Les están dando el derecho de hacer un grupo delictivo, con permiso del gobierno, y eso no está bien. hace énfasis en que esto lo aprovechan las pandillas *le están dando la facilidad de que lo maten o de que maten a otra persona.*

- Ricardo.

Y para Adriana, el sueño de mejorar su situación económica es lo que la ha impulsado a llegar aquí. Menciona que desea aprovechar su estadía temporal, para ir al rescate de su hija:

busco un buen trabajo, me quedaría un tiempo aquí, pero, la verdad mi idea es llegar allá con mi hija, para que este bien conmigo, pero ósea, yo andaba buscando un trabajo pa´ juntar mi pasaje, y ya llegar con ella, llevarle algo, no llegar con las manos vacías también, esa es mi idea.

Hasta el momento no tiene planeado cuanto tiempo le tomara juntar el suficiente dinero para su regreso, pero planea estar en México con ese entendido unos 6 meses.

Conclusiones

La criminología puede participar, tomando en cuenta los factores sociológicos en relación con los predisponentes biológicos y psicológicos de los migrantes con un enfoque multifactorial, con el fin de descriminalizar y trabajar en colaboración con las instituciones y grupos no gubernamentales para atender a estas personas.

Lo que un día es legal, al día siguiente puede ser ilegal, es decir, de un día para otro, dependiendo de la situación, contexto y los resultados, se puede generar un cambio en la toma de decisiones de los países, cambiando la postura política y la convivencia social, es ahí cuando se tiene que considerar a la población y su estilo de vida en la toma de decisiones, con el fin de no romper el equilibrio, como paso en El Salvador.

Se tiene que plantear lo siguiente: si las necesidades que tienen los migrantes, no las pueden satisfacer por los medios legales, y los gobiernos de sus países de origen no pueden crear los medios para cumplirlos. ¿Es acaso México, pese a sus deficiencias institucionales y políticas, un lugar en dónde se pueden satisfacer estas necesidades? - la respuesta podría ser; sí. Pero solo si se tiene de referencia el contexto social de los otros países (Guatemala, Honduras, y El Salvador).

Los factores económicos influyen por la estructura social que se provee, y se podría aprovechar esta creciente ola de migración, para promover talleres de trabajos y oficios, cultura general e incluso programas sociales más apegados a la realidad de los

*Se utilizarán seudónimos por razones de seguridad con los informantes

migrantes, tomando en cuenta la toma de decisiones del migrante, pero también se debe generar un discurso político adecuado a la realidad del fenómeno migratorio.

Algo que es nuevo y que no se ha tocado es el estrago psicológico y social que deja la migración en las personas. En pocas palabras, no tienen con quien desahogar esas penas, angustias y traumas psicológicos con el que cargan. Las instituciones no están preparadas para atender esta vertiente. Este podría ser una oportunidad más investigaciones, diagnósticos y políticas con enfoque criminológicos.

Agradecimientos

Gracias al Dr. Posadas, quien nos guió en el trabajo de campo, en la elaboración de la investigación y por la invitación al Verano de la Ciencia.

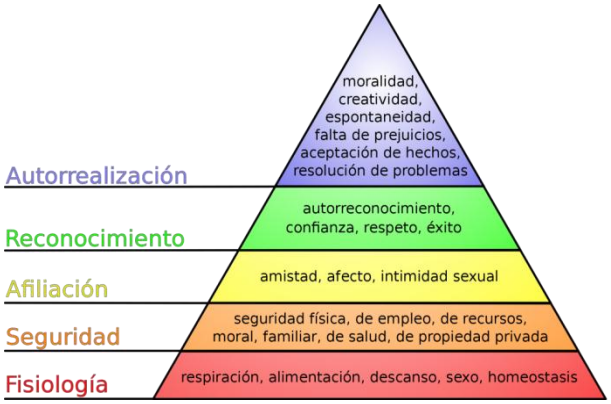
Gracias a los organizadores del "verano de la Ciencia UAQ" quienes nos brindan la oportunidad de acercarnos más a nuestros intereses académicos y ayudarnos a crecer como investigadores.

Este trabajo, va dedicado a mis padres, quienes me apoyaron en todo momento, pese a las dificultades, siempre estuvieron. Gracias.

Referencias bibliográficas:

- Colegio de la frontera norte, París, M. A. R. Í. A. D. O. L. O. R. E. S., Ley, M., & Peña, J. (en prensa). MIGRANTES EN MÉXICOVULNERABILIDAD Y RIESGOS. *un estudio teórico para el programa de fortalecimiento institucional " reducir la vulnerabilidad de migrantes en emergencias*, 54. Recuperado de https://onedrive.live.com/?auth=1&cid=B87FA6FD6D6936DF&id=B87FA6FD6D6936DF%21325&parId=B87FA6FD6D6936DF%21322&o=OneUp
- Sutcliffe, B. (1998). Nacido en otra parte. Bilbao, España: Hegoa.
- Franco, F. S. (2018, 1 junio). La teoría de las necesidades humanas de Maslow. Recuperado 9 agosto, 2019, de https://lamenteesmaravillosa.com/la-teoria-de-las-necesidades-humanas-de-maslow/
- Simon, Julian L. 1996, "Public expeditures on immigrants to the United States, pastand present", Population and Development Review, Vol. 22, no. 1, Marzo
- Pérez, J. A. (2011b). La explicación sociológica de la criminalidad. *Derecho y Cambio Social*, *7*(22), 22.
- Muñoz, A. R. (2002). Efectos de la globalización en las migraciones internacionales. *SciELO*, *8*(33).
- Ramos, J. M. (2015). La política migratoria mexicana y la seguridad fronteriza con Estados Unidos: cambio y continuidad, 2012-2014. *SciELO*, *27*(64).

Anexos:



-(Imagen extraída de " la mente es maravillosa", la teoría de las necesidades humanas de Maslow")

*Se utilizarán seudónimos por razones de seguridad con los informantes

Neblinómetro para promover la sustentabilidad y la seguridad alimentaria

Ana Victoria Pérez Zamorano, Juan Alberto Jiménez Ogarrio, Mtra. Dalia Yunnuen Sandoval Montoya. ecofinanzas074@gmail.com, yunnuens@hotmail.com

Universidad Marista de Querétaro

Resumen

Mediante esta investigación se propone la utilización de neblinómetros para la captación óptima de agua por medio de la niebla y el rocío para el uso de parcelas agrícolas domésticas y sea una alternativa a bajo costo para regar los cultivos en épocas de sequía.

La implementación de neblinómetros genera una gran contribución a los problemas de desabastecimiento de agua presentados en diferentes zonas del país promoviendo la producción agrícola sustentable doméstica y en cooperativas y la seguridad alimentaria de la población con productos libres de pesticidas y transgénicos. El neblinómetro es una solución para el riego de los cultivos domésticos en épocas de sequía, y de este modo mantener la producción de alimentos seguros para autoconsumo y para la venta en cooperativas agrícolas apoyando al empleo y generación de ingresos.

La agricultura doméstica y de cooperativas tiene como objetivo producir alimentos manteniendo el equilibrio entre la naturaleza y la producción, el uso del neblinómetro utiliza el viento como energía alternativa natural y renovable, y capta la humedad de este eliminando el uso de agua clorada de la red pública la cual debe pagarse a costos altos, y del uso de agua tratada. El neblinómetro coadyuva a mantener la producción agrícola doméstica y a mejorar la calidad de los alimentos que se consumen; además la agricultura doméstica elimina el uso de semillas transgénicas, ya que, estas desequilibran el ecosistema natural-social y desvirtúan el objetivo de desarrollo social sustentable de las cooperativas agrícolas; uno de los varios problemas que resultan de la producción agrícola transgénica es el de una distribución de la producción en un modo centro-periferia; esta organización de la producción se aprovecha de la inexistencia de regulación por parte del Estado en materia de protección de la salud y de los recursos naturales en los países subdesarrollados, y coloca en ellos empresas extranjeras que explotan y contaminan sus recursos naturales y ponen en riesgo la salud de la población. La producción agrícola transgénica contamina con la diseminación aérea de las semillas modificadas los cultivos endémicos de la región; también limita a los agricultores domésticos el acceso a los créditos y a la inversión en innovación, desplazando a estos de los mercados.

Palabras clave: neblinómetro; sustentable; seguridad alimentaria; transgénicos; endémicos.

Summary

This research proposes the use of neblinometers for the optimal collection of water through fog and dew for the use of domestic agricultural plots and is a low cost alternative to irrigate crops in times of drought.

The implementation of neblinometers generates a great contribution to the problems of water shortages presented in different areas of the country, promoting sustainable domestic agricultural production and in cooperatives and the food security of the population with pesticide-free and transgenic products. The neblinometer is a solution for the irrigation of domestic crops in times of drought, and thus maintain the production

of safe food for self-consumption and for sale in agricultural cooperatives supporting employment and income generation.

Domestic and cooperative agriculture aims to produce food while maintaining the balance between nature and production, the use of the neblinometer uses wind as a natural and renewable alternative energy, and captures its moisture by eliminating the use of chlorinated water from the network public which must be paid at high costs, and the use of treated water. The neblinometer helps maintain domestic agricultural production and improve the quality of the food consumed; In addition, domestic agriculture eliminates the use of transgenic seeds, since these unbalance the natural-social ecosystem and undermine the objective of sustainable social development of agricultural cooperatives; one of several problems that result from transgenic agricultural production is that of a distribution of production in a center-periphery mode; This organization of production takes advantage of the lack of regulation by the State in terms of protection of health and natural resources in underdeveloped countries, and places in them foreign companies that exploit and pollute their natural resources and put at risk The health of the population. The transgenic agricultural production contaminates with the aerial dissemination of the modified seeds the endemic crops of the region; it also limits domestic farmer's access to loans and investment in innovation, displacing them from markets.

Keywords: neblinometer; sustainable; food safety; transgenic; endemic.

1. Introducción

El presente trabajo hace referencia a una alternativa de abastecimiento de agua que permite recolectarla por el rocío y la niebla y utilizarla para cultivos domésticos y cooperativas agrícolas, como una solución para mantener constante la producción agrícola en época de sequía y al problema de seguridad alimentaria la cual se refiere al acceso social, económico y físico a alimentos seguros, alimentos que cubran las necesidades nutricionales de la población.

La investigación se está realizando con el interés de identificar los cambios necesarios para la sustentabilidad social y la seguridad alimentaria, y con base en ellos proponer soluciones y estrategias para mejorar las condiciones y las relaciones naturales en que se reproduce la sociedad.

Se tiene presente en la sociedad el fenómeno de la subalimentación, la cual demuestra que, en el modo práctico de producción de alimentos existe una mala distribución de los recursos naturales de los que se dispone para asegurar dicha seguridad alimentaria.

Dentro de un sistema productivo que, opera bajo un sistema inequitativo de recursos para la producción alimentaria y con intereses puramente lucrativos, la producción agrícola destinada a la alimentación cae en procesos antinaturales que, utilizan grandes cantidades de agua, además de utilizar agua tratada y productos modificados genéticamente, sin tomar en cuenta la seguridad alimentaria y las externalidades de producción negativas en el ambiente y en la sociedad.

La sustentabilidad corresponde al mantenimiento del sistema productivo respetando la ecología, cumpliendo principios que conservan, preservan y protegen los recursos naturales en beneficio de nuestra sociedad y sin poner en riesgo generaciones futuras; pero, no sólo eso, sustentable es también una distribución con equidad del ingreso para satisfacer las necesidades de la sociedad y preservar la cultura y la anatomía social de los distintos agentes (Martínez y Roca, 2015). Sin embargo, actualmente bajo la estructura económica de acumulación y competencia presentes en la producción, no se busca un desarrollo sustentable de la agricultura como principal medio de obtención de recursos para la alimentación, sino un crecimiento exponencial de

los productos obtenidos, sin tomar en cuenta el uso desmedido del agua, la contaminación de los alimentos por el uso de agua tratada y por medio de métodos transgénicos y químicos para sostener la producción y no el medio ambiente, para perpetuar la producción industrial con fines de acumulación económica inequitativa y atentando contra la conservación natural de los recursos disponibles y por consecuente con la salud mundial de los individuos que buscan cubrir sus necesidades básicas de alimentación para subsistir.

En la actualidad existen variadas propuestas para la producción agrícola sustentable; entre ellas encontramos la producción agrícola doméstica para el autoconsumo y la venta de alimentos en cooperativas agrícolas; este tipo de producción para su mantenimiento requiere de agua limpia para riego a un costo bajo.

2. Metodología

El enfoque de la presente investigación es cualitativo- holístico. Sampieri (2014) afirma:

> El enfoque cualitativo se guía por áreas o temas significativos de investigación, utiliza la recolección y análisis de los datos para afinar las preguntas de investigación. Este enfoque también se conoce como investigación naturalista, (….) y es una especie de "paraguas" en el cual se incluye una variedad de concepciones, visiones, técnicas y estudios no cuantitativos. (p.7)

Para Sampieri (2014) el enfoque cualitativo es holístico porque: "Se precia de considerar el todo sin reducirlo al estudio de sus partes" (p.9).

En el enfoque cualitativo el investigador va vinculando los temas de investigación por medio de un proceso de análisis y descripción de documentos, observaciones de la situación natural de los sucesos, discusiones y participación en grupos, desarrollando así la teoría sin manipular la realidad.

Busca hacer visible el fenómeno de estudio interpretándolo por medio de observaciones y representaciones

Sampieri (2014) describe el método de investigación cualitativo como: "Naturalista porque estudia los fenómenos y seres vivos en sus contextos o ambientes naturales y en su cotidianidad; e interpretativo pues intenta encontrar sentido a los fenómenos en función de los significados que las personas les otorguen" (p.9).

Además se basa en la recolección de información no estandarizada con la revisión de documentos, textos y narraciones y, se fundamenta en la interpretación de las acciones con una doble percepción: analiza los aspectos manifiestos y los aspectos subyacentes de la realidad que se deben descubrir e interpretar.

El diseño cualitativo de investigación esta basado en teoría fundamentada y es emergente. De acuerdo a Sampieri (2014) emergente se refiere: "A que va enfocándose conforme se desarrolla el proceso de investigación" (p.14).

2.1. Planteamiento del problema

¿Es posible un desarrollo social y económico mejorando las condiciones de vida de las comunidades y el uso de los recursos naturales por medio de tecnología que promueve el uso de energía renovable y limpia en combinación con métodos de producción agrícola sustentables?

2.2. Marco de referencia

2.2.1. Teoría centro – periferia

La dualidad centro – periferia la entendemos como un modelo de organización territorial que utilizan ciertos sistemas económico- políticos para definir el nivel y lugar que ocupa cada nación dentro del sistema económico mundial, dicha clasificación va a depender del nivel económico de cada país.

Aunque también dicho termino es particularmente utilizado para referirse a las desigualdades sociales y económicas que existen entre las naciones centro y las naciones de la periferia.

El economista André Gunder Frank (como se citó en Katz, julio 2016) refirió que pertenecen al centro los países que marcan el rumbo de la economía mundial, naciones industriales, desarrolladas y ricas, que tienen influencias en los mercados y el sistema financiero internacional; en donde existe poco desempleo, la población es reducida y cuenta con una mejor calidad de vida.

La periferia lo conforman naciones con estructuras productivas menos desarrolladas, que carecen de poder, sus recursos naturales son explotados y contaminados, presentan desventajas comerciales y una desigualdad en la distribución del ingreso mundial. Dichas naciones proporcionan el centro materias primas y mano de obra a bajo precio. Pero que, además conviven con altos niveles de desigualdad que se reflejan en altas tasas de desempleos, de pobreza y sujetos a las reglas establecidas por los países centrales.

En el modelo centro-periferia existe un intercambio económico desigual entre el centro y la periferia, lo cual significa que las naciones centrales adquieren los productos de la periferia y los venden a precios más elevados de lo que ellos los comercializan.

Frank (como se citó en Katz, julio 2016) afirmo que las relaciones de dependencia entre los países en la economía mundial son un reflejo de las relaciones estructurales de dentro de las sociedades de producción de los propios países periféricos.

2.2.2. Externalidades

Se denomina externalidades a los costos o beneficios que surgen de la producción y recaen en una persona distinta al productor; también se entienden como el costo o beneficio que surge del consumo y recae en una persona distinta al consumidor.

Las externalidades pueden surgir tanto del productor como del consumidor, y estas pueden ser negativas o positivas.

2.2.2.1. Externalidades negativas de producción

Este tipo de externalidades son aquellas que imponen un costo a terceros o a la sociedad a causa del impacto de un factor negativo en la producción.

2.2.2.2. Externalidades positivas de producción

Estas son generadas como una cadera de beneficios a partir de un productor. Es decir que, a partir de un proceso o un medio de producción se generan beneficios para otros productores, que no necesariamente tienen directa relación en su producción.

2.2.2.3. Externalidades positivas del consumo

Las decisiones del consumo de un agente generan utilidad directa para otro agente. En este caso se consumen mayormente bienes de mérito en los que se genera un bienestar social general.

2.2.2.4. Externalidades negativas: La contaminación

El análisis económico de la contaminación radica en la demanda de un entorno sano.

El problema del análisis del fenómeno de la contaminación radica en el enfoque físico de su impacto, sin darle mayor peso a los costos posibles implícitos.

La contaminación no es un problema exclusivo de los países industrializados, en este fenómeno está implícita toda relación existente de producción y consumo que generan los agentes y las medidas que se toman para deshacerse de sus impactos.

3. Resultados

3.1. Neblinómetro

Una herramienta para promover el desarrollo social sustentable y satisfacer la necesidad de agua para riego a bajo costo para los cultivos de cooperativas agrícolas, es el diseño de un neblinómetro que, permite la mayor captación de agua por rocío y niebla a través de una malla de polietileno, la cual, atrapa la niebla y el agua por medio del viento y la condensa para posteriormente conducir el líquido a un contenedor. El costo de elaboración de un neblinómetro es aproximadamente de $1,000.oo

El neblinómetro está compuesto por malla de polietileno con un porcentaje de sombrea del 50% con un entramado triangular, la medida es de 1 metro de alto por 1 metro de ancho; la malla se coloca en una estructura que se utiliza como soporte, compuesta por tres lados que pueden ser de madera o de metal, dos postes iguales de 4 metros de alto y una base de 1 metro de largo. La malla se sujeta de cada uno de sus cuatro extremos de los dos postes a 2 metro de altura del nivel del suelo; los dos postes de la estructura deben cimentarse en dos agujeros en la tierra a 1 metro de profundidad; De acuerdo a la investigación de Castillo y Cabeza (2016) el neblinómetro debe contar con una canaleta en tubo de 4” que recibe el agua condensada que desciende por las mallas, una bajante de 2” que transportara el agua hacia el contenedor que recolecta el agua, el garrafón debe cimentarse para evitar que, por la acción del viento se derrame el agua recolectada.

El neblinómetro debe instalarse en una zona despejada hacia la dirección predominante del viento. Castillo y Cabeza (2016) observaron que, los neblinómetros ubicados a menor altura sobre el nivel del mar recolectaron mayor cantidad de agua. También compararon la eficacia de dos materiales de mallas, de polietileno y de polipropileno, resultando más eficiente con mayor recolección de agua la malla de polietileno.

Se está realizando esta investigación para innovar en el proceso de producción de las cooperativas agrícolas y los cultivos domésticos, combinando el proceso con la tecnología del neblinómetro, reduciendo así el costo del agua necesaria para el riego de las parcelas domésticas eliminando el uso de agua de la toma pública o de la compra de pipas de agua. Con dicha reducción de costos mejorará la competitividad de las cooperativas agrícolas en el mercado, dando acceso a más personas a comprar alimentos libres de pesticidas. El neblinómetro también promueve la conservación de las fuentes naturales de recursos para el riego de los cultivos con el uso del viento, el rocío y niebla con base en un balance material sustentable que se conserva y se renueva constituyendo una base ecológica de la economía.

Las cooperativas agrícolas desempeñan un papel importante en la reestructuración de las relaciones sociales de producción, deben realizar una producción ecológica derivadas de las necesidades de reposición y el buen uso de los recursos; dicha restructuración es la base para alcanzar un desarrollo social sustentable, pues promueven la igualdad al consumo de alimentos seguros, el acceso de los pequeños productores y grupos marginados a los mercados, mediante la creación de empleo rural sostenible ya que, es donde principalmente se desempeña el sector agrícola.

3.2. Cooperativas agrícolas

Una cooperativa es aquella que se constituye por un grupo de personas que se asocian para producir y comercializar productos, con el fin de obtener un precio justo por sus productos y que obtengan un lucro. Tienen aspiraciones sociales, y su funcionamiento y estructura son totalmente democráticos.

Existen varios tipos de cooperativas, entre ellas encontramos las clasificadas de primer nivel que, se centran en la producción de alimentos. Su objetivo principal es obtener beneficios reales, así como salvaguardar económicamente el futuro de la organización. Se busca cumplir con dicho objetivo manteniendo dentro de la cooperativa un enfoque comunitario que atienda siempre las necesidades de los socios. Transforman la actividad humana creando medios de consumo en un ciclo perpetuo en un ecosistema.

Una gran problemática que enfrenta el producir alimentos libres de residuos son los altos costos de producción, por lo que repercuten en la comercialización, ya que no puede competir con los bajos precios de la industria alimenticia. Es así como adquiere importancia la participación conjunta de grupos interdisciplinarios que aporten a las cooperativas tecnología, herramientas y métodos de producción que coadyuven a la disminución de costos y puedan reducir los precios a los cuales ofrecen los alimentos aumentando así la competitividad en el mercado de sus productos.

Es prioridad que, las cooperativas de primer nivel cumplan el objetivo sustentable de crear bienes de consumo naturales, promuevan la conservación de las fuentes naturales sumando a sus procesos herramientas y tecnologías para el uso sustentable de los recursos naturales necesarios para su producción e implementen el uso de recursos naturales como los biopesticidas y el estiércol.

Con esto no solo se obtiene un mayor cuidado del medio ambiente que beneficie al planeta y a la sociedad, sino también garantiza una mayor calidad y frescura de los productos que consumimos, disminuye los costos de producción, genera empleos y da acceso a la seguridad alimentaria para los productores y los consumidores.

Se ha demostrado que las cooperativas agrícolas son un factor clave para reducir el hambre y la pobreza, puesto que, los pequeños campesinos obtienen grandes beneficios, incluyendo la capacidad de negociación y el compartir recursos, lo cual ayuda a que millones de ellos alcancen la seguridad alimentaria y reduzcan su pobreza (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], Fondo Internacional para el Desarrollo Agrícola [FIDA], Programa Mundial de Alimentos [PMA], 2011).

Mediante las cooperativas los pequeños campesinos pueden negociar mejores condiciones en los contratos agrícolas, asegurarse el derecho a la tierra, mejores oportunidades de mercado, precios más reducidos para insumos como semillas, fertilizantes y equipos.

3.3. La agricultura y la sustentabilidad

El sistema capitalista obtiene ganancias tanto de la producción como del consumo agrícola y a su vez, todo lo que esta en la industria proviene del sector primario; en ambos casos ineficiente. La agricultura con químicos y la industria inorgánica crecen con el capitalismo y aumenta el derroche y el despilfarro de los recursos naturales.

El crecimiento económico y la producción basada en la explotación indiscriminada de los recursos naturales, incluyendo los tratamientos artificiales, el uso excesivo y contaminación del agua, obligan a la población a pagar las externalidades negativas económicas y sociales.

El sistema económico de producción, reproducción y distribución económica destruye los recursos naturales y merma la calidad de vida de las personas. Para dar solución a lo anterior es necesario la transformación de las relaciones con las condiciones naturales. La sustentabilidad social, implica pensar no solo en el proceso de transformación de la naturaleza por el hombre, sino en todos los aspectos de la vida sociocultural y es por eso que, el desarrollo sustentable propone cambiar la sociedad, en donde actualmente las contradicciones sociales son la fuente de los desequilibrios ambientales, pues la distribución inequitativa del ingreso y la extrema riqueza se encarga de distorsionar la realidad, creando formas sociales y de producción antiecológicas; a pesar de que, en la producción se usen procesos ecológicos, pues el Global Wealth Report 2014 de Credit Suisse (como se citó en Esquivel, 2015) señala que, "el 10% más rico de México concentra el 64.4% del total de la riqueza del país" (p.16). En cuanto a la pobreza resultado de esta desigualdad en la distribución del ingreso, también genera la necesidad de depredar y contaminar.

El desarrollo sustentable tiene como objetivo revertir esta relación, buscando el equilibrio entre la capacidad productiva del ecosistema agrícola y la capacidad productiva del trabajo, satisfaciendo las necesidades individuales y sociales básicas. Pues, en el ecosistema la energía productiva entendida como los medios de producción y consumo naturales se conserva y se renuevan.

La protección ambiental debe sustentarse en un cambio de las relaciones sociales en consonancia con la reproducción natural, mejorando las condiciones y las relaciones naturales en que se reproduce la sociedad y que permita disminuir la depredación de la naturaleza.

La reproducción de la sociedad se realiza garantizando principalmente la educación, el empleo, la alimentación y la salud; una sociedad que no garantiza estas variables se dirige a mantener patrones sociales y económicos desiguales promoviendo la pobreza. La sustentabilidad social tiene como objetivo transformar a la sociedad para alimentarla en el futuro, ya que, cada vez aumenta más el desempleo y su impacto será mayor por la presión social de grupos que están accediendo a mayor información y conocimiento.

Por lo tanto, al desarrollo sustentable, no podemos verlo como un proceso para sostener y potenciar la producción, reduciendo el costo ecológico, compensando de manera parcial los recursos naturales, pero manteniendo un oneroso y destructivo sistema socioeconómico; de ahí que, implica transformaciones que son imprescindibles en el plano económico, político e institucional.

3.4. Economía de la naturaleza

La economía es parte integrante de la ecología, está en función de dar prioridad a la naturaleza por medio de un enfoque sustentable y no así a la acumulación de riqueza, en esta acumulación desigual se establece la base de la comprensión del comportamiento social y su interacción con los recursos naturales; es prioritario para un cambio estructural social y económico considerar la necesidad de no rebasar los límites de explotación y uso de los recursos naturales para ofrecer externalidades positivas a la sociedad.

El valor ecológico está dado por la utilización potencial productiva y las condiciones socio-ecológicas que generan la reproducción del ecosistema y su equilibrio, en la economía de la naturaleza, el valor ecológico depende de la preservación de los recursos naturales en equilibrio con la producción, entendiéndolo como las externalidades positivas de este equilibrio que constituyen los beneficios económicos y sociales que le atribuyen la explotación y preservación de los recursos naturales.

4. Conclusiones

Para realizar los cambios necesarios para alcanzar un desarrollo sustentable, es imprescindible insistir en la innovación del proceso de producción de las cooperativas agrícolas en combinación con la tecnología del neblinómetro.

Investigar e innovar en cuanto al uso y aplicación de fuentes de energía como el viento y la obtención de agua para riego en cultivos domésticos dirigidos a cooperativas o el autoconsumo son puntos clave para la protección de los recursos naturales, la seguridad alimentaria y el derecho a la salud, necesarios en la economía de la naturaleza y el desarrollo social sustentable.

La subordinación a la naturaleza es la diferencia específica entre el actual estilo de producción depredador y el nuevo que, permita la compatibilización con los recursos naturales, los procesos tecnológicos y físicos que involucran.

La restauración de los ecosistemas naturales-sociales es esencial en la transformación decisiva de la sociedad y para ello es necesaria la reducción en la explotación del agua, aumento en el uso de energías y reducción de la contaminación. Todo ello con el fin de alcanzar la óptima eficiencia tanto económica, como ecológica, energética y social.

No se debe enseñar la explotación, debe enseñarse el cultivo de la tierra y del hombre.

5. Referencias bibliográficas

Alianza cooperativa Internacional. (2015). *Oficial de la FAO recalca el papel de las cooperativas en erradicar el hambre.* Recuperado de: https://www.ica.coop/en/node/12282

Castillo, Yudy & Cabeza; Cony. (2016). *Diseño de un sistema de recolección de agua por rocío y niebla para el abastecimiento de agua en la comunidad del barrio la Esperanza, localidad de Chapinero*. Universidad la Gran Colombia, Bogotá, Colombia.

Esquivel, Gerardo. (2015). *Concentración del Poder Económico y Político*. México: OXFAM de México.

Hernández, Roberto. (2014). *Metodología de la investigación*. México: McGraw Hill.

Katz, Claudio. (2016, julio). El surgimiento de las teorías de la dependencia. *Revista O OLHO da Historia*. Recuperado de: http://oolhodahistoria.ufba.br/wp-content/uploads/2016/07/Surgimento-teorias-dependencia-C-Katz.pdf

Martínez, Joan & Roca, Jordi. (2015). *Economía ecológica y política ambiental*. Recuperado de: https://books.google.com.mx/books?hl=en&lr=&id=dvoTDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT53&dq=econom%C3%ADa+ecol%C3%B3gica&ots=4lxaTaCgPI&sig=4ij9NV8TsKUPc74MJxO7yQOTwWU&redir_esc=y#v=onepage&q=econom%C3%ADa%20ecol%C3%B3gica&f=false

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2014). *El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo. Fortalecimiento de un entorno favorable para la seguridad alimentaria y la nutrición.* Recuperado de: http://www.fao.org/3/a-i4030s.pdf

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2019). *Cooperativas y Organizaciones de Productores*. Recuperado de: https://elcapitalfinanciero.com/fao-y-cepal-destacan-labor-de-cooperativas/

Parkin, Michael. (2018). *Economía*. México: Editorial Pearson.