



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

Dirección de  
**Investigación y Posgrado**

VOLUMEN XVIII | NÚMERO 1 | PUBLICACIÓN CONTINUA 2024



# TECNOCIENCIA CHIHUAHUA

Revista de ciencia y tecnología



**DORA**



**Crossref**



**DOAJ**



Matriz de Información para el  
Análisis de Revistas



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA



Instituto de Revistas Latinoamericanas en Ciencias



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

**Directorio Institucional**

**Mtro. Luis Alfonso Rivera Campos**

*Rector*

**C.P. Jesús Ignacio  
Rodríguez Bejarano**

*Secretario General*

**Lic. Martha Lorena Mier  
Calderón**

*Directora Académica*

**Dr. Luis Carlos Hinojos  
Gallardo**

*Director de Investigación y  
Posgrado*

**L.A.E. Alberto Eloy  
Espino Dickens**

*Director Administrativo*

**Dra. Ruth del Carmen  
Grajeda González**

*Directora de Extensión y  
Difusión Cultural*

**M.A.P. Marcela Herrera  
Sandoval**

*Directora de Planeación y  
Desarrollo Institucional*



**TECNOCIENCIA CHIHUAHUA**  
Revista de ciencia y tecnología

**Equipo Editorial**

*Editor responsable*

**Dr. Armando Quintero Ramos**, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII III)

*Asistente editorial*

**M.E.S. Nancy Karina Venegas Hernández**, Universidad Autónoma de Chihuahua, México.

*Co-editores*

**Dr. Rubén Francisco González Laredo**, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel III)

**Dr. Javier Tarango Ortiz**, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII, Nivel II)

*Corrector de Estilo*

**Dr. Fidel González Quiñones**, Universidad Autónoma de Chihuahua, México. (SNII, Nivel I)

# EQUIPO EDITORIAL

- **Alimentos y Biotecnología**

**Dr. Benjamín Ramírez Wong**, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México. (SNII, Nivel III).

**Dr. José Alberto Gallegos Infante**, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel III)

**Dr. José Rafael Minjares-Fuentes**, Universidad Juárez del Estado de Durango, Gómez Palacio, Durango, México. (SNII, Nivel I)

**Dra. María Marcela Rodríguez**, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Argentina.

**Dra. Valeria Soledad Eim Iznardo**, Universidad de las Islas Baleares, Islas Baleares, España.

**Efrén Delgado, Ph.D.**, New Mexico State University, Las Cruces, NM. Estados Unidos de Norteamérica.

**Dra. Elizabeth Carvajal Millán**, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México. (SNII, Nivel III).

**Dr. Fernando Martínez Bustos**, CINVESTAV, Unidad Querétaro, Querétaro, México. (SNII, Nivel III)

**Dr. León Raúl Hernández Ochoa**, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNII, Nivel I)


**Dr. José de Jesús Zazueta Morales**, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán México. (SNII, Nivel I)

**Dr. Diego Bautista Genovese**, [PLAPIQUI] Planta Piloto de Ingeniería Química-CONICET, Bahía Blanca Argentina.

**Dra. Aracely Ochoa Martínez**, Instituto Tecnológico de Durango, Durango, México. (SNII, Nivel II)

**Dra. Deborah Murowaniecki Otero**, Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahía, Brasil.

**Dr. René Renato Balandrán Quintana**, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (SNII, Nivel I)



- **Agricultura y Agropecuaria**

**Dr. Gerardo Méndez Zamora**, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. (SNII, Nivel I)

**Dr. Guillermo Fuentes Dávila**, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.

**Dr. Víctor Arturo González Hernández**, Colegio de Posgraduados. Estado de México, México (SNII, Nivel III)

**Dra. Yolanda Salinas Moreno**, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Departamento de Genética, México. (SNII, Nivel III)

- **Química y Biología**

**Dr. Eleuterio Burgueño Tapia**, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. México. (SNII, Nivel II)

**Nadezhda Traycheva Petkova, PhD.**, University of Food Technologies, Technological Faculty, Department of Organic Chemistry and Inorganic Chemistry, Bulgaria.

**Dr. Ricardo Vázquez Juárez**, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR), México. (SNII, Nivel II)

**Dra. Carmen Oralía Meléndez Pizarro**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel II)

**Dr. David Morales Morales**, Universidad Nacional Autónoma de México (SNII, Nivel III).

**Dr. René Rojas Guerrero**, Pontificia Universidad Católica de Chile: Santiago, Metropolitana, CL

**Prasenjit Ghosh, Ph.D.** Indian Institute of Technology Bombay: Mumbai, Maharashtra, IN

**Dr. Johan Mendoza Chacón**, Universidad Autónoma de Chihuahua (SNII, Nivel I)

- **Salud y Cultura Física**

**Dr. Julián Esparza Romero**, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C (CIAD). Unidad Hermosillo, Sonora. México (SNII, Nivel II)

**Dra. Carolina Jiménez Lira**, Universidad Autónoma de Chihuahua.( SNII, Nivel I)

**Dra. Jazmín Leticia Tobías Espinoza**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Candidato a Investigador)

**Dr. Arnulfo Ramos Jiménez**, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. (SNII, Nivel I)

**Dra. Silvia Giono Cerezo**, Instituto Politécnico Nacional. (SNII, Nivel II)

**Dra. América Chávez Martínez**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel I)

**Dra. Susana Aideé González Chávez**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel II)

**Dra. Mercedes Bermúdez Cortés**, Universidad Autónoma de Chihuahua. (SNII, Nivel I)

#### • **Ingeniería y Recursos Naturales**

**Dr. Francisco Paraguay Delgado**, Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) Chihuahua, México. (SNII, Nivel III)

**Dr. Vladimir Villarreal Contreras**, Universidad Tecnológica de Panamá. Panamá

**Dr. Jesús Darío Landa Silva**, School of Computer Science, University of Nottingham, Reino Unido.

**Dr. Humberto González Rodríguez**, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. (SNII, Nivel II)

**Dra. Mérida Gutierrez**, Missouri State University, Springfield, MO, USA.

**Dr. Sergio Valle Cervantes**, Instituto Tecnológico de Durango (SNII, Nivel I)

#### • **Tecnología**

**M.C. Ricardo Talamás Abbud**, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México



## CONTENIDO

### Definición de la revista

2

### Salud

Eficiencia antiinflamatoria de dexametasona 1.0 mg/ml vs bromfenaco 0.9 mg/ml administrados previo a la facotrabeculectomía en pacientes con Glaucoma e1318

Anti-inflammatory efficacy of dexamethasone 1.0 mg/ml vs bromfenac 0.9 mg/ml administered prior to phacotrabeculectomy in patients with Glaucoma

Estephanye Celina Miranda-Haro, Jesús Montero-Vela, Karla Gabriela Chávez-Gutiérrez, Efraín Romo-García, José Natividad Moreno-Zazueta, Erik René Lizárraga-Verdugo, José Alfredo Contreras-Gutiérrez, Héctor Melesio Cuén-Díaz, José Ricardo Zataráin-López, Saúl Armando Beltrán-Ontiveros

### Agropecuaria

Extracción de ADN total de formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* L., con el método CTAB e1374

Extraction of total DNA from wild forms of *Phaseolus vulgaris* L., with the CTAB method

Liliana Wallander-Compeán, Norma Almaraz-Abarca, José Antonio Ávila-Reyes, Erika Berenice León-Espinosa

Caracterización estomática de poblaciones de pasto Lobero e1376  
[*Muhlenbergia phleoides* (Kunth) Columbus] en el estado de Chihuahua, México

Stomatal characterization of wolfgrass [*Muhlenbergia phleoides* (Kunth) Columbus] populations in northern Mexico

Jaime Neftalí Márquez-Godoy, Carlos Raúl Morales-Nieto, Raúl Corrales-Lerma, Alan Álvarez-Holguín



## Ingeniería y Tecnología

Temporal evolution of nitrate in Meoqui-Delicias aquifer in Chihuahua, Mexico e1415

Evolución temporal de nitrato en el acuífero Meoqui-Delicias en Chihuahua, México

María Socorro Espino-Valdés, Nayeli Villalobos-Gutiérrez, Mélida Gutiérrez, Humberto Silva-Hidalgo, Adán Pinales-Munguía

## Química y Recursos Naturales

Estimación y modelación de emisiones de calderas de una comercializadora de combustibles e1324

Estimation and modeling of boiler emissions of a Fuel Trader

Lester Rivas-Trasancos, Yamila Navarro-Sosa, Miguel Ángel Díaz-Díaz, Octavio del Sol Ortega

Modelos murinos de diabetes para el estudio de compuestos bioactivos e1402

Murine models of diabetes for the study of bioactive compounds

Luis Fernando López-Soto, Carmen Candia-Plata, Viviana Reyes-Márquez, Jeanette Arredondo-Damián, Ana Lourdes Mata-Pineda, Gerardo Álvarez-Hernández, Rafael Lorenzana-Basaldúa, Adriana Soto-Guzmán



## DEFINICIÓN DE LA REVISTA

TECNOCENCIA CHIHUAHUA, es una revista multidisciplinaria, de publicación continua, que publica artículos y notas científicas, así como artículos de revisión *por invitación* originales e inéditos, en español e inglés, en formato electrónico de acceso abierto.

El objetivo de TECNOCENCIA CHIHUAHUA es divulgar los resultados y avances de investigación originales e inéditas en las áreas temáticas de Alimentos, Biológica, Salud, Agropecuaria, Cultura Física, Ingeniería y Tecnología, Química y Recursos Naturales, dirigidos a investigadores, académicos, estudiantes y público con interés científico.

El contenido científico y calidad de los artículos son evaluados a través de un proceso de arbitraje de forma anónima en la modalidad de doble ciego por al menos dos árbitros especializados en la materia.

La revista TECNOCENCIA CHIHUAHUA es editada y financiada por la Dirección de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Chihuahua, México. La revista está adherida a la Declaración de San Francisco a través de DORA (Declaration on Research Assessment) se encuentra indexada en índices y portales especializados como DOAJ (Directory of Open Access Journals), MIAR (Matriz de Información para el Análisis de Revistas), Latindex 2.0, Periódica y en Redes Académicas como Biblat, Google Académico y Academia. La revista cuenta con el DOI (Digital Object Identifier) a través de la organización internacional Crossref.



Artículo Científico

# Eficiencia antiinflamatoria de dexametasona 1.0 mg/ml vs bromfenaco 0.9 mg/ml administrados previo a la facotrabeculectomía en pacientes con Glaucoma

Anti-inflammatory efficacy of dexamethasone 1.0 mg/ml vs bromfenac 0.9 mg/ml administered prior to phacotrabeculectomy in patients with Glaucoma

Estephanye Celina Miranda-Haro<sup>1</sup>, Jesús Montero-Vela<sup>1</sup>, Karla Gabriela Chávez-Gutiérrez<sup>1</sup>, Efraín Romo-García<sup>1,2</sup>, José Natividad Moreno-Zazueta<sup>3</sup>, Erik René Lizárraga-Verdugo<sup>3</sup>, José Alfredo Contreras-Gutiérrez<sup>3</sup>, Héctor Melesio Cuén-Díaz<sup>3</sup>, José Ricardo Zataráin-López<sup>3</sup> y Saúl Armando Beltrán-Ontiveros<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Hospital Civil de Culiacán/Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Servicio de Oftalmología, Departamento de Retina y Vítreo, Culiacán, Sinaloa, México.

<sup>2</sup> Hospital Oftalmológico de Sinaloa, Departamento de Retina y Vítreo, Culiacán, Sinaloa, México.

<sup>3</sup> Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán Rosales 80030, Sinaloa, México.

\*Correspondencia: [saúl.beltran@uas.edu.mx](mailto:saúl.beltran@uas.edu.mx) (Saúl Armando Beltrán Ontiveros)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i1.1318>

Recibido: 01 de septiembre de 2023; Aceptado: 09 de noviembre de 2023

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado

Editora de Sección: Dra. Mercedes Bermúdez-Cortés

## Resumen

El tratamiento del glaucoma se realiza mediante medicamentos tópicos y sistémicos, láser o cirugía. El control de la inflamación es fundamental para la curación después de la cirugía. Nuestro objetivo fue comparar la eficiencia del uso de dexametasona vs bromfenaco como antiinflamatorios prequirúrgicos. Se realizó un ensayo clínico controlado, aleatorizado y no ciego, se incluyeron pacientes que acudieron al servicio de oftalmología del Hospital Civil de Culiacán con glaucoma primario, de noviembre a diciembre de 2022. Mediante una tabla de aleatorización se asignaron de la siguiente manera: Grupo 1, dexametasona oftálmica 1.0 mg/ml; Grupo 2, bromfenaco oftálmico 0.9 mg/1ml; ambos una semana antes de la cirugía. Se clasificaron según la escala de Wuerzburg al día 7 y 30 postquirúrgico, para valorar la ampolla filtrante. Resultados: se incluyeron un total de 30 ojos, 15 en el grupo 1 y 15 en el grupo 2. La puntuación en el grupo 1 el día 7 postquirúrgico fue de

6.8±1.6 y en el grupo 2 fue de 7.5±2 (p=0.267). En el día 30 postquirúrgico, la puntuación fue de 6.5±2 en el grupo 1 y 7.2 ±1.7 en el grupo 2 (p=0.288). No se presentó significancia estadística entre los tratamientos, ambos son efectivos para la formación de la ampolla filtrante.

**Palabras clave:** dexametasona, bromfenaco, antiinflamatorio, glaucoma, trabeculectomía.

## Abstract

The treatment of glaucoma is through topical and systemic medications, laser, or surgery. Controlling inflammation is crucial for healing after surgery. Our objective was to compare the efficacy of using dexamethasone versus bromfenac as preoperative anti-inflammatory agents. We conducted a controlled, randomized, non-blinded clinical trial. Patients who visited the ophthalmology department of Culiacan Civil Hospital with primary glaucoma from November to December 2022 were included. Using a randomization table, they were assigned as follows: Group 1, ophthalmic dexamethasone 1.0 mg/ml; Group 2, ophthalmic bromfenac 0.9 mg/1ml; both administered one week before surgery. They were classified according to the Wuerzburg scale on postoperative days 7 and 30 to assess filtering bleb. Results: A total of 30 eyes were included, 15 in Group 1 and 15 in Group 2. The score in Group 1 on postoperative day 7 was 6.8±1.6, and in Group 2, it was 7.5±2 (p=0.267). On postoperative day 30, it was 6.5±2 in Group 1 and 7.2±1.7 in Group 2 (p=0.288). There was no statistical significance between the treatments; both were effective in the formation of the filtering bleb.

**Keywords:** dexamethasone, bromfenac, anti-inflammatory, glaucoma, trabeculectomy.

## 1. Introducción

El glaucoma es una enfermedad ocular neurodegenerativa que se caracteriza por pérdida progresiva de células ganglionares de la retina y cambios característicos en el tejido neurorretiniano de la cabeza del nervio óptico (McMonnies, 2017). Estas alteraciones son identificadas y detectadas en el campo visual como resultado o consecuencia de una elevación de la presión intraocular (Wang *et al.*, 2018a).

El glaucoma ocupa el segundo lugar como causa de ceguera a nivel mundial, después del primer lugar que es la catarata, y primer lugar de ceguera prevenible (Sasase *et al.*, 2023). Se calcula que a nivel mundial hay 57.5 millones de personas con glaucoma y por cada 1,000 personas, aproximadamente ocho se encuentran afectadas. Recientemente, se informó que habría un estimado de 79.6 millones de personas con glaucoma para 2020 y de 111.8 millones de casos para 2040 (Wang *et al.*, 2018b; Murthy *et al.*, 2022). En lo referente a Latinoamérica, se estima que en 2020 más de 8 millones de personas se encontrarían diagnosticados con glaucoma, teniendo una prevalencia de 3.6 % en personas mayores de 40 años (Almatlough *et al.*, 2019).

El glaucoma se divide en primario y secundario, y este trabajo se centra en el glaucoma primario, que tiene dos tipos: de ángulo abierto y de ángulo cerrado. En el glaucoma de ángulo abierto, la resistencia a la salida del humor acuoso aumenta a través del trabéculo, mientras que en el de ángulo cerrado, el acceso a las vías de drenaje se bloquea generalmente por el iris.

La presión intraocular puede dañar estructuras como la lámina cribosa, por donde pasan las fibras del nervio óptico, lo que provoca compresión y daño axonal mecánico secundario. El tratamiento se centra en controlar la presión intraocular mediante medicamentos tópicos y sistémicos para proteger el nervio óptico.

La trabeculectomía es la técnica filtrante más utilizada en la cirugía antiglaucomatosa (Levkovitch-Verbin *et al.*, 2013). Consiste en la creación de un drenaje externo hacia el espacio subconjuntival, que da lugar a la formación de una elevación conjuntival denominada ampolla filtrante. (Pereira *et al.*, 2022; Saeed *et al.*, 2023). La ampolla filtrante es un área sobre elevada de la conjuntiva situada sobre la zona de drenaje del humor acuoso. Nos refiere la eficacia funcional de la cirugía filtrante ya que elimina el humor acuoso por cuatro rutas: transconjuntival, venosa, linfática y probablemente, uveoescleral (Leung y Tham, 2013).

La filtración de la ampolla se da de forma controlada por un colgajo escleral que se localiza en la superficie donde se realizó la esclerotomía (Yuen *et al.*, 2011). A pesar de las disminuciones iniciales en la presión intraocular como resultado del aumento del flujo de salida acuoso, una de las respuestas activadas incluye la mediación de citoquinas proinflamatorias y profibrogénicas en el humor acuoso a través de una ventana de esclerotomía, su liberación esta mediada por células locales, así como la infiltración de células inmunes activadas (Yamanaka *et al.*, 2015).

El Wuerzburg Bleb Classification Score (WBCS) es un sistema de calificación estandarizado basado en la clasificación de ampollas desarrollada por Picht y Grehn (Pérez Rangel *et al.*, 2020). La evaluación de la ampolla según el WBCS incluye aspectos como la vascularización, los vasos en espiral, la encapsulación y los microquistes. Según esta clasificación, las ampollas de filtración con resultados favorables muestran una mayor cantidad de microquistes, una menor presencia de vasos conjuntivales y en espiral, una menor incidencia de encapsulación y una altura reducida en comparación con las ampollas de filtración con resultados desfavorables (Furrer *et al.*, 2012).

La principal causa de fracaso durante la trabeculectomía es la fibrosis de la ampolla filtrante. Se han desarrollado distintas estrategias que modulan la cicatrización conjuntival y epiescleral para prolongar la supervivencia de la ampolla y por consiguiente, la función visual del paciente con glaucoma (Lusthaus *et al.*, 2010; Zada *et al.*, 2018).

Los corticoides son un grupo sintético de medicamentos que interfieren en procesos de inflamación, de inmunomodulación e inhibición de la cicatrización de heridas (Furino *et al.*, 2016; Jóhannesson *et al.*, 2020). Se usan muy frecuentemente por vía tópica en el postoperatorio de trabeculectomía con el objetivo de reducir la presión intraocular (London *et al.*, 2011; Groth *et al.*, 2019). Por otro lado, los fármacos antiinflamatorios no esteroideos tienen efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético. Esto a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa, evitando así productos del metabolismo del ácido araquidónico como lo son las prostaglandinas y tromboxanos (Breusegem *et al.*, 2010).

En un estudio compararon la eficacia y seguridad del fosfato sódico de dexametasona al 0.1 % tópica con el diclofenaco sódico al 0.1 % (Levkovitch-Verbin *et al.*, 2013). Se encontró que ambos tratamientos fueron eficaces para reducir la presión intraocular (PIO), disminuir el número de medicamentos para el glaucoma y mejorar la agudeza visual. Sin embargo, el grupo de dexametasona requirió un número promedio de medicamentos mayor que el grupo de diclofenaco. No hubo diferencias significativas en la PIO entre los grupos.

Otros estudios han comparado el uso de AINES (Medicamentos antiinflamatorios no esteroideos) tópicos (bromfenaco 0.1 % o ketorolaco 0.45 %) con esteroides tópicos en la cirugía de cataratas. Se encontró que el uso de AINES resultó en una mejor reducción de la inflamación postoperatoria, control del grosor macular y estado de la superficie ocular (Jung *et al.*, 2015; Aptel *et al.*, 2017). En el estudio LEADER7, se evaluó la eficacia de la dexametasona en la modulación de la inflamación después de la cirugía de cataratas. Se encontró que la dexametasona administrada antes y después de la cirugía resultó en una disminución de la presión intraocular y mejores resultados visuales (Levkovitch-Verbin *et al.*, 2013). No se observaron efectos adversos significativos en el grupo de dexametasona (Walter *et al.*, 2020). Sin embargo, no se ha comparado la eficacia de la dexametasona vs el bromfenaco. Por lo que este trabajo de investigación tiene como objetivo comparar la eficacia de dexametasona 1.0 mg/ml vs bromfenaco 0.9 mg/ml como antiinflamatorios prequirúrgicos y su influencia en las características de la ampolla filtrante.

## 2. Materiales y métodos

Se trató de un ensayo clínico controlado, experimental, comparativo, longitudinal, prospectivo y aleatorizado, pero no ciego. El presente proyecto de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Hospital Civil de Culiacán, en el servicio de Oftalmología. Se incluyeron todos los pacientes que acudieron al servicio de oftalmología del Hospital Civil de Culiacán y que fueron diagnosticados con glaucoma primario mediante interrogatorio y exploración oftalmológica, cumpliendo con los criterios de inclusión establecidos para la investigación en el periodo comprendido entre el 10 de noviembre y el 16 de diciembre de 2022. Los pacientes incluidos podían ser de cualquier edad y sexo, con diagnóstico de glaucoma primario y estaban siendo tratados con beta bloqueadores, alfa 2 agonistas, inhibidores de la anhidrasa carbónica y análogos de las prostaglandinas. Además, debían aceptar someterse a la cirugía y al seguimiento un mes después del procedimiento, y firmar un consentimiento informado.

Se excluyeron pacientes con glaucoma secundario, aquellos que habían sido sometidos previamente a cirugía retiniana o de catarata, los que tenían un solo ojo funcional, antecedentes de queratitis herpética y/o alergia a los medicamentos utilizados en el estudio. También se eliminaron aquellos pacientes que abandonaron el tratamiento, a quienes ya no fue posible darles seguimiento o que presentaron síntomas de alergia a cualquiera de los medicamentos utilizados.

Una vez que se capturaron los pacientes que cumplían con los criterios de inclusión del protocolo, se procedió a obtener la firma del consentimiento informado por parte del paciente. Posteriormente, se recopiló la siguiente información en una hoja de recolección de datos diseñada específicamente para el estudio: datos demográficos (edad y sexo), datos clínicos (fecha de valoración clínica, grupo de tratamiento, fecha de inicio de tratamiento, ojo afectado, tratamiento hipotensor previamente utilizado, presión intraocular prequirúrgica). Luego, se asignó a cada paciente a un grupo de tratamiento utilizando una tabla de aleatorización de grupos y, después de la cirugía, se recopilaron los datos clínicos postquirúrgicos (presión intraocular, características de la ampolla filtrante: color, forma, elevación, diámetro).

El tratamiento asignado a cada paciente se llevó a cabo de la siguiente manera:

### **Grupo de tratamiento 1:**

Se indicó tratamiento con dexametasona oftálmica 1.0 mg/ml, con una dosis de una gota cada seis horas, una semana antes de la cirugía de facotrabeculectomía. Se midió la presión intraocular al iniciar el tratamiento en el día siete previo a la cirugía. Posteriormente, se realizó otra medición de la presión intraocular en el día siete y 30 después de la cirugía, con el fin de analizar y evaluar las características de la ampolla filtrante en cada una de ellas.

### **Grupo de tratamiento 2:**

Se indicó tratamiento con bromfenaco oftálmico 0.9 mg/1ml, con una dosis de una gota cada ocho horas, una semana antes de la cirugía de facotrabeculectomía. Se midió la presión intraocular al iniciar el tratamiento en el día siete previo a la cirugía. Posteriormente, se realizó otra medición de la presión intraocular en el día siete y 30 después de la cirugía, con el fin de analizar y evaluar las características de la ampolla filtrante en cada una de ellas. En ambos grupos, se determinó la influencia de la administración de hipotensores oculares y si existía alguna relación con la función de la ampolla filtrante.

### **Análisis de datos**

Los datos fueron analizados utilizando el programa SPSS V25. Se empleó estadística descriptiva para analizar los datos, utilizando medidas de tendencia central (como medias) y dispersión de los datos (como desviaciones estándar) en el caso de variables continuas. Para las variables categóricas, se utilizaron frecuencias y proporciones. Se realizó una prueba exacta de Fisher para las variables categóricas. Para las variables continuas se compararon utilizando una prueba T de Student de grupos independientes. Se analizaron los datos binarios para proporcionar un estadístico de los coeficientes de riesgo relativo (RR) y los intervalos de confianza del 95 % (IC) asociados. Se indicó una significancia estadística con un valor de  $p < 0.05$ .

## **3. Resultados y discusión**

En este estudio se incluyeron un total de 30 ojos de 30 pacientes de la consulta de glaucoma. Estos pacientes estaban programados para someterse a una cirugía de facotrabeculectomía y se les realizó una exploración oftalmológica completa, incluyendo la medición de la presión intraocular 7 días antes del procedimiento. Se repitió la exploración oftalmológica y la medición de la presión intraocular en los días 7 y 30 posteriores a la cirugía, con el fin de analizar las características clínicas de la ampolla de filtración y su permeabilidad, y evaluar la probabilidad de éxito quirúrgico utilizando la escala de Würzburg. En la tabla 1 se pueden observar las características epidemiológicas de los participantes en el estudio, así como la lateralidad del ojo estudiado y el tratamiento hipotensor previo que recibieron antes de ser incluidos en esta investigación.

**Tabla 1.** Distribución por género, edad, lateralidad y tratamiento hipotensor previo a la cirugía, de los ojos estudiados.

**Table 1.** Distribution by gender, age, handedness, and prior antihypertensive treatment of the studied eyes.

|   |               | <b>Frecuencia (porcentaje %)</b> |
|---|---------------|----------------------------------|
| <b>Parámetro</b>                            |               | <b>n=30</b>                      |
| Género                                      | Femenino      | 16 (53.3 %)                      |
|   | Masculino     | 14 (46.78 %)                     |
| Edad  | Máxima: 93    | 60.0 ( $\pm 7.1$ )               |
|   | Mínima: 56    |                                  |
| Lateralidad                                 | Ojo derecho   | 17 (56.66 %)                     |
|   | Ojo izquierdo | 13 (43.33 %)                     |
|   | Total         | 30 (100.0)                       |
| <b>Terapia hipotensora previa a cirugía</b> |               |                                  |
| Betabloqueador                              | Si            | 26 (86.7 %)                      |
| Alfa 2 agonista                             | Si            | 26 (86.7 %)                      |
| Inhibidor de anhidrasa<br>carbónica         | Si            | 23 (76.7 %)                      |
| Análogo de prostaglandinas                  | Si            | 20 (66.7 %)                      |

En el grupo de dexametasona, la presión intraocular promedio fue de 25.5 mmHg antes de la cirugía, 11.2 mmHg después de 1 semana y 12.6 mmHg después de 30 días. En el grupo de bromfenaco, la presión intraocular promedio fue de 22.9 mmHg antes de la cirugía, 10.4 mmHg después de 1 semana y 10.2 mmHg después de 30 días. Se observaron diferencias en las medias entre los grupos en las diferentes mediciones: una diferencia de -2.60 con una significancia de 0.083 antes de la cirugía, una diferencia de -0.80 con una  $p=0.560$  después de 1 semana y una diferencia de -2.40 una  $p=0.062$  después de 30 días (Tabla 2). No se observó significancia estadística entre los grupos en ningún momento de medición.

De acuerdo con las puntuaciones obtenidas mediante la escala de Würzburg, en el día 7 después de la cirugía, el grupo tratado con bromfenaco tuvo un puntaje promedio de  $7.5 \pm 2$  puntos, mientras que en el día 30, el puntaje fue de  $7.2 \pm 1.7$ . En el grupo tratado con dexametasona, el promedio fue de  $6.8 \pm 1.6$  en el día 7 después de la cirugía y de  $6.5 \pm 2$  en el día 30.

**Tabla 2.** Cifras de presión intraocular promedio y diferencia de medias en las distintas consultas oftalmológicas.  
**Table 2.** Average intraocular pressure values and mean differences at different ophthalmological consultations.

| Momento de evaluación    | Bromfenaco<br>n=15 | Dexametasona<br>n=15 | Diferencia de medias | p     |
|--------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|-------|
| Prequirúrgica            | 22.9 ±3.5          | 25.5 ±4.4            | -2.05                | 0.083 |
| Día 7<br>postquirúrgico  | 10.4 ±3.3          | 11.2 ±4.1            | -0.80                | 0.560 |
| Día 30<br>postquirúrgico | 10.2 ±2.9          | 12.6 ±3.8            | -2.40                | 0.062 |

Se observó una diferencia de medias de 0.733 en la cifra de presión intraocular entre los grupos en el día 7 postquirúrgico, con una  $p= 0.267$ . Asimismo, se registró una diferencia de 0.733 en el día 30 postquirúrgico, con una  $p= 0.288$ . Nuevamente, no se observó significancia estadística entre los grupos (Tabla 3).

**Tabla 3.** Medias de puntajes según la escala de Würzburg.  
**Table 3.** Mean scores according to the Würzburg scale.

| Evaluación postquirúrgica | Bromfenaco<br>n=15 | Dexametasona<br>n=15 | Diferencia de medias | p     |
|---------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|-------|
| Día 7<br>postquirúrgico   | 7.5 ±2             | 6.8 ±1.6             | 0.733                | 0.267 |
| Día 30<br>postquirúrgico  | 7.2 ±1.7           | 6.5 ±2               | 0.733                | 0.288 |

Los resultados revelaron una frecuencia de buen pronóstico (puntuación en la escala de Würzburg  $\geq 6$ ) en 13 ojos (86.7 %) en el grupo tratado con bromfenaco 0.9 mg/ml, y en 11 ojos (73.3 %) en el grupo tratado con dexametasona 1.0 mg/ml. Esta diferencia no mostró significancia estadística, con una  $p= 0.651$ , como se puede observar en la tabla 4. Por todo lo anterior, se determinó que la eficacia relativa de bromfenaco en comparación con la dexametasona es de  $RR = 1.18$ , con un IC del 95 % (0.82-1.70) (Tabla 5).

**Tabla 4.** Frecuencia de pronósticos por grupos según escala de Würzburg,  
**Table 4.** Frequency of prognoses by groups according to the Würzburg scale.

| Pronóstico | Bromfenaco  | Dexametasona | Total       |
|------------|-------------|--------------|-------------|
|            | n=15        | n=15         |             |
| Bueno      | 13 (86.7 %) | 11 (73.3 %)  | 24 (80.0 %) |
| Malo       | 2 (13.3 %)  | 4 (26.7 %)   | 6 (20.0)    |

**Tabla 5.** Eficacia y riesgo relativo según los grupos de estudio.  
**Table 5.** Efficacy and relative risk according to the study groups.

|                 | Porcentaje | IC               |
|-----------------|------------|------------------|
| RA control      | 73.3 %     | 51.0 a 95.7 %    |
| RA experimental | 86.7 %     | 69.5 % a 103.9 % |
| RR              | 1.18       | 0.82 a 1.70      |
| RRR             | 18.2 %     | -17.7 % a 70.1 % |
| RAR             | 13.3 %     | -14.9 a 41.6 %   |
| NNT             | 8          | -7 a 2           |

IC=Intervalo de confianza; RA control=riesgo absoluto control; RA experimental=Riesgo absoluto experimental; RR=Riesgo relativo; RRR=reducción de riesgo relativo; RAR=diferencia de riesgo absoluto; NNT=número necesario para tratar.

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que informa sobre los resultados del uso de bromfenaco 0.9 mg/ml como antiinflamatorio después de la cirugía de facotrabeulectomía y compara el pronóstico funcional de la cirugía con el uso de dexametasona 1.0 mg/ml, iniciando el tratamiento de manera prequirúrgica en ambos grupos. En este estudio, nos enfocamos en el uso de bromfenaco 0.9 mg/ml administrado 7 días antes de la cirugía de facotrabeulectomía y se continuó durante 1 mes completo después de la misma, de la misma manera que se realizó con el grupo de comparación de dexametasona 1.0 mg/ml.

En ambos grupos se encontró un buen control de la presión intraocular en cada visita médica, con una ligera predominancia en el grupo de bromfenaco 0.9 mg/ml, donde se observaron cifras más bajas de presión intraocular como se encontró en el estudio de Levkovitch y cols (Levkovitch-Verbin et al., 2013). En cuanto al pronóstico de la permeabilidad de la ampolla de filtración según el puntaje promedio de la escala de Würzburg, se mostró un puntaje promedio de buen pronóstico mayor en el grupo de bromfenaco, y un puntaje promedio de mal pronóstico menor en el mismo, en comparación con el grupo de dexametasona, de esto no se encontró algo similar en la literatura. A pesar de esto, se encontró que en ambos grupos hubo una predominancia de buen pronóstico de



éxito quirúrgico en comparación con el pronóstico de fracaso, aunque fue ligeramente mejor en el grupo de bromfenaco.

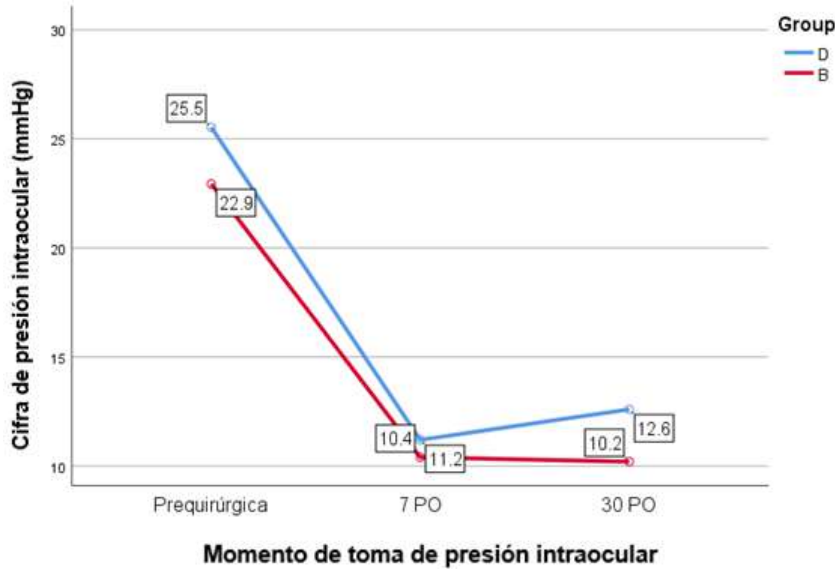


Figura 1. Distribución lineal de tomas de presión intraocular.

Figure 1. Linear distribution of average intraocular pressure measurements.

## 4. Conclusiones

En conclusión, nuestro estudio muestra que el uso de bromfenaco 0.9 mg/ml administrado antes y después de la cirugía de facotrabeculectomía en pacientes con glaucoma mejora la inflamación y cicatrización en la ampolla filtrante, lo que se traduce en un mejor control de la presión intraocular y un pronóstico funcional de la cirugía más favorable. En cada medición de la presión intraocular en los diferentes momentos postoperatorios, el grupo de bromfenaco mostró un mayor control en comparación con el grupo de dexametasona. Sin embargo, es importante mencionar que ambos grupos presentaron un control similar y la diferencia en la eficacia de los dos fármacos no fue significativa. Los resultados obtenidos no son concluyentes, por lo que se sugiere realizar más estudios para determinar las ventajas entre el uso de estos dos fármacos y su posible asociación con el tratamiento previo utilizado por los pacientes, con el objetivo de lograr una mejor estandarización de los resultados. Además, hubiera sido recomendable utilizar un mayor número de ojos en la muestra para obtener resultados más significativos.

## Conflicto de interés

En esta publicación no existe conflicto de intereses.

## 5. Referencias

- Almatlouh, A., Bach-Holm, D. & Kessel, L. (2019). Steroids and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the postoperative regime after trabeculectomy – which provides the better outcome? A systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmologica* 97(2): 146–157. <https://doi.org/10.1111/aos.13919>
- Breusegem, C., Spielberg, L., Van Ginderdeuren, R., Vandewalle, E., Renier, C., Van De Veire, S., Fieuws, S., Zeyen, T. & Stalmans, I. (2010). Preoperative nonsteroidal anti-inflammatory drug or steroid and outcomes after trabeculectomy: A randomized controlled trial. *Ophthalmology* 117(7): 1324–1330. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2009.11.038>
- Furino, C., Boscia, F., Cicinelli, M. V., Sborgia, A. & Alessio, G. (2016). Subconjunctival sustained-release dexamethasone implant as an adjunct to trabeculectomy for primary open angle glaucoma. *Indian Journal of Ophthalmology* 64(3): 251–252. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.181735>
- Furrer, S., Menke, M. N., Funk, J. & Töteberg-Harms, M. (2012). Evaluation of filtering blebs using the Wuerzburg bleb classification score compared to clinical findings. *BMC Ophthalmology* 12:24. <https://doi.org/10.1186/1471-2415-12-24>
- Groth, S. L., Albeiruti, E., Nunez, M., Fajardo, R., Sharpsten, L., Loewen, N., Schuman, J. S. & Goldberg, J. L. (2019). SALT Trial: Steroids after Laser Trabeculoplasty: Impact of Short-Term Anti-inflammatory Treatment on Selective Laser Trabeculoplasty Efficacy. *Ophthalmology* 126(11): 1511–1516. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.05.032>
- Jóhannesson, G., Gottfredsdóttir, M. S., Ásgrimsdóttir, G. M., Loftsson, T. & Stefánsson, E. (2020). Can postoperative dexamethasone nanoparticle eye drops replace mitomycin C in trabeculectomy? *Acta Ophthalmologica* 98(6):607-612. <https://doi.org/10.1111/aos.14370>
- Levkovitch-Verbin, H., Katz, G., Kalev-Landoi, M. & Goldenfeld, M. (2013). Postoperative treatment with topical diclofenac versus topical dexamethasone after combined phacotrabeculectomy with mitomycin C. *Journal of Glaucoma* 22(3): 177–182. <https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e318237b99e>
- London, N. J. S., Chiang, A. & Haller, J. A. (2011). The dexamethasone drug delivery system: Indications and evidence. *Advances in Therapy* 28(5): 351–366. <https://doi.org/10.1007/s12325-011-0019-z>
- Lusthaus, J. A., Kubay, O., Karim, R., Wechsler, D. & Booth, F. (2010). Primary trabeculectomy with mitomycin C: A safety and efficacy at 2 years. *Clinical and Experimental Ophthalmology* 38(9): 831–838. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2010.02349.x>
- McMonnies, C. W. (2017). Historial de glaucoma y factores de riesgo. *Journal of Optometry* 10(2): 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.optom.2016.02.003>
- Murthy, G., Ariga, M., Singh, M., George, R., Sarma, P., Dubey, S., Choudhry, R., Parikh, R. & Panday, M. (2022). A deep dive into the latest European Glaucoma Society and Asia-Pacific Glaucoma Society guidelines and their relevance to India. *Indian Journal of Ophthalmology* 70(1): 24–35. [https://doi.org/10.4103/ijjo.IJO\\_1762\\_21](https://doi.org/10.4103/ijjo.IJO_1762_21)

- Pereira, I. C. F., Wyss, H. M., Pinchuk, L., Beckers, H. J. M. & Den Toonder, J. M. J. (2022). A model for designing intraocular pressure-regulating glaucoma implants. *PLoS ONE* 17(9): e0273672. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273672>
- Pérez Rangel, Y., Fumero González, F. Y., Álvarez Cisneros, G. A. & Elena Rangel Hernández, M. (2020). *Revista Cubana de Oftalmología* 33(4): e1002 <https://revoftalmologia.sld.cu/index.php/oftalmologia/article/view/1002>
- Saeed, E., Gołaszewska, K., Dmuchowska, D. A., Zalewska, R. & Konopińska, J. (2023). The PreserFlo MicroShunt in the Context of Minimally Invasive Glaucoma Surgery: A Narrative Review. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* 20(4): 2904 <https://doi.org/10.3390/ijerph20042904>
- Sasase, T., Fatchiyah, F. & Ohta, T. (2023). Retinal Ganglion Cell Death of Guinea Pig is Slower Than Rat as Optic Nerve Transection Animal Model. *JSMARTech Journal of Smart Bioprospecting and Technology* 4(1): 4-8. <https://doi.org/10.21776/ub.jsmartech.2023.004.01.04>
- Wang, H. W., Sun, P., Chen, Y., Jiang, L. P., Wu, H. P., Zhang, W. & Gao, F. (2018a). Research progress on human genes involved in the pathogenesis of glaucoma (Review). *Molecular Medicine Reports* 18(1): 656–674. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9071>
- Weinreb, R. N., Aung, T. & Medeiros, F. A. (2014). The pathophysiology and treatment of glaucoma: A review. *JAMA. Clinical Review & Education* 311(18): 1901–1911. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.3192>
- Yamanaka, O., Kitano-Izutani, A., Tomoyose, K. & Reinach, P. S. (2015). Pathobiology of wound healing after glaucoma filtration surgery. *BMC Ophthalmology* 15(1): 19–27. <https://doi.org/10.1186/s12886-015-0134-8>
- Yuen, D., Buys, Y., Jin, Y. P., Alasbali, T., Smith, M. & Trope, G. E. (2011). Corticosteroids versus NSAIDs on intraocular pressure and the hypertensive phase after ahmed glaucoma valve surgery. *Journal of Glaucoma* 20(7): 439–444. <https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e3181efbec0>
- Zada, M., Pattamatta, U. & White, A. (2018). Modulation of Fibroblasts in Conjunctival Wound Healing. *Ophthalmology* 125(2): 179–192. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2017.08.028>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

## Extracción de ADN total de formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* L., con el método CTAB

Extraction of total DNA from wild forms of *Phaseolus vulgaris* L., with  
the CTAB method

Liliana Wallander Compeán<sup>\*1,2</sup>, Norma Almaraz Abarca<sup>1</sup>, José Antonio Ávila Reyes<sup>1</sup>, Erika Berenice León Espinosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional CIIDIR Unidad Durango, Av. Sigma 119, Fraccionamiento 20 de noviembre II, Durango, Durango. C.P.34220.

<sup>2</sup> Tecnológico de Estudios Superiores de San Felipe del Progreso, Av. Instituto Tecnológico s/n Ejido de San Felipe, Edo. De México. C.P. 50640

\*Correspondencia: [lwallanderc@ipn.mx](mailto:lwallanderc@ipn.mx) (Liliana Wallander Compeán)

DOI:

Recibido: 05 de octubre de 2023; Aceptado: 21 de febrero de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado

Editor de Sección: Dr. Guillermo Fuentes-Dávila

### Resumen

Uno de los principales objetivos de la extracción de ADN es obtener material con alta pureza y en cantidad suficiente. Se han reportado métodos para aislar ADN total a partir de tejido foliar de *Phaseolus vulgaris*. Sin embargo, la alta variabilidad genética, la cual se manifiesta en diferentes capacidades de acumulación de carbohidratos y compuestos fenólicos, dificulta los procesos de extracción de ADN. En el presente estudio se evaluó la eficiencia de extracción de ADN foliar de dos métodos basados en el uso de CTAB. Se usaron dos métodos: método 1, el cual incluyó el uso de Proteinasa K y RNAsa y el método 2, sin las enzimas. El método 1, permitió obtener entre 115.55 y 1138.23 ng/ $\mu$ L de ADN, en cambio el método 2, permitió obtener mayor cantidad de ADN, entre 354.90 y 2513.10 ng/ $\mu$ L. La amplificación por PCR de marcadores ISTR generó bandas mejor resueltas en las muestras de ADN obtenidas con el método 2 que con el método 1. El método 2 es efectivo y económico para obtener ADN en cantidad y calidad adecuadas de genotipos silvestres de *P. vulgaris*, que puede ser usado en estudios moleculares.

**Palabras clave:** proteinasa K, frijol común silvestre, enzimas, ADN, pureza.

### Abstract

One of the main objectives of DNA extraction is to obtain material with high purity and in sufficient

quantity. Methods to isolate total DNA from leaf tissue of *Phaseolus vulgaris* have been reported. However, the high genetic variability, which manifests itself in different carbohydrate and phenolic compound accumulation capacities, makes DNA extraction processes difficult. In the present study, the leaf DNA extraction efficiency of two methods based on the use of CTAB was evaluated. Two methods were used: method 1, which included the use of Proteinase K and RNAsa, and method 2, without the enzymes. Method 1 yielded between 115.55 and 1138.23 ng/ $\mu$ L of DNA, whereas method 2 yielded more DNA, between 354.90 and 2513.10 ng/ $\mu$ L. PCR amplification of ISTR markers generated better resolved bands in the DNA samples obtained with method 2 than with method 1. Method 2 is effective and economical for obtaining DNA in adequate quantity and quality from wild genotypes of *P. vulgaris*, which can be used in molecular studies.

**Keywords:** proteinase K, wild common bean, enzymes, DNA, purity.

## 1. Introducción

El género *Phaseolus* es originario del Continente Americano, comprende alrededor de 70 especies (Saburido y Herrera, 2015; Freytag y Debouck, 2002), de las cuales 50 se encuentran en México (Pech, 2020). Actualmente cinco especies han sido domesticadas y se cultivan en mayor o menor grado en todo el mundo, estas son *Phaseolus vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray, y *P. polyanthus* Greenman (Mateo, 2016). La especie más importante del género, en términos económicos, alimenticios, agronómicos, y sociales es el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) (CEDRSSA, 2019). En este sentido, en México, el frijol común se encuentra distribuido desde el norte del estado de Chihuahua hasta el sur del estado de Chiapas, a lo largo de la sierra madre Occidental y en el Eje Neovolcánico del centro de México (Saburido y Herrera, 2015; Freytag y Debouck, 2002).

En el centro-norte de México, en el estado de Durango, crecen poblaciones silvestres de *P. vulgaris* en condiciones semiáridas, de menos de 35 mm de precipitación anual y altitudes de 2200 m (Wallander *et al.*, 2022). Estas condiciones contrastan con las que predominan en el sur del estado de Chiapas, donde la precipitación anual alcanza hasta 2000 mm a altitudes de 800 msnm, en donde también se encuentran poblaciones silvestres de frijol común (Freytag y Debouck, 2002; Debouck, 2020). Esta capacidad de crecer bajo condiciones ambientales tan variables sugiere que *P. vulgaris* tiene una capacidad biológica sobresaliente sustentada en una importante variabilidad genética (Ríos *et al.*, 2014; Curay, 2019). No obstante, para este tipo de estudios (variabilidad genética) el aislamiento de ADN se debe realizar mediante un protocolo que permita obtenerlo en cantidades suficientes y con alta pureza. Diversos laboratorios han estandarizado sus propios métodos de extracción según la especie a estudiar, así mismo, algunos otros emplean kits comerciales que garantizan el aislamiento de ADN a partir de una amplia gama de especies. Sin embargo, el costo es elevado y no siempre se obtiene la cantidad y la calidad adecuadas. Los diferentes métodos que existen para aislar ADN total de especies vegetales, utilizan el cloroformo y el etanol como solventes orgánicos y después se purifica el ADN presentando la desventaja de ser complicados y su realización requiere periodos largos de tiempo (Reyes, 2014).

Actualmente, se usa el detergente catiónico bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) como componente de los reguladores de extracción de ADN en sustitución del detergente dodecilsulfato de sodio (SDS) por medio del cual Shagai *et al.* (1984) amplificaron y redujeron el tiempo empleado para aislar ADN de especies vegetales. El CTAB precipita los ácidos nucleicos en presencia de

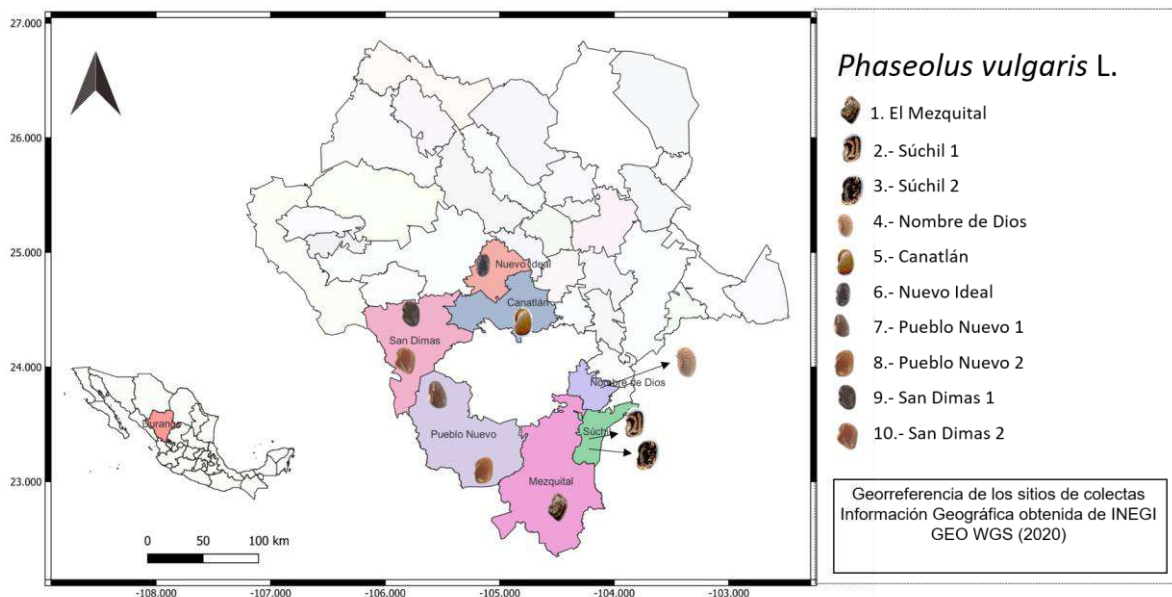
concentraciones bajas de cloruro de sodio, reduciendo la precipitación de polisacáridos y proteínas contaminantes (Shagai *et al.*, 1984; Reyes *et al.*, 2011).

Se han reportado métodos para aislar ADN total a partir de tejido foliar de *P. vulgaris* de algunas variedades (Miranda *et al.*, 2006; Castellanos *et al.*, 2017) y formas silvestres (Lépiz *et al.*, 2010; Wallander *et al.*, 2022). Sin embargo, dada la alta variabilidad genética reportada para esta especie (Castellanos *et al.*, 2017), que se puede manifestar en diferentes capacidades de acumulación de carbohidratos y compuestos fenólicos en los tejidos, los cuales dificultan los procesos de extracción de ADN (Rojas *et al.*, 2014; Aboul y Oraby, 2019), es importante evaluar la eficiencia de esos métodos para diferentes genotipos de *P. vulgaris*. El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia de extracción de ADN foliar de dos métodos basados en el uso de CTAB, en 10 formas silvestres de *P. vulgaris*.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Materiales

Las semillas de diez formas silvestres del estado de Durango, México, se recolectaron de siete municipios en el año 2017. Diez semillas de cada forma silvestre obtenidas de diferentes municipios del estado de Durango (Fig. 1) se germinaron, posteriormente se recolectó de manera individual el material foliar de las plántulas de entre 20 y 35 días posteriores a la germinación para extraer el ADN por el método de CTAB descrito por Coelho *et al.* (2009).



**Figura 1.** Mapa de los municipios donde se colectaron las semillas de las formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* de Durango, México, analizadas en el presente estudio.

**Figure 1.** Map of the municipalities where the seeds of the wild forms of *Phaseolus vulgaris* from Durango, Mexico, were analyzed in the present study.

## 2.2 Métodos

### 2.2 Extracción de ADN

La extracción del material genético se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Coelho *et al.* (2009).

#### 2.2.1 Método 1: agregando Proteinasa K y RNAsa

El ADN total se extrajo a partir de 100 mg de tejido foliar. Se prescindió del primer paso del protocolo de Coelho *et al.* (2009), que era la pulverización del tejido foliar con nitrógeno líquido. Los tejidos se homogeneizaron en 800  $\mu$ L de regulador de extracción [CTAB al 2 %, NaCl 1.4 M, Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, EDTA 20 mM, 2-mercaptoetanol al 2 %, y polyvinylpyrrolidone (PVP peso molecular 40 000) al 3 %]. Después, se agregaron 2  $\mu$ L de Proteinasa K, y las muestras se incubaron a 37 °C por 30 min. Posteriormente, las muestras se incubaron a 65 °C durante 60 minutos. Después, las muestras se combinaron con 600  $\mu$ L de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se agitaron y se centrifugaron (10 000 rpm durante 10 min, a temperatura ambiente). El sobrenadante, fase acuosa conteniendo el ADN disuelto, se recuperó y se volvió a fraccionar con cloroformo: alcohol isoamílico. La fase acuosa resultante se recuperó y combinó con 500  $\mu$ L de isopropanol frío y se incubó durante 30 min a -20 °C para precipitar el ADN. Se centrifugó (10 000 rpm durante 10 min), se descartó el sobrenadante, la pastilla conteniendo el ADN se resuspendió en 300  $\mu$ L de TE (Tris 10 mM, pH 8.0, EDTA-Na 1.0 mM), y se agregaron 150  $\mu$ L de NaCl 5.0 M. Después, se adicionaron 900  $\mu$ L de etanol absoluto frío. Después de incubar a -20 °C durante 30 minutos, las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm durante 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y la pastilla se lavó con 500  $\mu$ L de etanol al 75 %. Se repitió el último paso de lavado con etanol al 75 %. Estos dos lavados con etanol fueron adicionales al protocolo original de Coelho *et al.* (2009). Después de centrifugar (10 000 rpm durante 10 min), el sobrenadante se descartó, la pastilla de ADN se dejó secar a temperatura ambiente, y se resuspendió en 50  $\mu$ L de TE y 2  $\mu$ L de RNAsa.

#### 2.2.2 Método 2: sin agregar Proteinasa K y RNAsa

En este protocolo se eliminó del método original de Coelho *et al.* (2009) el paso de agregar los 2  $\mu$ L de Proteinasa K después de agregar el buffer de extracción. Además, se eliminó el último paso donde se agrega la RNAsa, al final, después de centrifugar en el último lavado, el sobrenadante se descartó, la pastilla de ADN se dejó secar a temperatura ambiente, y se resuspendió en 50  $\mu$ L de TE. Los efectos de la Proteinasa K ayuda a digerir proteínas y eliminar contaminantes que pueden degradar el ADN y el ARN durante la purificación, y la enzima RNAsa permite que el ADN extraído quede limpio de ARN, lo que hace es catalizar la degradación del RNA en componentes más pequeños (Fernández, 2023).

### 2.2.3 Cuantificación, pureza y evaluación del tamaño molecular y de la integridad del ADN obtenido

La cuantificación de ADN obtenido se realizó de manera espectrofotométrica. Se tomaron 2  $\mu\text{L}$  de cada solución individual de ADN. Se registraron los valores de absorbancia a 260 y 280 nm, con los cuales se estimó la cantidad de ADN presente en cada muestra (Chan *et al.*, 1992). La pureza del ADN obtenido para cada muestra se evaluó con métodos espectrométricos de acuerdo a Sambrook *et al.* (2001). Se registraron los valores de absorbancia a 260 y 280 nm y se calcularon los valores de la relación  $A_{260}/A_{280}$ . Valores de esas proporciones iguales o mayores de 1.7 indicaron que el ADN se encontraba lo suficientemente libre de proteínas para poder ser amplificado por PCR. La evaluación del tamaño molecular y de la integridad de las muestras de ADN se realizó por electroforesis en geles de agarosa (0.8 %), de acuerdo con Andrews (1994). La electroforesis se desarrolló a 70 volts. Los geles se tiñeron con Syber Green.

### 2.2.4 Amplificación del ADN obtenido por PCR

Para determinar que las muestras de ADN obtenido podían ser amplificadas, se utilizó un par de iniciadores de marcadores ISTR (Inverse Sequence Tagged Repeat, por sus siglas en inglés, en español "Secuencias Inversas, Etiquetadas y Repetidas) (De Jesús *et al.*, 2011). La amplificación de loci ISTR se realizó de acuerdo con el método de Osorio *et al.* (2006), con los iniciadores F9 (TTACCTCCTCCATCTCGT) y B8 (ATACCTTTCAGGGGGATG). Para cada muestra individual se preparó una mezcla de reacción conteniendo los iniciadores F9 y B8 a 10 mM, 3  $\mu\text{L}$  de regulador de la enzima Taq polimerasa, 1.2  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{MgCl}_2$  50 mM, 0.5  $\mu\text{L}$  de la mezcla de nucleótidos 10 mM, 0.3  $\mu\text{L}$  de Taq polimerasa 1U, ADN molde a 25 nM, y agua para ajustar el volumen de reacción a 20  $\mu\text{L}$ . Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: un primer ciclo de desnaturalización a 95 °C durante 3 min; 40 ciclos, comprendiendo un paso de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, uno de alineación a 45 °C durante 1 min, y uno de extensión a 72 °C durante 2 min; finalizando con 10 min a 72 °C. Las bandas amplificadas se visualizaron en un gel de poliacrilamida al 5 %.

## 2.3 Diseño experimental y análisis de datos

Los datos se sometieron a análisis de varianza y prueba de discriminación de medias de Tukey ( $P < 0.05$ ), se calcularon coeficientes de variación (Gutiérrez 1996), para determinar la contribución de la diferenciación entre poblaciones silvestres de frijol común a la concentración y pureza del ADN, se sometieron a la prueba de análisis de componentes principales (PCA) utilizando el programa XLSTAT versión 2021 2.2 (Addison, 2024).



### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Extracción de ADN

Los valores de  $A_{260}$ ,  $A_{280}$  y  $A_{260/280}$  aislado de cada una de las 10 formas silvestres de frijol común con cada uno de los dos métodos evaluados se muestran en la Tabla 1. Se ha reportado que valores de la relación  $A_{260}/A_{280}$  mayores o iguales a 1.7 representan muestras de ADN con pureza adecuada (Reyes *et al.*, 2011; Guzmán *et al.*, 2018), las cuales se pueden utilizar en la mayoría de las técnicas moleculares. De acuerdo con los resultados obtenidos (Tabla 1), el 40 % de las muestras de ADN extraídas con el método 1 cumplió con esa consideración de pureza, mientras que el 100 % de las muestras obtenidas con el método 2 alcanzaron el valor de pureza señalado. Sin embargo, todas las muestras obtenidas con los dos métodos evaluados pudieron ser amplificadas con los iniciadores de ISTR usados, como se mostrará más adelante. Los resultados del presente estudio sugieren que los requerimientos de pureza de muestras de ADN podrían en realidad ser más amplios. Los valores de pureza de los ADN de las 10 formas silvestres, obtenidos con el método 2 fueron más altos que el valor de pureza reportado por Reyes *et al.* (2011) para *P. vulgaris* cultivado ( $A_{260}/A_{280} = 1.65$ ).

**Tabla 1.** Valores promedios ( $n=10 \pm$  desviación estándar?) de  $A_{260}$ ,  $A_{280}$ ,  $A_{260/280}$  de 10 formas silvestres de *Phaseolus vulgaris*, obtenido con dos métodos de extracción modificados del de Coelho *et al.* (2009).

**Table 1.** Average values of  $A_{260}$ ,  $A_{280}$ ,  $A_{260/280}$  of 10 wild forms of *Phaseolus vulgaris*, obtained with two extraction methods modified from that of Coelho *et al.* (2009).

| Forma Silvestre | Abs <sub>260</sub> | Abs <sub>280</sub> | Abs <sub>260/280</sub> |
|-----------------|--------------------|--------------------|------------------------|
| <b>Método 1</b> |                    |                    |                        |
| El Mezquital    | 0.73 ± 0.14 bcde   | 0.37 ± 0.07 bcd    | 1.98 ± 0.03 ab         |
| Súchil 1        | 0.82 ± 0.50 bcde   | 0.44 ± 0.24 bcd    | 1.91 ± 0.09 ab         |
| Súchil 2        | 1.13 ± 0.63 bcd    | 0.58 ± 0.28 abc    | 1.85 ± 0.26 ab         |
| Nombre de Dios  | 0.81 ± 0.52 bcde   | 0.43 ± 0.24 bcd    | 1.78 ± 0.25 b          |
| Canatlán        | 0.43 ± 0.37 cde    | 0.29 ± 0.25 bcd    | 1.49 ± 0.02 c          |
| Nuevo Ideal     | 0.40 ± 0.29 cde    | 0.28 ± 0.21 bcd    | 1.43 ± 0.06 c          |
| Pueblo Nuevo 1  | 0.53 ± 0.37 cde    | 0.36 ± 0.25 bcd    | 1.49 ± 0.07 c          |
| Pueblo Nuevo 2  | 0.18 ± 0.11 e      | 0.12 ± 0.07 cd     | 1.46 ± 0.12 c          |
| San Dimas 1     | 0.11 ± 0.06 e      | 0.07 ± 0.03 d      | 1.44 ± 0.19 c          |
| San Dimas 2     | 0.19 ± 0.08 de     | 0.12 ± 0.05 cd     | 1.56 ± 0.09 c          |
| <b>Método 2</b> |                    |                    |                        |
| Súchil 1        | 0.88 ± 0.28 bcde   | 0.46 ± 0.13 bcd    | 1.90 ± 0.13 ab         |
| Súchil 2        | 2.02 ± 0.36 a      | 0.99 ± 0.17 a      | 2.03 ± 0.02 a          |

|                |                 |                 |                |
|----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| Nombre de Dios | 1.03 ± 0.26 bcd | 0.55 ± 0.68 bc  | 1.86 ± 0.06 ab |
| Canatlán       | 1.56 ± 0.88 ab  | 0.77 ± 0.43 ab  | 2.02 ± 0.03 a  |
| Nuevo Ideal    | 1.07 ± 0.31 bcd | 0.54 ± 0.14 bc  | 1.97 ± 0.09 ab |
| Pueblo Nuevo 1 | 0.77 ± 0.24bcde | 0.39 ± 0.11 bcd | 1.94 ± 0.09 ab |
| Pueblo Nuevo 2 | 0.57 ± 0.24 cde | 0.29 ± 0.12 bcd | 1.91 ± 0.05 ab |
| San Dimas 1    | 0.29 ± 0.21 de  | 0.16 ± 0.11 cd  | 1.77 ± 0.16 b  |
| San Dimas 2    | 1.04 ± 0.25 bcd | 0.54 ± 0.14 bc  | 1.90 ± 0.08 ab |
| Súchil 1       | 1.28 ± 0.60 abc | 0.65 ± 0.30 ab  | 1.94 ± 0.02 ab |

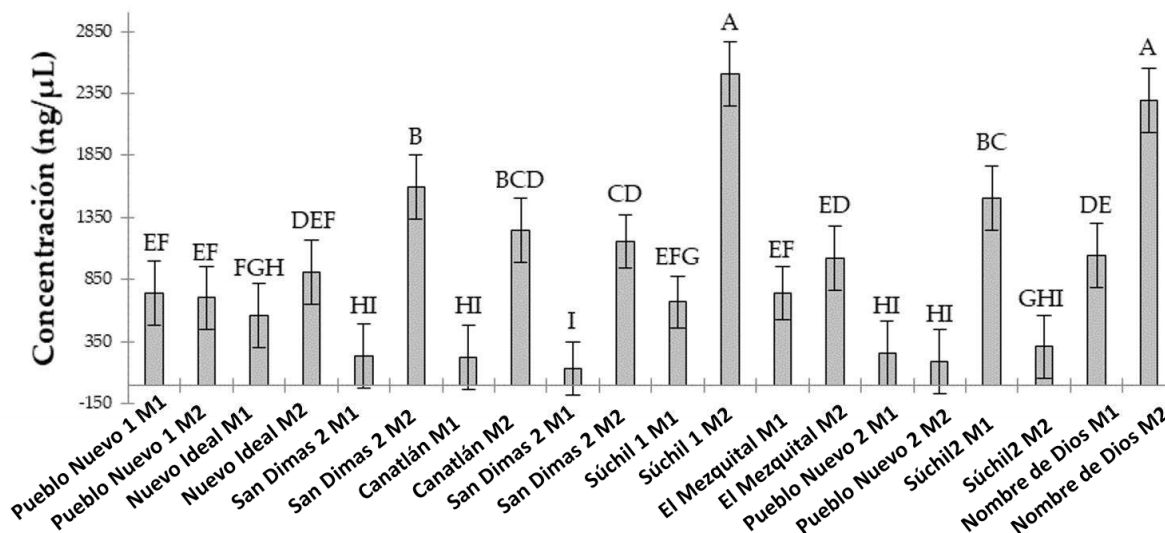
Media ± desviación estándar, n= 10, por cada forma silvestre. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las poblaciones  $P < 0.05$  (prueba de Tukey).

### 3.1.1 Cuantificación del ADN obtenido

En la Fig. 2 se presentan las diferencias significativas en la concentración de ADN obtenido para cada una de las 10 formas silvestres de frijol común con los dos métodos evaluados. Se observa que el método 2 permitió obtener entre 185.90 ng/μL para la forma silvestre de Pueblo Nuevo 2, y 2513.10 ng/μL para la forma de Súchil 1, mientras que el método 1 permitió obtener entre 130.10 ng/μL para la población San Dimas 1, y 1502.40 ng/μL para la forma Súchil 2. La cantidad obtenida de ADN fue muy variable entre las formas silvestres, lo cual se puede deber a los diferentes contenidos de compuestos fenólicos que cada una de ellas acumula, como fue corroborado por (Wallander *et al.* 2022). Sin embargo, el método 2 permitió obtener mayores concentraciones de ADN que el método 1 en el 70 % de las muestras.

Se ha reportado que las cantidades de ADN requeridas para llevar a cabo estudios moleculares varían entre 20 y 50 ng/μL (Mellado, 2020). Como se observa en la Fig. 2, las cantidades obtenidas con ambos métodos para las 10 formas silvestres fueron mayores que esos valores.

El protocolo de extracción 2 permitió obtener cantidades mayores de ADN que el método 1 (Fig. 2), y esos ADN tuvieron una pureza también mayor que los obtenidos con el método 1 (Tabla 1). El método de CTAB de Coelho *et al.* (2009) fue utilizado para obtener ADN de *Phaseolus vulgaris* cultivado por Reyes *et al.* (2011); estos autores obtuvieron una cantidad de ADN superior a cualquiera de las obtenidas en el presente trabajo (3996.249 ng/μL).



**Figura 2.** Concentración de ADN obtenido de tejido foliar de 10 formas silvestres de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) de Durango, México. M1: método; agregando Proteínasa K y RNAsa. M2: método sin agregar enzimas. Diferentes letras indican diferencias significativas entre las poblaciones  $P < 0.05$  (prueba de Tukey), las barras de error son  $\pm$  DS.

**Figure 2.** Concentration of DNA obtained from leaf tissue of 10 wild forms of common bean (*Phaseolus vulgaris*) from Durango, Mexico. M1: method; adding Proteinase K and RNase. M2: method without adding enzymes. Different letters indicate significant differences between populations  $P < 0.05$  (Tukey's test), error bars are  $\pm$  SD.

### 3.1.2 Coeficiente de variación

El coeficiente de variación más bajo en la eficiencia de extracción entre formas silvestres de frijol común fue en el método 1 (Tabla 2); para concentración Súchil 2 (1.24 %) y San Dimas 2 (9.08 %), y para pureza Canatlán (0.48 %) y Súchil 2 (1.43 %), en el método 2; para concentración Súchil 1 (4.18 %), Súchil 2 (6.57 %) y San Dimas 1 (9.73 %) y Nuevo Ideal (4.85 %), y para pureza para San Dimas 2 (0.82 %), Súchil 1 (1.07 %), Nombre de Dios (2.25 %), Pueblo Nuevo 1 (2.23 %), Súchil 2 (4.04 %), Nuevo Ideal (4.25 %). De los métodos probados, recomendamos utilizar el método 2. Estos resultados son ampliamente aplicables para estudios de laboratorio en ISTR. Las recomendaciones también se pueden utilizar para informar la elección de la metodología para los estudios de campo.

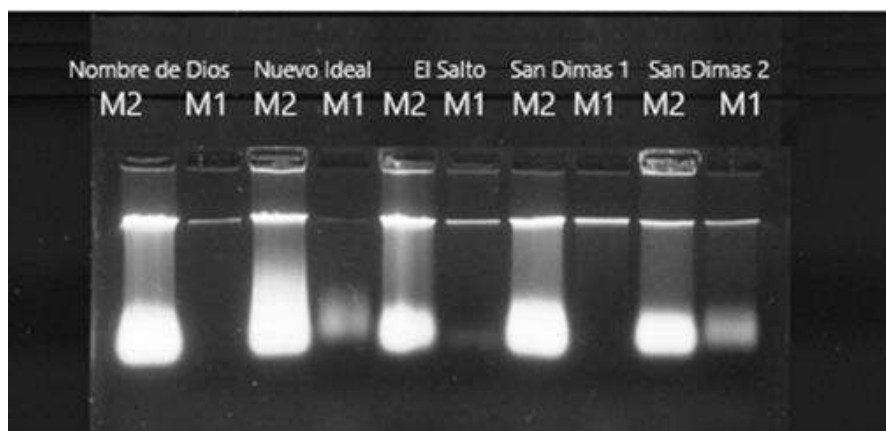
**Tabla 2.** Coeficiente de variación (CV, %) de la concentración y pureza del ADN  
**Table 2.** Coefficient of variation (CV, %) of the concentration and purity of DNA

| Forma silvestre | Concentración<br>(ng/ $\mu$ L) | Pureza<br>A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> |
|-----------------|--------------------------------|--|
| <b>Método 1</b> |                                |  |
| El Mezquital    | 18.70                          | 1.39   |
| Súchil 1        | 34.36                          | 3.88   |
| Súchil 2        | 1.24                           | 1.43   |
| Nombre de Dios  | 63.35                          | 3.38   |
| Canatlán        | 14.29                          | 0.48   |
| Nuevo Ideal     | 21.71                          | 6.09   |
| Pueblo Nuevo 1  | 13.30                          | 5.94   |
| Pueblo Nuevo 2  | 10.88                          | 2.74   |
| San Dimas 1     | 38.58                          | 4.31   |
| San Dimas 2     | 9.08                           | 7.11   |
| <b>Método 2</b> |                                |  |
| El Mezquital    | 14.02                          | 8.87   |
| Súchil 1        | 4.18                           | 1.07   |
| Súchil 2        | 6.57                           | 4.04   |
| Nombre de Dios  | 13.41                          | 2.25   |
| Canatlán        | 14.16                          | 5.80   |
| Nuevo Ideal     | 4.85                           | 4.25   |
| Pueblo Nuevo 1  | 23.51                          | 2.23   |
| Pueblo Nuevo 2  | 20.51                          | 11.27  |
| San Dimas 1     | 9.73                           | 4.45   |
| San Dimas 2     | 22.93                          | 0.82   |

N= 10, Coeficiente de variación (Ángel, 1996)

### 3.2 Evaluación del tamaño molecular y de la integridad del ADN obtenido

La integridad de ADN se visualizó en geles de agarosa al 0.8 %. Los resultados mostrados en la Fig. 3 indican que una mayor degradación del ADN se produjo con el método 2, como lo indicó la presencia de un fondo fluorescente a lo largo de los carriles, en las muestras de ADN obtenidas con ese método. Los resultados de la Fig. 3 también indican que los dos protocolos de aislamiento evaluados permitieron obtener ADN de alto peso molecular a partir de tejido foliar de frijol común silvestre.



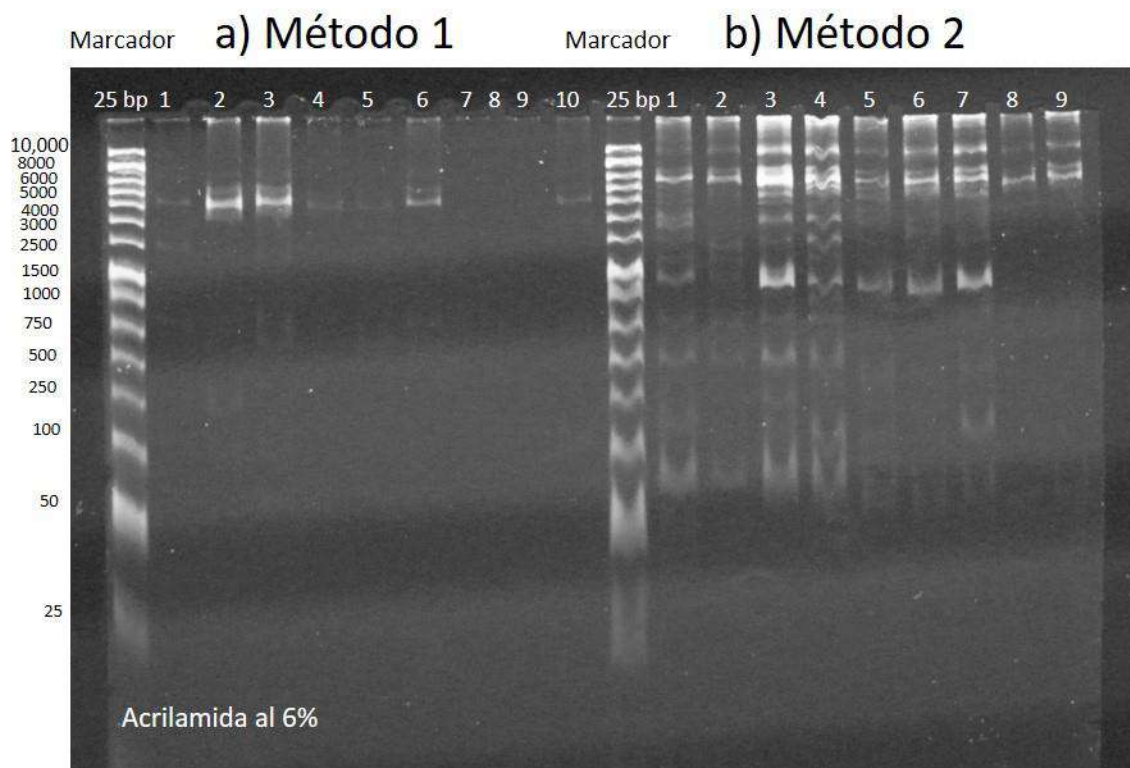
**Figura 3.** Integridad del ADN de cinco formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* obtenido con los dos métodos evaluados. M1: método 1, M2: método 2. (Descrito en materiales y métodos).

**Figure 3.** DNA integrity of five wild forms of *Phaseolus vulgaris* obtained with the two methods evaluated. M1: method 1, M2: method 2. (Described in materials and methods)

### 3.3 Amplificación del ADN obtenido por PCR

En la Fig. 4 se muestran, los resultados de la separación electroforética en geles de acrilamida al 6 % de la amplificación de marcadores ISTR, revelados por la combinación de iniciadores F9/B8, de la forma silvestre de El Mezquital. Se observa que los ADN obtenidos con el método 2 generaron perfiles de amplificación formados por un mayor número de bandas, las cuales estuvieron mejor definidas que con el método 1. Las bandas representaron secuencias ISTR de alrededor de 1000 y 1500 pb. Estos resultados sugieren que valores de pureza de ADN menores de 1.7 pueden ser amplificados con los iniciadores de marcadores ISTR.

El método 2, modificado del de Coelho *et al.* (2009), simplifica a este último en términos de uso de reactivos y en pasos durante el desarrollo, por tanto, tiene un menor costo y tiempo. El método 2, que prescinde de la adición de enzimas puede ser usado para estudios de variabilidad genética de formas silvestres de frijol común, empleando marcadores ISTR.

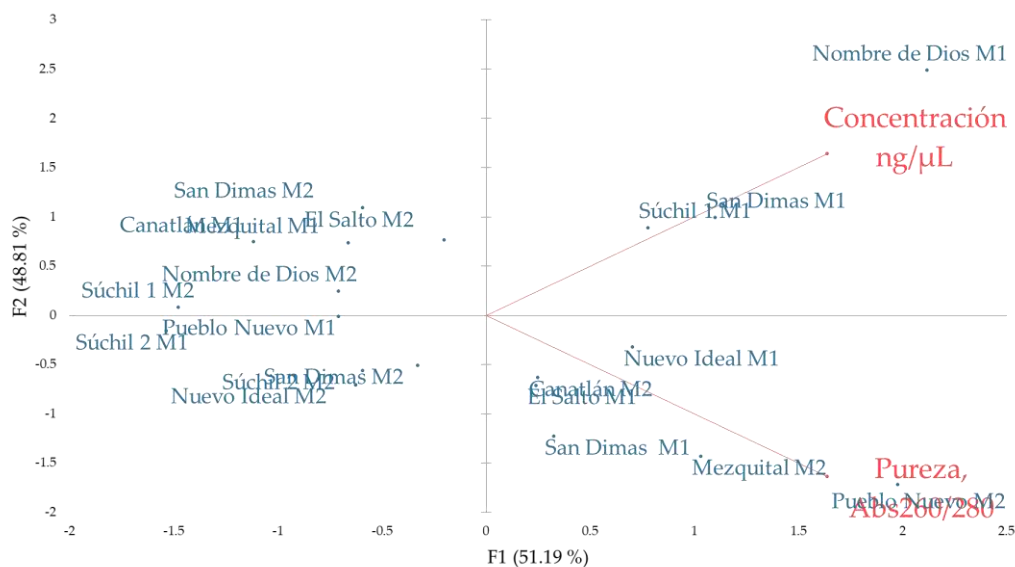


**Figura 4.** Amplificación de los iniciadores F9/B8 de marcadores ISTR del ADN obtenido con los dos métodos evaluados, de nueve individuos de la forma silvestre de El Mezquital de *Phaseolus vulgaris*. A) Método 1. Carril 1: marcador de tamaño molecular de 25pb. Carriles 1 a 10: individuos de la población El Mezquital y B) Método 2. Carril 1: marcador de tamaño molecular 25pb. Carriles de 2 a 9: individuos de la población, de El Mezquital.

**Figure 4.** Amplification of the F9/B8 primers of ISTR markers from the DNA obtained with the two methods evaluated, from nine individuals of the wild form of *Phaseolus vulgaris* from El Mezquital. A) Method 1. Lane 1: 25pb molecular size marker. Lanes 1 to 10: individuals from the population, from El Mezquital and B) Method 2. Lane 1: 25pb molecular size marker. Lanes 1 to 9: individuals from the population, from El Mezquital

### 3.4 Análisis de Componentes Principales

Se determinó la contribución del comportamiento del coeficiente de variación de la concentración y pureza del ADN por medio de un análisis de PCA. Un componente principal, asociado con la pureza del ADN en el método 2, explicó el 51.19 % de la varianza encontrada, el Componente 2 explicó el 48.81 % y se observó que está asociado al coeficiente de variación de la concentración obtenida por medio del método 1 (Fig. 5).



**Figura 5.** Resultados del análisis de agrupamiento basados en los resultados del coeficiente de variación de la concentración de ADN (ng/μL) y la pureza ( $A_{260/280}$ ) de formas silvestres de frijol común de Durango, México.

**Figure 5.** Results of clustering analysis based on the results of the coefficient of variation of DNA concentration (ng/μL) and purity ( $A_{260/280}$ ) of wild forms of common bean from Durango, Mexico.

## 4. Conclusiones

Se concluye que las modificaciones que se hicieron al método de Coelho *et al.* (2009), minimiza costos ya que se prescinde de agregar el nitrógeno líquido para la pulverización de la muestra, además de no incluir las enzimas Proteinasa K y RNasa. La cantidad y pureza del ADN obtenido con ambas modificaciones en el método fue variable entre las diez formas silvestres de frijol común evaluados. Sin embargo, el método 2, el cual prescinde del uso de Proteinasa K y RNasa permitió obtener mayor cantidad y mejor pureza de ADN que el método 1 en todos los genotipos. A pesar de que algunas muestras de ADN obtenidas con el método 1 no cumplieron con el valor estándar de pureza, todas las muestras de ADN pudieron amplificarse con iniciadores de los marcadores moleculares ISTR; sin embargo, las muestras obtenidas con el método 2 generaron un mayor número de bandas y éstas se resolvieron mejor en los geles de acrilamida. Aunque fue variable entre genotipos, el método 2 es más eficiente, rápido y económico que el método 1 para obtener ADN de los genotipos de frijol común analizados e idóneo para estudios moleculares.

## Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional y al CONAHCYT por los apoyos para realizar el presente trabajo.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no hay conflicto de intereses, en la publicación de estos resultados.

## 5. Referencias

- Addinsoft. (1995-2024). XLSTAT. Statistical Software. BroNY, USA: Addinsoft, Inc. <https://www.xlstat.com/en/>
- Aboul, M. N. A. F. & Oraby, H. A. S. (2019). Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. Bulletin of the National Research Centre 43: 25. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0066-1>
- Andrews, A. T. 1994. Electrophoresis of nucleic acids. In: T. A. Brown (Ed.) Essential Molecular Biology. A Practical Approach. IRL Press, 89-106. ISBN-10: 0-19-963644-3
- Ángel, G. J. (1996). La variación y su significado. Revista Universidad Eafit, 101: 87-96. <https://goo.su/y9cd>
- Castellanos, H. O. A., Lépiz, I. R., Castellanos, E. G. E., Rodríguez, S. A. & Torres, M. M. I. (2017). Relaciones genéticas basadas en marcadores ISTR entre formas silvestres, cultivadas e intermedias de frijol de guía colectado en Jalisco, México. Acta Botánica Mexicana 118: 53-63. <https://doi.org/10.21829/abm118.2017.1200>
- CEDRSSA. (2019). Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. Mexico's reliance on key grains like maize, beans, rice, and wheat is governed by the Ley de Desarrollo Rural Sustentable (Law of Sustainable Rural Development) <https://goo.su/u0up>
- Chan, S. Y., Bernard, H. U., Ong, C. K., Chan, S. P., Hofmann, B. & Delius, H. (1992). Phylogenetic analysis of 48 papillomavirus types and 28 subtypes and variants: a showcase for the molecular evolution of DNA viruses. Journal of Virology 66 (10): 5714-5725. <https://doi.org/10.1128/jvi.66.10.5714-5725.1992>
- Coelho, R. C., Faria, M. A., Rocha, J., Reis, A., Oliveira, P. P. & Nunes, E. (2009). Assessing genetic variability in germplasm of *Phaseolus vulgaris* L. collected in Northern Portugal. Scientia Horticulture 122(3): 333-338. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.05.035>
- Curay, P. J. D. (2019). Evaluación agronómica de tres variedades de Fréjol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo las condiciones climáticas de la comunidad de Rumichaca del cantón Pelileo. (Bachelor's thesis). Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencias Agropecuarias. Cevallos, Ecuador. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/30037>
- Debouck, D. G. (2020). La agricultura en Mesoamérica. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). <https://www.fao.org/3/cb1447es/cb1447es.pdf>



- De Jesús, R., Rodríguez, N., Torres, W., Moreno, Y. & O'Callaghan, J. (2011). Uso de marcadores moleculares microsatélites para determinar condición de homocigosis y heterocigosis en roedores producidos en el Bioterio de la Universidad de Los Andes, Venezuela. *Avances en Investigación Agropecuaria* 15 (2): 45-63. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83719236004>
- Fernández, G. L. (2023). Desarrollo de métodos de referencia para la cuantificación de citosinas metiladas en fragmentos de ADN. (Tesis Maestría). Universidad de Oviedo, España. <https://hdl.handle.net/10651/69159>
- Freytag, G. F. & Debouck, D. G. (2002). Taxonomy, distribution, and ecology of the genus *Phaseolus* (*Leguminosae-Papilionoideae*) in North America, Mexico and Central America. *Sida, Botanical Miscellany* 23. Botanical Research Institute of Texas, USA. <https://hdl.handle.net/10568/54291>
- Guzmán, R. L. F., Cortés, C. M. A., Pichardo, G. J. M. & Arteaga, G. R. (2018). Comparación de protocolos de aislamiento de DNA a partir de semilla de soya. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas* 9(8): 1691-1701. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i8.872>
- Lépiz, I. R., López, J. A., Sánchez, J. J. G., Santacruz, D. E., Romero, E. N. & Rodríguez, E. G. (2010). Características morfológicas de formas cultivadas, silvestres e intermedias de frijol común de hábito trepador. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33(1): 21-28. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61012290003>
- Mateo, S. B. F. (2016). Selección de líneas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) que combinan resistencia al gorgojo común (*Acanthoscelides obtectus* Say) con resistencia a los virus BGYMV, BCMV y BCMNV (Disertación Doctoral). Universidad de Puerto Rico <https://hdl.handle.net/20.500.11801/42>
- Mellado, O. M. S. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *NPunto*, 3 (30): 88-111. Mellado, O. M. S. (2020). Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *NPunto*, 3 (30): 88-111. <https://goo.su/EjFik>
- Miranda, L. S., Rosas, S. J. C., Aranda, R. L. L., Ortiz, P. R., Ponce, B. M. & Ríos, L. H. (2006). Análisis molecular de la diversidad genética de frijol común manejada por campesinos en Cuba. *Agronomía Mesoamericana* 3(17): 369-382. <https://doi.org/10.15517/am.v17i3.5172>
- Osorio, Z. M. A., Infante, D. & Molina, S. (2006). Variación genética asexual en *Agave cocui* Trelease. *Boletín Nakari*, 17: 1-7.
- Pech, M. H. (2020). Flujo genético e introgresión entre poblaciones domesticadas y silvestres del frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) en la península de Yucatán, México. (Tesis de Maestría, Mauricio Heredia Pech) Pech, M. H. (2020). Flujo genético e introgresión entre poblaciones domesticadas y silvestres del frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) en la península de Yucatán, México. (Tesis de Maestría, Mauricio Heredia Pech). <http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/1859>
- Reyes, M. A., Barriada, B. L. G., Rivera, R. D. M., Pajarito, R. A., Delgado, A. E. A., Almaraz, A. N., Herrera, C. J., Uribe, S. J. N. & Naranjo, J. N. (2011). Comparación de dos métodos para obtener ADN total de *Phaseolus vulgaris* para análisis de ISTR. *Vidsupra* 3(1): 23-29. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8247>

- Reyes, M. A. (2014). Variabilidad genética de frijol *Phaseolus vulgaris* L. cultivado y silvestre en el estado de Durango (Disertación Doctoral, Reyes Martínez Alfonso). <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/21641>
- Ríos, D. K., Viteri, S. E. & Delgado, H. (2014). Evaluación agronómica de líneas avanzadas de frijol voluble *Phaseolus vulgaris* L. en Paipa, Boyacá. Revista de Ciencias Agrícolas 31(1): 42-54. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5104175>
- Rojas, L. E., Reyes, M., Pérez, A. N., Olóriz, M. I., Posada, P. L., Ocaña, B., y Pérez, J. L. P. (2014). Extracción in situ de ADN genómico para el análisis por PCR de regiones de interés en cuatro especies vegetales y un hongo filamentoso. Biotecnología Vegetal, 14(3): 151-154. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/70>
- Saburido, M., y Herrera, A. (2015). El frijol en la Era Genómica. RDU. Revista Digital Universitaria, 16 (2). Disponible en: <https://www.revista.unam.mx/vol.16/num2/art11/>
- Sambrook, J., Fritish, E. F. & Maniatis, T. (2001). Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Vol 1. Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA. <https://goo.su/s27SjU>
- Shagai, M. M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. & Allard, R. W. (1984). Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences USA (81)24: 8014-8018. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.24.8014>
- Wallander, C. L., Almaraz, A. N., Alejandre, I. G., Uribe, S. J. N., Ávila, R. J. A., Torres, R. R., Herrera, A.Y. & Delgado, A. E. A. (2022). Variación fenológica y morfométrica de *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) de cinco poblaciones silvestres de Durango, México. Botanical Sciences, 100 (3): 563-578. <https://doi.org/10.17129/botsci.2981>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

# Caracterización estomática de poblaciones de pasto Lobero [*Muhlenbergia phleoides* (Kunth) Columbus] en el norte de México

Stomatal characterization of wolfgrass [*Muhlenbergia phleoides* (Kunth) Columbus] populations in northern Mexico

Jaime Neftalí Márquez-Godoy<sup>1</sup>, Carlos Raúl Morales-Nieto<sup>2\*</sup>, Raúl Corrales-Lerma<sup>2</sup> y Alan Álvarez-Holguín<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Valle de Culiacán, C.P. 80398 Culiacán, Sinaloa, México.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología, Periférico R. Almada km 1. C. P. 31000 Chihuahua, Chihuahua, México.

\*Correspondencia: Correo electrónico: [cnieto@uach.mx](mailto:cnieto@uach.mx) (Carlos Raúl Morales-Nieto)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i1.1376>

Recibido: 09 de octubre de 2023; Aceptado: 04 de marzo de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editor de Sección: Dr. Humberto González-Rodríguez

## Resumen

El pasto Lobero es una especie nativa de gran importancia en zonas áridas y semiáridas del norte de México. Por tal motivo, el objetivo fue explorar y realizar una caracterización estomática en poblaciones de pasto Lobero. 33 poblaciones en etapa fenológica madura fueron sujetas a estudio. Las variables evaluadas fueron, número de estomas (NE), células epidérmicas (NC), área estomática (AE) e índice estomático (IE) en la superficie adaxial (haz) y abaxial (envés) de la hoja. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza por bloques completamente al azar con cinco repeticiones. Los resultados muestran que el pasto Lobero es una especie anfiestomática y presenta estomas de tipo Diacítico o cariofiláceo. Lo que sugiere que la caracterización estomática es una técnica importante que nos brinda información valiosa sobre la estructura foliar de las especies vegetales.

**Palabras clave:** caracterización estomática, *Muhlenbergia phleoides*, anatomía foliar, ecología vegetal, especie nativa.

## Abstract

Wolfgrass is native species of great importance in arid and semiarid areas of northern Mexico. For this reason, the objective was to explore and carry out a stomatal characterization in Wolfgrass populations. 33 populations in mature phenological stage were subject to study. The variables evaluated were number of stomata (NE), epidermal cells (NC), stomatal area (AE) and stomatal index (IE) on the adaxial (beam) and abaxial (underside) Surface of the leaf. The data were analyzed using a completely randomized block analysis of variance with five repetitions. The results show that Wolfgrass is amphistomatic species and has diacytic or caryophyllaceous type stomata. Which suggests that stomatal characterization is an important technique that provides us with valuable information about the leaf structure of plant species.

**Keywords:** stomatal characterization, *Muhlenbergia phleoides*, leaf anatomy, plant ecology, native species.

## 1. Introducción

Los pastizales son uno de los ecosistemas más extensos a nivel mundial, abarcando aproximadamente el 40 % de la superficie terrestre, con una extensión de 3,500 millones de hectáreas (Zhou *et al.*, 2018). En México, los pastizales ocupan alrededor de 300,000 km<sup>2</sup>, lo que representa aproximadamente el 16 % del territorio (Zermeño-González *et al.*, 2011), y en el estado de Chihuahua, cubren el 24 % del territorio (INEGI, 2013). Sin embargo, estos ecosistemas están amenazados por diversos factores, como la expansión de tierras de cultivo, el crecimiento urbano y el uso excesivo de ganado, lo que resulta en la degradación de la diversidad de pastos (Abdulahi *et al.*, 2016; Bardgett *et al.*, 2021). Para proteger y mejorar los pastizales, se han empleado diversas técnicas, como la rehabilitación de pastizales, con el objetivo de aumentar la diversidad de especies y fomentar el crecimiento de la vegetación (Abdulahi *et al.*, 2016). Sin embargo, la investigación para identificar especies de pastos adecuadas para la resiembra se ha centrado principalmente en estudios de caracterización morfológica y nutricional (Morales-Nieto *et al.*, 2015, 2016).

Es importante considerar la selección de especies de pastos en función de su sistema estomático, ya que los estomas desempeñan un papel crucial en la regulación del balance de agua y la fotosíntesis. Por lo tanto, el conocimiento de la distribución y densidad de los estomas puede proporcionar información valiosa sobre la capacidad de establecimiento y productividad de las especies de pastos (Lawson y Blatt, 2014; Álvarez-Holguín *et al.*, 2018). Álvarez-Holguín *et al.* (2018) llevaron a cabo una caracterización detallada de la distribución y densidad de estomas, así como de la cantidad de clorofila, en el pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*). Sus conclusiones indican que los genotipos con menor densidad estomática e índice estomático, y mayor área estomática y concentración de clorofila, contribuyen a una mayor producción de follaje. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar la estructura estomática al seleccionar especies de pastos para la rehabilitación y mejora de los pastizales.

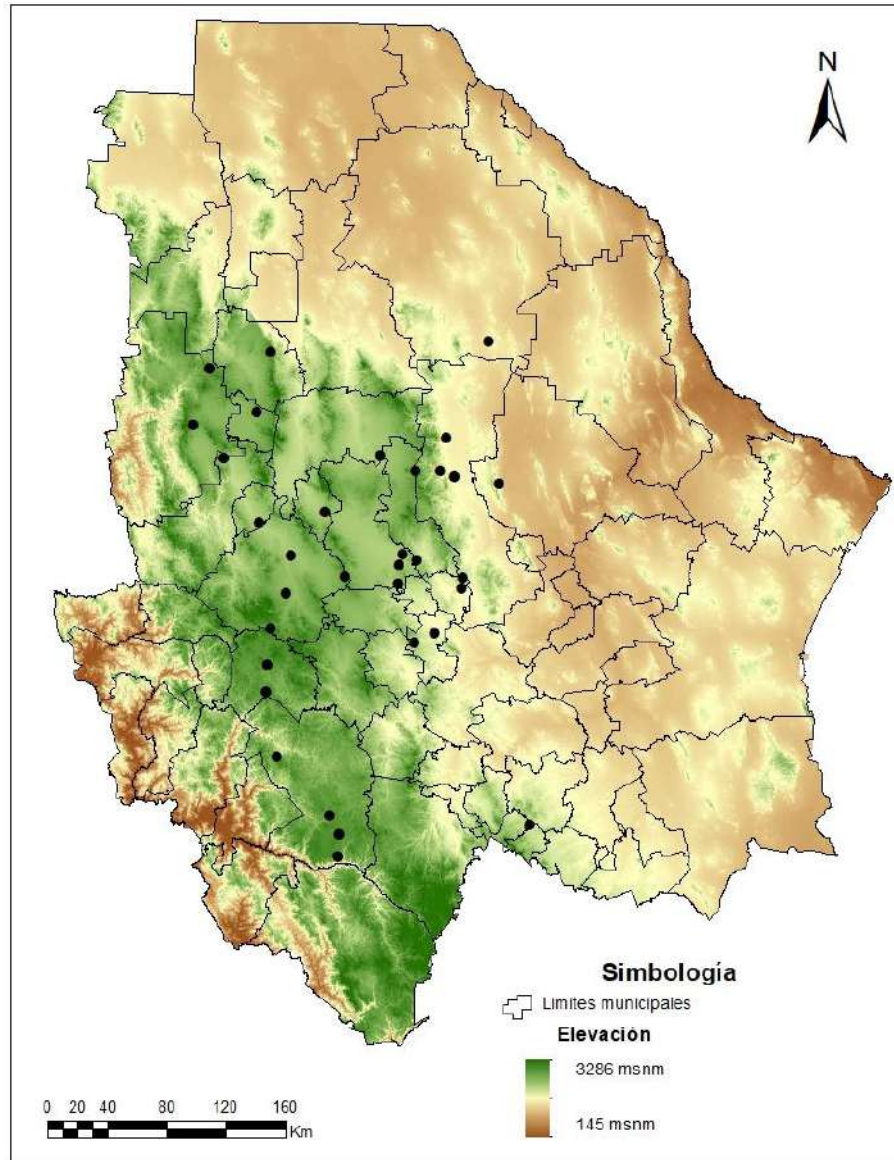
El pasto Lobero (*Muhlenbergia phleoides*) es una especie nativa que se encuentra en los pastizales del norte de México. Se caracteriza por tener una altura promedio de planta de 58.47 cm y un diámetro de macollo de 5.80 cm. Además, su contenido de proteína cruda varía entre 5.47 % y 10.22 % (Márquez-Godoy et al., 2022). A pesar de su importancia, hay una falta de información sobre el aparato estomático de muchas especies de gramíneas, lo cual es crucial para evaluar su rusticidad, capacidad de establecimiento y producción. Por este motivo, el objetivo de este estudio fue explorar y realizar una caracterización estomática en poblaciones de pasto Lobero en el estado de Chihuahua.

## 2. Materiales and métodos

### 2.1. Materiales

En el año 2016, se recolectaron semillas de 33 poblaciones nativas de pasto Lobero en diferentes municipios del estado de Chihuahua (Fig. 1). Cada ubicación proporcionó aproximadamente 200 g de semilla, representando así la diversidad genética de las poblaciones estatales. La Tabla 1 ofrece información sobre los municipios, coordenadas geográficas y las condiciones ambientales de cada sitio de recolección.

Las semillas fueron almacenadas durante seis meses para inducir la ruptura de su estado natural de latencia. Posteriormente, se sembraron en bolsas de poliuretano negro llenadas con suelo franco-arenoso en condiciones de invernadero. Con el fin de mantener una densidad de población uniforme, se sembraron 25 semillas en cada maceta y se aplicó riego cada tres días para mantener el suelo húmedo. Tras 90 días, se realizó un aclareo para dejar solo una planta por maceta. Luego, las macetas fueron trasplantadas y conservadas *ex situ* en la zona agrícola del poblado "El Vallecillo", municipio de Chihuahua. El área de estudio se caracteriza por presentar una temperatura anual promedio de 18 °C, una precipitación media anual de 415.1 mm y una topografía mayormente plana (INEGI, 2015). Después del trasplante, cada población recibió 2 L de agua como único riego para asegurar su establecimiento. Además, se protegió el área experimental mediante la instalación de cercas con alambre de púas para evitar el acceso del ganado y el pastoreo en la zona.



**Figura 1.** Ubicación de los 33 sitios de recolecta de semilla de pasto Lobero (*Muhlenbergia phleoides*) en el estado de Chihuahua.

**Figure 1.** Location of the 33 Wolfstail (*Muhlenbergia phleoides*) seed collection sites in the state of Chihuahua.

**Tabla 1.** Características de los 33 sitios de recolecta de poblaciones de pasto Lobero (*Muhlenbergia phleoides*) en el estado de Chihuahua.

**Table 1.** Characteristics of the 33 collection sites of populations of Wolfstail Grass (*Muhlenbergia phleoides*) in the state of Chihuahua.

| Población | Precipitación<br>(mm) | Temperatura<br>(°C) | Altitud<br>(m) | Coordenadas |           | Municipio        |
|-----------|-----------------------|---------------------|----------------|-------------|-----------|------------------|
|           |                       |                     |                | N           | O         |                  |
| 3         | 502.8                 | 15.8                | 1748           | 28 21 7     | 106 15 49 | Santa Isabel     |
| 4         | 498.0                 | 16.7                | 1818           | 28 1 11     | 106 34 49 | Belisario Dguez. |
| 5         | 496.7                 | 16.0                | 1820           | 28 18 12    | 106 28 50 | Gran Morelos     |
| 6         | 496.7                 | 13.7                | 1742           | 28 30 16    | 106 28 52 | Riva Palacio     |
| 7         | 496.7                 | 13.7                | 1956           | 28 31 16    | 106 34 28 | Riva Palacio     |
| 8         | 478.1                 | 14.2                | 2008           | 28 29 38    | 106 41 38 | Cuauhtémoc       |
| 10        | 415.1                 | 18.0                | 1590           | 29 5 35     | 106 21 13 | Chihuahua        |
| 11        | 415.1                 | 18.0                | 1781           | 29 4 17     | 106 25 27 | Chihuahua        |
| 12        | 415.1                 | 18.0                | 2297           | 29 4 8      | 106 35 46 | Chihuahua        |
| 13        | 458.3                 | 14.3                | 2019           | 29 9 37     | 106 50 30 | Namiquipa        |
| 15        | 496.7                 | 13.7                | 2077           | 28 32 27    | 106 26 38 | Riva Palacio     |
| 16        | 478.1                 | 14.2                | 2281           | 28 24 46    | 107 4 11  | Cuauhtémoc       |
| 17        | 531.0                 | 12.6                | 2013           | 28 44 15    | 107 39 55 | Matachí          |
| 18        | 489.6                 | 13.1                | 2093           | 29 7 16     | 107 55 13 | Temósachi        |
| 19        | 734.5                 | 10.7                | 2226           | 29 19 19    | 108 8 18  | Madera           |
| 20        | 734.5                 | 10.7                | 2155           | 29 34 23    | 108 8 49  | Madera           |
| 21        | 734.5                 | 10.7                | 2167           | 29 24 52    | 107 56 27 | Madera           |
| 22        | 561.3                 | 12.2                | 2227           | 29 24 22    | 107 41 59 | Gómez Farías     |
| 23        | 757.0                 | 10.2                | 2248           | 29 46 32    | 107 36 41 | Ignacio Zaragoza |
| 24        | 469.9                 | 16.0                | 1819           | 26 55 5     | 105 47 5  | San Fco. Del Oro |
| 25        | 469.9                 | 16.0                | 2208           | 26 51 34    | 106 5 49  | San Fco. Del Oro |
| 26        | 490.8                 | 17.8                | 2312           | 26 57 22    | 106 32 30 | Balleza          |
| 27        | 779.9                 | 10.2                | 2403           | 26 50 48    | 107 4 59  | Guachochi        |
| 28        | 490.8                 | 17.8                | 2415           | 26 42 38    | 106 5 4   | Balleza          |
| 29        | 779.9                 | 10.2                | 2498           | 26 57 41    | 107 8 47  | Guachochi        |
| 30        | 779.9                 | 10.2                | 2230           | 27 18 57    | 107 30 52 | Guachochi        |
| 31        | 738.6                 | 11.0                | 2345           | 27 42 11    | 107 35 41 | Bocoyna          |
| 32        | 738.6                 | 11.0                | 2367           | 27 52 17    | 107 35 20 | Bocoyna          |
| 33        | 511.0                 | 13.7                | 2341           | 28 5 32     | 107 34 3  | Guerrero         |
| 34        | 511.0                 | 13.7                | 2162           | 28 18 35    | 107 28 12 | Guerrero         |
| 35        | 415.1                 | 18.0                | 1606           | 29 1 54     | 106 19 26 | Chihuahua        |
| 36        | 415.1                 | 18.0                | 2118           | 28 25 4     | 106 15 40 | Chihuahua        |
| 37        | 415.1                 | 18.0                | 1545           | 29 16 7     | 106 22 53 | Chihuahua        |

## 2.2. Métodos

### 2.2.1. Variables medidas

Se evaluaron la densidad estomática (NE), el número de células epidérmicas (NC), el índice estomático (IE) por milímetro cuadrado ( $\text{mm}^2$ ) y el área estomática (AE) en micrómetros cuadrados ( $\mu\text{m}^2$ ) (Álvarez-Holguín *et al.*, 2018). Estas variables se midieron en cada una de las 33 poblaciones. Para ello, se seleccionó una hoja madura de cada planta. El método consistió en colocar una gota de pegamento instantáneo Kola Loka® (Kola Loka SA de CV, México) en un portaobjetos. Posteriormente, se presionó la hoja sobre la gota durante 30 segundos con ayuda de un borrador de goma, y luego se despegó del portaobjetos. Estos procedimientos se llevaron a cabo en las superficies del haz (adaxial) y envés (abaxial) de cada hoja. Las muestras se examinaron en condiciones de iluminación natural con la ayuda de un microscopio electrónico con un aumento de 40x, y se capturaron imágenes de cinco campos ópticos que tenían un área de  $0.0945 \text{ mm}^2$ . Dentro de cada imagen, se realizó un conteo de células epidérmicas (NC) y estomas (NE). A partir de estos conteos, se calculó la densidad por milímetro cuadrado ( $\text{mm}^2$ ). El área estomática (AE) se determinó utilizando tres estomas elegidos al azar de cada campo óptico, y se utilizó el software Zen 2 core para la captura y análisis de las imágenes. Por otra parte, el índice estomático (IE) se calculó utilizando la ecuación  $\%IE = [NE/(NC+NE)]*100$ , que representa el porcentaje de estomas con relación al total de células estomáticas y epidérmicas, según la propuesta de Wilkinson (1979). Las variables NE, NC, IE y AE se calcularon por separado para el haz (adaxial) y envés (abaxial). Este procedimiento permitió obtener datos detallados sobre la estructura y densidad de las células y estomas en ambas caras de la hoja.

### 2.2.3. Métodos estadísticos

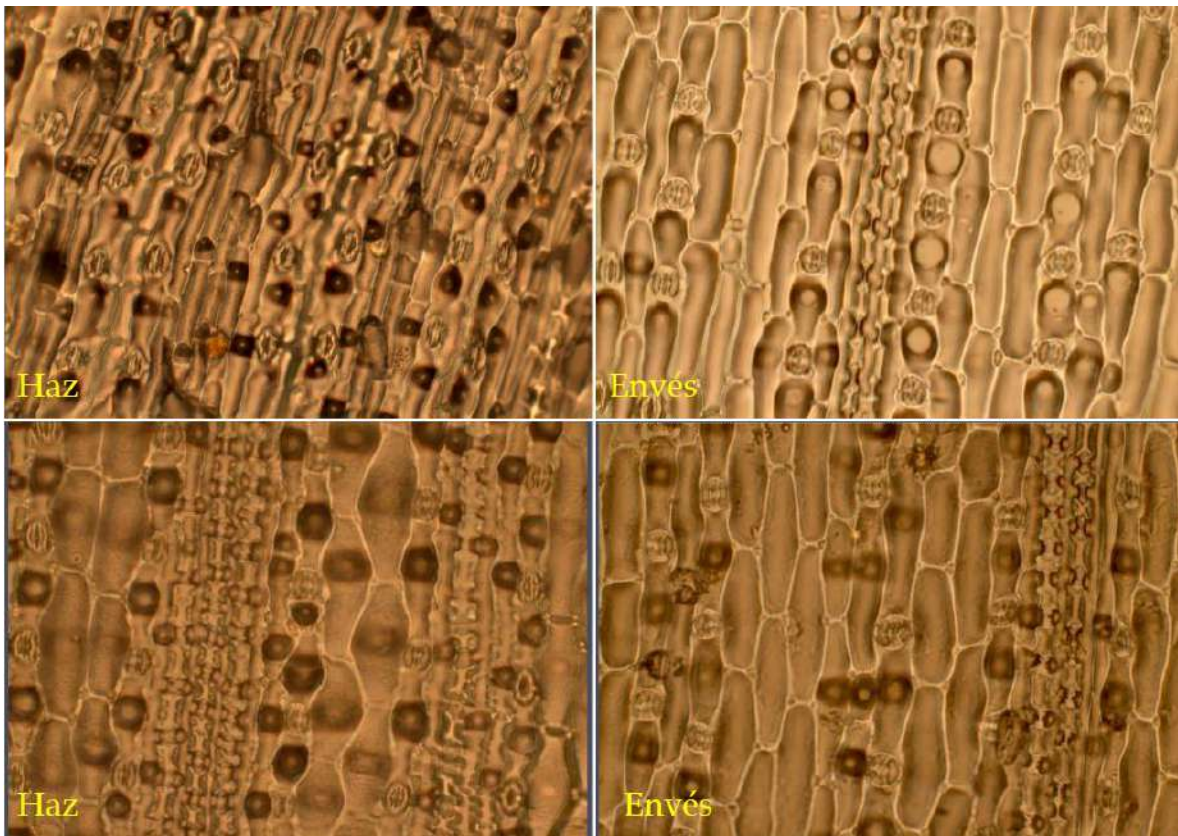
Los datos de las variables NE, NC, IE y AE fueron analizados mediante un análisis de varianza por bloques completamente al azar con cinco repeticiones. Este análisis se realizó utilizando el paquete estadístico SAS (2006), con un nivel de significancia de 0.05.

## 3. Resultados and discusión

El pasto Lobero exhibió una distribución estomática en ambas superficies de la lámina foliar (Fig. 2), tanto en el adaxial (haz) como en el abaxial (envés), lo que lo clasifica como una especie anfiestomática. Álvarez-Holguín *et al.* (2018) realizaron una caracterización estomática en tres variedades (Vaugh, Niner, El Reno) y dos genotipos (E-689 y E-592) de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*), concluyendo que esta especie es anfiestomática. Por otra parte, Trod *et al.* (2018) analizaron la distribución y densidad estomática de *Trichloris crinita* y *T. pluriflora*, dos gramíneas anfiestomáticas perennes nativas de Argentina. La presencia de estomas en ambas caras de la hoja



ofrece una ventaja significativa en condiciones de zonas áridas y semiáridas, ya que permite un uso eficiente del agua sin comprometer la tasa fotosintética (Reyes-López *et al.*, 2015). Bucher *et al.* (2017) señalaron que las especies anfiestomáticas prosperan en hábitats secos y con alta radiación solar debido a su mayor eficiencia en el uso del agua. Además, la disposición de estomas en ambas partes de la hoja facilita una mayor transmisión de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) a las células del mesófilo. Esto permite que las plantas C4 mantengan su capacidad fotosintética incluso con los estomas cerrados, lo que resulta en una mayor eficiencia en el uso del agua al reducir la pérdida por transpiración (Parkhurst *et al.*, 1988; Klooster y Plamer-Young, 2004).



**Figura 2.** Distribución de los estomas en ambas caras (adaxial y abaxial) del pasto Lobero (*Muhlenbergia phleoides*), procedentes de Chihuahua, México.

**Figure 2.** Distribution of stomata on both sides (adaxial and abaxial) of Wolfstail Grass (*Muhlenbergia phleoides*), from Chihuahua, Mexico.

El rango promedio de estomas en la parte adaxial fue de 19 y 23 en la parte abaxial, presentando diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre ambas (Tabla 2). La distribución de los estomas en la lámina foliar es variable y depende de factores como las condiciones climáticas, radiación solar, disponibilidad de agua, concentración de  $\text{CO}_2$ , altitud y especie (Woodward y Kelly, 1995; Reyes-López *et al.*, 2015).

**Tabla 2.** Estadísticos simples para variables cuantitativas estomáticas de pasto Lobero (*Muhlenbergia phleoides*) en el estado de Chihuahua, México.

**Table 2.** Simple statistics for quantitative stomatal variables of Wolfstail Grass (*Muhlenbergia phleoides*) in the

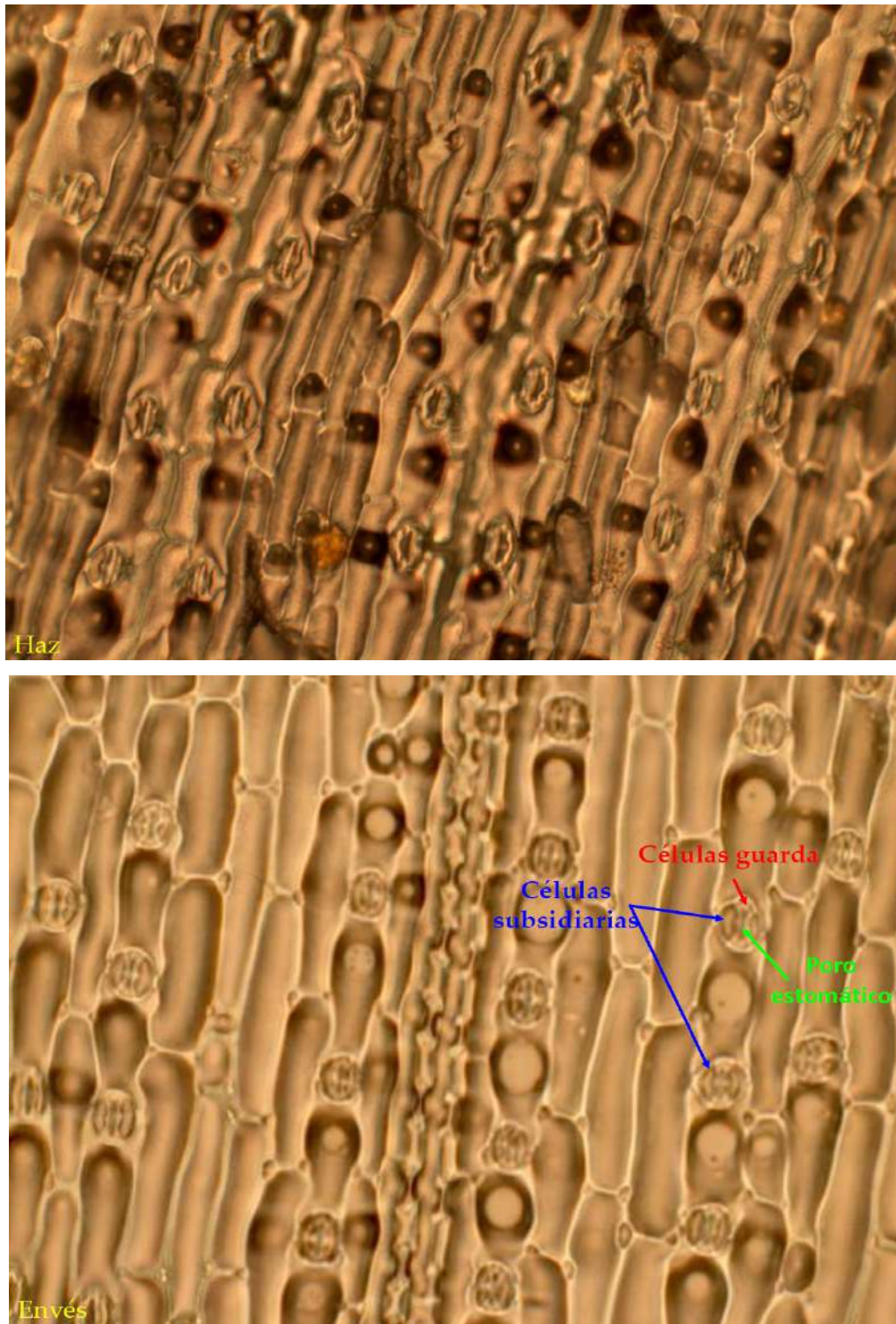
|       | Variable                       | Media              | Desviación estándar | Intervalo máximo-mínimo | Coefficiente de variación (%) |
|-------|--------------------------------|--------------------|---------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Haz   | Estomas                        | 19.0 <sup>a</sup>  | 5.1                 | 34.0 -9.0               | 27.4                          |
|       | Células                        | 87.0 <sup>a</sup>  | 23.5                | 157.0 - 42.0            | 27.0                          |
|       | Área                           | 299.4 <sup>a</sup> | 58.1                | 467.0 - 177.6           | 19.4                          |
|       | estomática ( $\mu\text{m}^2$ ) |                    |                     |                         |                               |
|       | Índice estomático              | 17.9 <sup>a</sup>  | 2.8                 | 25.9 - 11.2             | 15.5                          |
| Envés | Estomas                        | 23.0 <sup>b</sup>  | 5.9                 | 42.0 - 10.0             | 26.4                          |
|       | Células                        | 116.0 <sup>b</sup> | 27.1                | 200.0 - 54.0            | 23.4                          |
|       | Área                           | 268.1 <sup>b</sup> | 49.5                | 422.5 - 161.2           | 18.4                          |
|       | estomática ( $\mu\text{m}^2$ ) |                    |                     |                         |                               |
|       | Índice estomático              | 16.4 <sup>b</sup>  | 2.5                 | 25.0 - 8.5              | 15.3                          |

state of Chihuahua, Mexico.

Medias con letras diferentes representan diferencia estadística ( $P < 0.05$ )

Sin embargo, Sánchez y Aguirreola (1996) mencionaron que hay un mayor número de estomas en la parte abaxial (envés) de las hojas, coincidiendo con los resultados obtenidos en el pasto Lobero. Respecto a la clasificación de los estomas según el número y disposición de las células, se observó que el pasto Lobero presenta estomas de tipo Diacítico o Cariofiláceo (Fig. 3). Este tipo de estomas se caracteriza por tener dos células subsidiarias en forma arriñonada y se encuentran alineados con las células epidérmicas. Los estomas son estructuras microscópicas presentes en la epidermis de las hojas de las plantas y son responsables de controlar el intercambio de vapor de agua y  $\text{CO}_2$  entre la planta y el medio ambiente (Bertolino *et al.*, 2019). Además, según la teoría de difusión física, se ha

demostrado en varias especies que un alto número de estomas reduce el área estomática para compensar la escasez de CO<sub>2</sub> (Haworth *et al.*, 2013; Field *et al.*, 2015; Bertolino *et al.*, 2019).



**Figura 3.** Estomas de tipo diacítico o cariofiláceo en pasto Lobero (*Muhlenbergia phleoides*), procedentes de Chihuahua, México.

**Figure 3.** Diacitic or caryophyllaceous type stomata in Wolfstail Grass (*Muhlenbergia phleoides*), from Chihuahua, Mexico.

Por otro lado, el área estomática fue mayor en la parte adaxial (299.4 mm<sup>2</sup>) que en la abaxial (268.1 mm<sup>2</sup>). El tamaño del estoma es una variable crucial para la fotosíntesis, ya que un mayor tamaño aumenta la absorción de CO<sub>2</sub>, beneficiando la producción de biomasa y el crecimiento de la planta (Álvarez-Holguín *et al.*, 2018), siempre y cuando el agua no sea un limitante (Liu *et al.*, 2019). Finalmente, el índice estomático, al igual que las demás variables, mostró un índice mayor en la parte adaxial (17.9) que en la abaxial (16.4) del pasto Lobero. Álvarez-Holguín *et al.* (2018) encontraron que tres variedades (Vaughn, Niner y El Reno) y dos genotipos (E-689 y E-592) de pasto Banderita (*Bouteloua curtipendula*) presentaban un índice estomático mayor en la parte abaxial (17.1) que en la adaxial (14.9), resultados similares a los obtenidos en el pasto Lobero. El índice estomático proporciona información sobre la cantidad de estomas y células epidérmicas en una determinada área de la superficie foliar (Álvarez-Holguín *et al.*, 2018). Esta variable es menos susceptible a los factores mencionados, lo que permite comparar la densidad de estomas entre individuos de la misma especie y entre diferentes especies de plantas, proporcionando información sobre sus adaptaciones fisiológicas y su respuesta a condiciones ambientales específicas (Croxdale, 2000; Wang *et al.*, 2007).

## 4. Conclusión

El pasto Lobero se clasifica como una especie anfiestomática debido a la presencia de estomas en ambas superficies de la lámina foliar, tanto en el haz (adaxial) como en el envés (abaxial).

Se observó que los estomas y células epidérmicas presentaron un mayor número en la superficie abaxial, mientras que el área e índice estomático fueron mayores en la parte adaxial.

La caracterización estomática emerge como una técnica valiosa que proporciona información detallada sobre la estructura de las especies vegetales, incluido el pasto Lobero. Esta información puede ser de gran utilidad para comprender mejor su fisiología y ecología, lo que a su vez puede contribuir a su adecuado manejo y conservación.

Por lo tanto, se sugiere la realización de estudios adicionales sobre la eficiencia fotosintética del pasto Lobero. Estos estudios podrían proporcionar una comprensión más completa de su funcionamiento fisiológico y su interacción con el entorno, lo que ayudaría a diseñar estrategias más efectivas para su gestión y conservación.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.



## 5. References

- Abdulahi, M. M., Hashim, H. & Teha, M. (2016). Rangeland degradation: Extent, impacts, and alternative restoration techniques in the rangelands of Ethiopia. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 19(3): 305–318. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/2234>
- Álvarez-Holguín, A., Morales-Nieto, C. R., Corrales-Lerma, R., Avendaño-Arrazate, C. H., Rubio-Arias, H. O. & Villarreal-Guerrero, F. (2018). Caracterización estomática, concentración de clorofila y su relación con producción de biomasa en *Bouteloua curtipendula*. *Agronomía Mesoamericana* 29(2): 251–261. <https://doi.org/10.15517/ma.v29i2.29900>
- Bardgett, R. D., Bullock, J. M., Lavarel, S., Manning, P., Schaffner, U., Ostle, N. & Shi, H. (2021). Combatting global grassland degradation. *Nature Reviews Earth & Environment* 2(10): 720–735. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s43017-021-00207-2>
- Bertolino, L. T., Caine, R. S. & Gray, J. E. (2019). Impact of stomatal density and morphology on water-use efficiency in a changing world. *Frontiers in Plant Science* 10: 225. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00225/FULL>
- Bucher, S. F., Auerswald, K., Grün-Wenzel, C., Higgins, S. I., Jorge, J. G. & Römermann, C. (2017). Stomatal traits relate to habitat preferences of herbaceous species in a temperate climate. *Flora* 229: 107–115. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367253017331328>
- Croxdale, J. L. (2000). Stomatal patterning in angiosperms. *American Journal of Botany* 87(8): 1069–1080. <https://doi.org/10.2307/2656643>
- Field, K. J., Duckett, J. G., Cameron, D. D. & Pressel, S. (2015). Stomatal density and aperture in non-vascular land plants are non-responsive to above-ambient atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. *Annals of Botany* 115(6): 915–922. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv021>
- Haworth, M., Elliott-Kingston, C. & McElwain, J. C. (2013). Co-ordination of physiological and morphological responses of stomata to elevated [CO<sub>2</sub>] in vascular plants. *Oecologia* 171(1): 71–82. <https://doi.org/10.1007/S00442-012-2406-9>
- INEGI. (2013). Cartografía de uso de suelo y vegetación del estado de Chihuahua.
- INEGI. (2015). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Anuario estadístico y geográfico de Chihuahua.
- Klooster, B. & Palmer-Young, E. (2004). Water stress marginally increases stomatal density in *E. canadensis*, but not in *A. gerardii*. *Tillers* 5: 35–40.
- Lawson, T. & Blatt, M. R. (2014). Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. *Plant Physiology* 164(4): 1556–1570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1104/pp.114.237107>

- Liu, C., He, N., Zhang, J., Li, Y., Wang, Q., Sack, L. & Yu, G. (2018). Variation of stomatal traits from cold temperate to tropical forests and association with water use efficiency. *Functional Ecology* 32(1): 20–28. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12973>
- Márquez-Godoy, J. N., Corrales-Lerma, R., Álvarez-Holguín, A., Villarreal-Guerrero, F., Santellano-Estrada, E., Pinedo-Álvarez, A. & Morales-Nieto, C. R. (2022). Diversidad morfológica y nutricional de poblaciones de pasto lobo (Muhlenbergia phleoides Columbus) en Chihuahua, México. *Acta Universitaria* 32: 1–16. <https://doi.org/https://doi.org/10.15174/au.2022.3404>
- Morales-Nieto, C. R., Avendaño-Arrazate, C., Melgoza-Castillo, A., Gil-Vega, K. D. C., Quero-Carrillo, A., Jurado-Guerra, P. & Martínez-Salvador, M. (2016). Caracterización morfológica y molecular de poblaciones de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) en Chihuahua, México. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias* 7(4): 455–469. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242016000400455&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242016000400455&script=sci_arttext)
- Morales-Nieto, C. R., Avendaño-Arrazate, C., Melgoza-Castillo, A., Martínez-Salvador, M. & Jurado-Guerra, P. (2015). Caracterización morfológica y molecular de poblaciones de zacate temprano (*Setaria macrostachya* Kunth) en Chihuahua, México. *Phyton*, 84(1): 190–200. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-56572015000100026&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-56572015000100026&script=sci_arttext)
- Parkhurst, D. F., Wong, S. C., Farquar, G. D. & Cowan. I. R. (1988). Gradients of intracellular CO<sub>2</sub> levels across the leaf mesophyll. *Plant Physiol.* 86:1032-1037. doi:10.1104/pp.86.4.1032
- Reyes-López, D., Quiroz-Valentín, J., Kelso-Bucio, H. A., Huerta-Lara, M., Avendaño-Arrazate, C. H. & Lobato-Ortiz, R. (2015). Caracterización estomática de cinco especies del género *Vanilla*. *Agronomía Mesoamericana* 26(2): 237–246. <https://doi.org/10.15517/am.v26i2.19279>
- Sánchez, M. & Aguirreola, J. (1996). Relaciones hídricas. *Fisiología y bioquímica vegetal*. Edigrafos. Madrid. España. 49-90.
- Statistical Analysis System (SAS). (2006). *Statistical Analysis System 9.1.3: User's guide*. Cary. [https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/stat\\_ug\\_7313.pdf](https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/stat_ug_7313.pdf)
- Trod, M. A., Tomas, P. A., Cervigni, G. D., Zabala, J. M., Marinoni, L. D. & Giavedoni, J. A. (2018). Análisis de la distribución y densidad estomática en *Trichloris* (Chloridoideae, Poaceae), bajo diferentes regímenes hídricos. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 53(4): 1-10. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n4.21979>
- Wang, Y., Chen, X. & Xiang, C. B. (2007). Stomatal density and bio-water saving. *Journal of Integrative Plant Biology* 49(10): 1435-1444. <https://doi.org/10.1111/j.1672-9072.2007.00554.x>
- Wilkinson, R. H. (1979). The plant surface (mainly leaf). In Claredon Press. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980075013058688>
- Woodward, F. I. & Kelly, C. K. (1995). The influence of CO<sub>2</sub> concentration on stomatal density. *New Phytologist* 131(3): 311-327. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb03067.x>
- Zermeño-González, A., Ríos-Estudillo, J. A., Gil-Marín, J. A., Cadena-Zapata, M. & Villarreal-Quintanilla, J. Á. (2011). Dinámica del flujo de bióxido de carbono y de energía sobre un pastizal natural del norte de México. *Bioagro* 23(1): 35–42. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612011000100005](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612011000100005)

Zhou, W., Yang, H., Zhou, L., Chen, Y., Huang, L. & Ju, W. (2018). Dynamics of grassland carbon sequestration and its coupling relation with hydrothermal factor of Inner Mongolia. *Ecological Indicators* 95: 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.07.008>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

# Temporal evolution of nitrate in Meoqui-Delicias aquifer in Chihuahua, Mexico

Evolución temporal de nitrato en el acuífero Meoqui-Delicias en Chihuahua, México

**María Socorro Espino-Valdés<sup>1\*</sup>, Nayeli Villalobos-Gutiérrez<sup>1</sup>, Mélida Gutiérrez<sup>2</sup>, Humberto Silva-Hidalgo<sup>1</sup> y Adán Pinales-Munguía<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ingeniería, Circuito Universitario, Campus II, 31124 Chihuahua, Chih. México

<sup>2</sup> Missouri State University, Department of Geography, Geology and Planning, Springfield Missouri, USA, 65897

\*Correspondencia: Correo electrónico: mespino@uach.mx (María Socorro Espino-Valdés)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i1.1415>

**Recibido:** Fecha de recepción: 17 de noviembre de 2023; **Aceptado:** Fecha de aceptación: 15 de abril de 2024  
Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.  
Editor de Sección: Dr. Rubén Francisco González-Laredo

## Abstract

The continued input of nitrate (NO<sub>3</sub>) into groundwater is a global problem, mainly associated to excess fertilizer and improper disposal of human and livestock waste. Nitrate accumulation in oxic aquifers of semiarid areas makes these zones especially susceptible to pollution. Nitrate in Meoqui-Delicias aquifer, located in an important irrigation district in Chihuahua, Mexico, was quantified in 2021 in 63 drinking water wells. Samples collected were analyzed in laboratory and results were compared to 2003 and 2006 data available for those wells. Nitrate values varied from 0.7 to 23.2 mg/L and 22 % of the wells contained NO<sub>3</sub> above drinking water guidelines (10 mg NO<sub>3</sub>-N/L). A low to moderate nitrate pollution index (NPI) and a slight NO<sub>3</sub>-N variation with time was observed for most wells. Values of NO<sub>3</sub>-N/Cl < 1.0 support an anthropogenic origin of nitrate. No association was found between NO<sub>3</sub>-N and well depth. The most susceptible areas to nitrate contamination were identified as those areas with high NO<sub>3</sub>-N and increasing concentration with time. The lack of a pattern of contamination suggested leakage of manure leachate at a few points as the most likely contamination source. The consistently high NO<sub>3</sub>-N content (>10 mg/L) in three deep wells constitutes a serious concern.

**Keywords:** Nitrate pollution, irrigation, semiarid, water quality, manure leachate, Chihuahua



## Resumen

La aportación continua de nitrato ( $\text{NO}_3$ ) en aguas subterráneas es un problema mundial, asociado principalmente al exceso de fertilizantes y a la disposición inadecuada de desechos humanos y ganaderos. En 2021 se cuantificó el nitrato en 63 pozos de agua potable del acuífero Meoqui-Delicias, ubicado en un importante distrito de riego en Chihuahua, México. Las muestras colectadas fueron analizadas en el laboratorio y los resultados se compararon con datos de 2003 y 2006 de los mismos pozos. Los nitratos variaron de 0.7 a 23.2 mg/L; el 22 % de los pozos sobrepasaron la norma (10 mg de  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ). Se observó un índice de contaminación por nitrato entre bajo y moderado y una ligera variación del  $\text{NO}_3\text{-N}$  con el tiempo para la mayoría de los pozos. Valores de  $\text{NO}_3\text{-N/Cl} < 1.0$  sugieren origen antropogénico del nitrato. No se encontró relación entre  $\text{NO}_3\text{-N}$  y la profundidad del pozo. Las áreas de alto contenido de  $\text{NO}_3\text{-N}$  y concentración creciente con el tiempo son las más susceptibles a la contaminación. La falta de un patrón de contaminación sugiere que los residuos ganaderos constituyen la fuente probable de contaminación en algunos puntos. El constante y alto contenido de  $\text{NO}_3\text{-N}$  ( $>10$  mg/L) en tres pozos profundos constituye una preocupación.

**Palabras clave:** Contaminación por nitratos, irrigación, semiárida, calidad del agua, residuos ganaderos, Chihuahua.

## 1. Introduction

The presence of groundwater nitrate ( $\text{NO}_3$ ) has been recognized as a global problem because of its gradual increase in aquifers around the world (Galloway *et al.*, 2008), its capacity to degrade drinking water quality, and its ability to cause eutrophication to surface water bodies and to the ocean (Diaz and Rosenberg, 2008; Hamlin *et al.*, 2022). The main source of  $\text{NO}_3$  in groundwater has been traced back to an excess of N-fertilizer applied to crops, either in the form of mineral N-fertilizer or as manure (Galloway *et al.*, 2008; Vitousek *et al.*, 2009; Bijay and Craswell, 2021). Fertilizers are often applied to crops in excessive amounts or out of the appropriate season (Gomes *et al.*, 2023).

Nitrate ( $\text{NO}_3$ ) is a highly stable and soluble ion under the oxic and alkaline conditions that prevail in aquifers in arid and semiarid areas (Re *et al.*, 2021). Under these conditions,  $\text{NO}_3$  barely adsorbs or precipitates, and thus accumulates in aquifers (Hansen *et al.*, 2017; Xiao *et al.*, 2022) where it may remain in dissolved form for a long time (Gutiérrez *et al.*, 2018; Mateo-Sagasta and Albers, 2018). In arid and semiarid regions that have intensive agriculture and livestock farming a high content of  $\text{NO}_3$  is thus expected.

Since water quality of open aquifers under intense agricultural and livestock land use varies with time, time series statistical methods have been a useful tool to determine and map its evolution and to confirm statistically significant trends (Ducci *et al.*, 2020; Hamlin *et al.*, 2022). These methods require a minimum of 8 to 10 measurements (e.g., years), an asset that many semiarid areas may not have. Therefore, and in absence of a better alternative, information about the spatial  $\text{NO}_3$  concentrations and a rough estimation of their variation with time can be used to strategize water management in agricultural and livestock areas lacking proper monitoring (Li *et al.*, 2021), at least until more data are gathered.

Groundwater is the major source of drinking water in arid and semiarid areas. The gradual increase of  $\text{NO}_3$  in the groundwater is an adverse finding since chronic ingestion of water containing high levels of  $\text{NO}_3$  is harmful to humans, especially to infants under 6 months, who may develop methemoglobinemia or cyanosis (Panneerselvam *et al.*, 2020; Hamlin *et al.*, 2022). The WHO limit for drinking water is 10 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ; however, threshold values lower than 10 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  have been proposed since human and environmental health complications starting at lower concentrations after prolonged exposure, including 4.5 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (Panneerselvam *et al.*, 2020) and 2 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (Hamlin *et al.*, 2022). Environmental impacts of  $\text{NO}_3$  include a major role in stimulating phytoplankton growth, which may result in eutrophication and the development of hypoxic zones in oceans (Diaz and Rosenberg, 2008). To curb these negative effects on the environment, a threshold concentration of 3 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  has been proposed (USEPA, 2007).

The N-cycle is complex, which makes the origin of  $\text{NO}_3$  difficult to pinpoint because of the many possible natural or anthropogenic sources. Natural sources include atmospheric deposition and dissolution of N-containing minerals. For most aquifers, these sources combined amount to a minor contribution of the  $\text{NO}_3$  compared with its anthropogenic sources. As a result,  $\text{NO}_3$  is considered an anthropogenic contaminant associated with an excess of N-fertilizer applied in agriculture (either mineral fertilizer or manure) and domestic wastewater effluents (raw or treated wastewater and septic tanks) (Mateo-Sagasta and Albers, 2018; Gutiérrez *et al.*, 2022). A notable exception includes arid regions where natural  $\text{NO}_3$  deposits form in the subsurface of arroyo floodplains (Walvoord *et al.*, 2003; Linhoff, 2022). These natural deposits have a ratio  $\text{NO}_3\text{-N/Cl} > 1.5$  and  $\delta^{15}\text{N}(\text{NO}_3) < 8 \text{ ‰}$ . (Linhoff, 2022). These deposits have been observed in several desert areas around the world, including parts of the Chihuahuan Desert (Walvoord *et al.*, 2003).

Besides contributing to aquifer contamination and eutrophication of surface waters,  $\text{NO}_3$  from agricultural non-point sources represents a loss of fertilizer resource and loss of profit to the farmer. Therefore, management techniques that would minimize these losses are constantly sought (Rudolph *et al.*, 2015; Hansen *et al.*, 2017; Sapkota *et al.*, 2020). Another N compound generated in irrigated agricultural fields is nitrous oxide ( $\text{N}_2\text{O}$ ), a potent greenhouse gas that is cumbersome to measure and thus scarcely reported (Sapkota *et al.* 2020). However, the amount of N that becomes  $\text{N}_2\text{O}$  is generally a small fraction of the amount of  $\text{NO}_3$  formed (Millar *et al.*, 2018).

If the content of  $\text{NO}_3$  and other N-compounds in surface waters and soil is high, plants will absorb the amount they need, a small part will become gases, and most of the remaining N-compounds will infiltrate through the soil and into the underlying aquifer. The infiltration rate is a complex process that depends on many factors, including the soil type, amount of nitrogen in soils, recharge of the aquifer, and depth to water table. Nitrate leakage into groundwater is faster and easier through soils of high permeability (Gomes *et al.*, 2023). Because of their high solubility,  $\text{NO}_3$  is easily carried by infiltration water and becomes a common contaminant in oxic aquifers underlying agricultural and livestock areas (Gutiérrez *et al.*, 2018). An economically sustainable N-management is needed to prevent  $\text{NO}_3$  leakage to groundwater (Rudolph *et al.*, 2015; Gutiérrez *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2021; Hamlin *et al.*, 2022). Mechanisms that would naturally remove nitrate from the soil, surface water reservoirs, and aquifers, include denitrification and ammonification, both occurring under reduced conditions (Tesoriero *et al.*, 2021; Gutiérrez *et al.*, 2022). Among the most promising methods for reducing loss of nitrogen in irrigated arid areas are the synchronization of fertilization to coincide with rapid plant growth, slowly released fertilizer, and nitrification inhibition. For example, sensor technology can match the application of fertilizer to the nutritional needs of the plant during the different growth

stages, and inhibitors of biological nitrification are commercially available (Norton and Ouyang, 2019; Drazic *et al.*, 2020). However, these novel methods may take years to become an across-the-board procedure used by farmers.

The Meoqui-Delicias aquifer in northern Mexico underlies an irrigated agricultural area within the Chihuahuan Desert. Like other semiarid agricultural areas (Mukherjee and Singh, 2021; Re *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2022), high levels of nitrate ( $> 10$  mg/L  $\text{NO}_3\text{-N}$ ) in wells within this aquifer have been reported (Espino *et al.*, 2007; Barrera, 2008; Rascón, 2011). Despite this, groundwater quality studies of this region are scarce, and a temporal analysis has not been reported for this region, nor the distribution of N-species ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{N}_{\text{org}}$ ).

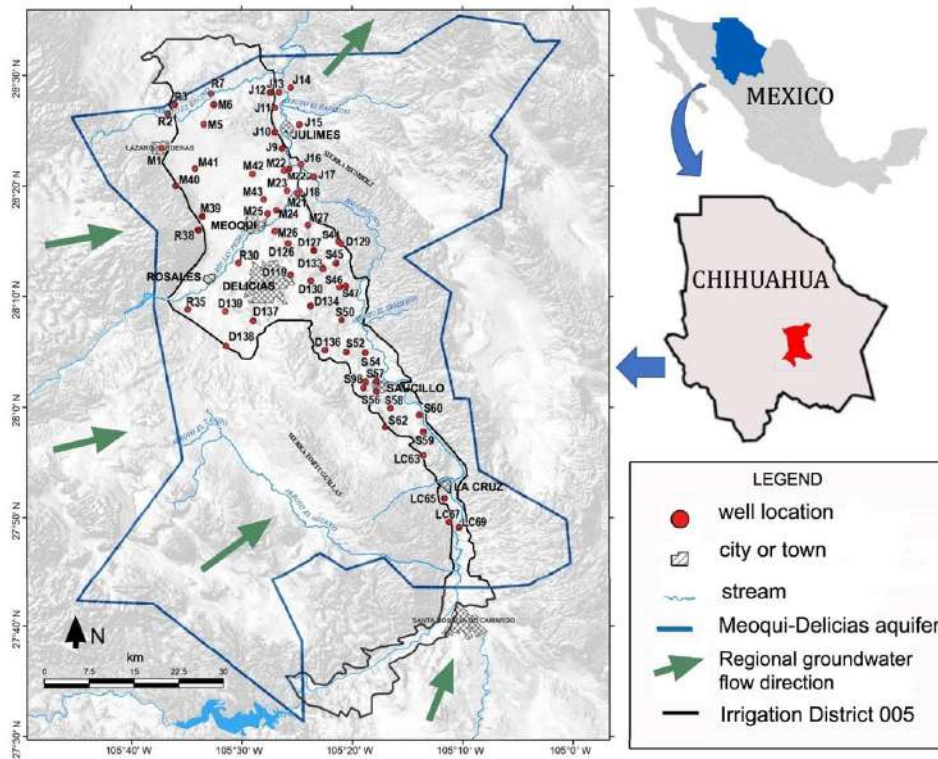
Although an upward trend in  $\text{NO}_3$  concentration is expected in this region due to its semiarid climate, oxidizing conditions in the aquifer, and ongoing intense agriculture, this assumption needs to be confirmed. The objectives of this study were to: (1) update the spatial distribution of  $\text{NO}_3$  concentrations for 2021 throughout the aquifer using data from 63 wells; (2) compare the 2021  $\text{NO}_3$  values with those reported for these same wells in 2003 and 2006 to determine the variation with time for each well and their possible source, and (3) plot the spatial distribution of  $\text{NO}_3$  variation to identify the most affected and at-risk areas.

## 2. Materials and methods

### 2.1 Description of study area

The Meoqui-Delicias aquifer underlies an irrigated agricultural region known as Distrito de Riego 005 in northern Mexico (Fig. 1). The climate is semiarid, with an average annual precipitation of 284 mm. The Meoqui-Delicias aquifer occupies a surface area of 4,830  $\text{km}^2$ , has a maximum thickness of about 500 m and an average thickness of 300 m. The aquifer is composed of alluvial fill, a material of medium to high permeability, which is mainly recharged at alluvial fans present at the base of the hills rising on its western and eastern parts. This is primarily an open aquifer, but under clay lenses it operates as a confined aquifer (Villalobos-Gutiérrez, 2021).

Recharge in the aquifer occurs naturally and induced. In the first case, rainwater is collected directly in the valley area and through underground horizontal flows coming from the surrounding foothill areas. The induced recharge comes from the infiltration of surplus irrigation water, which contains both groundwater and surface water (CONAGUA, 2020). This component in the groundwater balance represents an important contribution to the vertical flow that allows for the introduction of solutes to the unsaturated and saturated zones of the aquifer.



**Figure 1.** Location of the Meoqui-Delicias aquifer (blue line), Irrigation District 005 (black line) and sampled wells (red dots).

**Figura 1.** Localización del acuífero Meoqui-Delicias (línea azul), Distrito de Riego 005 (línea negra) y pozos muestreados (puntos rojo).

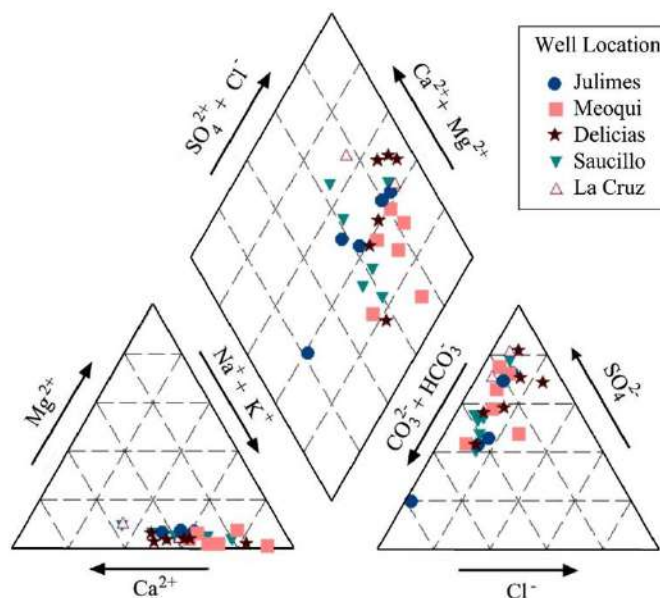
The irrigated area grows summer and winter crops. Summer crops include mainly alfalfa, pecan nut and jalapeño pepper, and to a lesser extent onions, sorghum, and cotton. Winter crops consist of mainly forage grasses. Pecan nut has gained relevance in the region, for which its production has increased significantly in recent years. This crop requires basic fertilizers or macroelements, such as nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) to improve yield levels and product quality. Pecan producing orchards are applied 80 to 100 kg of nitrogen per hectare; a large quantity considering that nitrogen applications by gravity irrigation incur in losses between 30 and 45 % of the fertilizer (INIFAP, 2013). Both pecan nut and jalapeño peppers receive large amounts of nitrogen fertilizers, which are applied through irrigation. Some common choices of fertilizer include organic fertilizers as urea and manure, but also a wide variety of mineral fertilizers such as potassium nitrate, potassium phosphonate, ammonium nitrate and ammonium sulfate (INIFAP, 2015).

Alfalfa is a crop that, through the symbiotic relationship with atmospheric nitrogen-fixing bacteria of the genus *Rhizobium*, produces its own nitrogen compounds. However, significant amounts of organic fertilizers are applied in the area to improve soil quality and to retain moisture, as well as ammonium phosphate to improve productivity (Lara and Jurado, 2014).

This area is also an important dairy producer nation-wide, with more than 100 farms housing over 72,000 dairy cows (Rivas *et al.*, 2008, 2018). The dairy farms are scattered within the irrigation district DR-005, mainly in the municipalities of Delicias, Rosales, Meoqui and Saucillo, in the central part of the aquifer. Among these, there are large dairy cattle farms in which advanced technology is applied for the handling of livestock and dairy. However, small dairy farming operations are common as well (Barrera, 2008). The wastes generated by dairy farms are used to irrigate nearby fields (Rivas-Lucero *et al.*, 2018), which allows us to assume that large amounts of solid and liquid waste with high nitrogen content are spread over the fields, and that a part of it may leach into the groundwater (Rivas-Lucero *et al.*, 2018).

In addition, domestic sewage was mostly discharged into streams with limited to no treatment. In this regard, a previous study by Espino *et al.* (2007) found that 34 % of 134 wells in this area contained high  $\text{NO}_3$  concentration. A  $\text{NO}_3$ -N source apportionment (manure, inorganic fertilizer, sewage) study was conducted by Espino *et al.* (2011) using N-15 isotope analyses of 39 groundwater samples corresponding to a small area of the study region. The results showed that 15 wells (38 % of total) surpassed the drinking water limit of 10 mg/L  $\text{NO}_3$ -N. Isotope analyses of 19 samples, including urban and rural wells, found that mineral fertilizer was the source for  $\text{NO}_3$  in 11 % of the wells, sewage, and manure in 52 % of the wells, and a combination of fertilizer and sewage and manure in 37 % of the wells. In rural areas, the source was a mixture of fertilizer residues, whereas in urban areas, the source for 90 % of the analyzed wells was organic wastes.

Based on the results obtained by Barrera (2008) and Rascón (2011), groundwater is primarily of Na-Ca- $\text{SO}_4$ - $\text{HCO}_3$  type. A Piper diagram (Fig. 2) shows the water composition of representative wells that are classified according to their location within the aquifer. Only 25 out of the 63 wells are included in Fig. 2 to allow a better visualization.



**Figure 2.** Piper diagram showing major ion composition of groundwater according to regions within the Meoqui-Delicias aquifer.

**Figura 2.** Diagrama de Piper que muestra la composición de iones mayores del agua subterránea por regiones en el acuífero Meoqui-Delicias.

## 2.2 Sampling and analysis

Groundwater from 63 wells were sampled from December 2020 to January 2021. The wells were selected to match those previously studied by Espino *et al.* (2007), which had been originally selected as to provide a good coverage of the area. Temperature, pH, and electrical conductivity were determined *in situ* using a portable multi-parameter probe HANNA HI 9828 equipment. The TDS values were obtained by direct conversion in this equipment based on the linear relationship between both parameters. Samples were collected in 250 ml clean plastic bottles and kept cool during their transport to the laboratory. Once in the laboratory, NO<sub>3</sub>-N concentrations were measured with a Hach DR/890 colorimeter using the cadmium reduction method. In this method, NO<sub>3</sub> is reduced to nitrite (NO<sub>2</sub>) and measured together as NO<sub>3</sub>+NO<sub>2</sub> (Villalobos-Gutiérrez, 2021). Due to the oxidizing conditions in this and adjacent aquifers (Mahlknecht *et al.*, 2008; Reyes-Gómez *et al.*, 2015; CONAGUA, 2022), the amount of NO<sub>2</sub> is about two orders of magnitude smaller than NO<sub>3</sub>, for which (NO<sub>3</sub>+NO<sub>2</sub>) can be approximated to NO<sub>3</sub>. Chloride concentrations were determined by titration using the argentometric method (Secretaría de Economía, 2001). Blanks of three-distillated water were used for equipment calibration and at least one out of every 10 samples were run in duplicate.

## 2.3 Data processing

The locations of the wells were plotted using ArcMap and nitrate isoconcentration lines were constructed at 2 mg/L NO<sub>3</sub>-N interval for the 2021 data to show the spatial distribution of NO<sub>3</sub>-N concentrations. To observe the evolution of this parameter over time, results obtained in the sampling campaign carried out in January 2021 (2021 data) were compared with values reported by the Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) in 2003 and with samples collected in 2006 reported by Barrera (2008) and Rascón (2011) for the same wells.

For temporal variations, the total number of samples was reduced from 63 to 60 after removing wells missing a measurement. Each well was classified into one of five possible groups based on the slope of the line obtained in the regression analysis applied to the variation in nitrate concentration with respect to time: increase, minor increase, no change, minor decrease, and decrease. The small number of available measurements (3) precluded a formal calculation of a trend, which requires a minimum of eight measurements (Ducci *et al.*, 2020). Therefore, a simplification was devised to provide an estimation rather than a calculation of a concentration trend based on the regression coefficient of the best-fitting line of NO<sub>3</sub>-N versus time graphs. The slope of its regression line was used as an indicator value of the trend in the variation of the concentration.

## 2.4 Nitrate Pollution Index

The Nitrate Pollution Index (NPI) for 2021 data was calculated according to the formula below (Obeidat *et al.*, 2012):

$$\text{NPI} = \frac{C - \text{HAV}}{\text{HAV}} \quad (1)$$

where C is the analytical concentration of nitrate in the sample and HAV is the threshold value of anthropogenic source (human affected value) taken as 4.51 mg/L NO<sub>3</sub>-N (20 mg/L NO<sub>3</sub>).

## 3. Results and discussion

The water quality results of the 2021 sampling campaign are listed in Table 1. Wells are labeled with a letter corresponding to the nearest town (D for Delicias, J for Julimes, LC for La Cruz, M for Meoqui, R for Rosales and S for Saucillo) followed by a number.

Nitrate concentrations varied between 0.7 and 23.2 mg/L NO<sub>3</sub>-N and had an average of 7.5 mg/L NO<sub>3</sub>-N. Most of the wells (62 %) had a modest nitrate content, 22 % of the wells surpassed the WHO guideline of 10 mg/L NO<sub>3</sub>-N, and 16 % had low values (< 3 mg/L NO<sub>3</sub>-N). These results agree with the obtained NPI results, which show that the sampled wells cover all levels of pollution and overall has a moderate NO<sub>3</sub> pollution, with 33.3 % of the wells having moderate to very significant NO<sub>3</sub>-N concentrations. The NPI results are listed in Table 2. Another important observation from data in Table 1 is the NO<sub>3</sub>-N /Cl ratio < 1 in all cases, which according to Linhoff (2022) relates nitrate with an anthropogenic origin derived from human and animal manure.

**Table 1.** Water quality data of wells in the 2021 sampling campaign

**Tabla 1.** Datos de calidad del agua de los pozos en la campaña de muestreo 2021

| Well | T °C | pH  | TDS mg/L | NO <sub>3</sub> -N mg/L | Cl mg/L | NO <sub>3</sub> -N/Cl | Well | T °C | pH  | TDS mg/L | NO <sub>3</sub> -N mg/L | Cl mg/L | NO <sub>3</sub> -N/Cl |
|------|------|-----|----------|-------------------------|---------|-----------------------|------|------|-----|----------|-------------------------|---------|-----------------------|
| D119 | 18.2 | 7.1 | 1128     | 11.5                    | 50      | 0.34                  | M23  | 18.7 | 8.0 | 690      | 17.0                    | 52      | 0.27                  |
| D126 | 21.3 | 7.3 | 775      | 11.8                    | 40      | 0.27                  | M24  | 21.9 | 7.4 | 539      | 11.4                    | 36      | 0.15                  |
| D127 | 23.5 | 7.4 | 1333     | 8.0                     | 221     | 0.05                  | M25  | 22.0 | 7.3 | 604      | 10.4                    | 27      | 0.32                  |
| D129 | 26.1 | 6.4 | 784      | 23.2                    | 66      | 0.23                  | M26  | 27.2 | 7.5 | 355      | 11.2                    | n.d.    | n.d.                  |
| D130 | 18.2 | 7.3 | 2059     | 10.8                    | 363     | 0.03                  | M27  | 27.7 | 7.1 | 675      | 15.8                    | n.d.    | n.d.                  |
| D133 | 24.0 | 6.7 | 1307     | 20.1                    | 87      | 0.13                  | M39  | 10.8 | 7.9 | 383      | 4.6                     | 8       | 0.89                  |
| D134 | 24.7 | 7.5 | 862      | 9.8                     | n.d.    | n.d.                  | M40  | 21.8 | 7.0 | 398      | 4.9                     | 19      | 0.21                  |
| D136 | 25.7 | 7.2 | 863      | 7.0                     | n.d.    | n.d.                  | M41  | 17.5 | 7.4 | 434      | 7.0                     | 26      | 0.22                  |
| D137 | 20.0 | 7.3 | 519      | 5.9                     | 8       | 0.93                  | M42  | 22.3 | 7.5 | 618      | 9.0                     | 49      | 0.10                  |
| D138 | 21.4 | 6.0 | 1057     | 15.0                    | 83      | 0.08                  | M43  | 24.3 | 7.4 | 727      | 5.1                     | 46      | 0.12                  |
| D139 | 25.0 | 7.7 | 520      | 4.4                     | 33      | 0.53                  | R2   | 22.4 | 7.4 | 587      | 5.4                     | 59      | 0.20                  |
| J9   | 18.3 | 8.3 | 1056     | 0.7                     | 149     | 0.03                  | R3   | 17.5 | 7.5 | 429      | 4.2                     | 31      | 0.38                  |

|       |      |     |      |      |      |      |      |      |     |      |      |      |      |
|-------|------|-----|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|
| J10   | 22.9 | 7.1 | 1587 | 1.0  | 273  | 0.03 | R7   | 24.3 | 8.1 | 490  | 2.0  | 46   | 0.05 |
| J11   | 23.1 | 7.5 | 1031 | 1.4  | 118  | 0.02 | R30  | 15.9 | 8.2 | 418  | 1.4  | 19   | 0.51 |
| J12   | 22.3 | 7.1 | 1429 | 2.6  | 108  | 0.04 | R35  | 23.1 | 6.9 | 951  | 7.9  | 78   | 0.04 |
| J13   | 22.2 | 7.1 | 1429 | 2.7  | 101  | 0.06 | R38  | 12.8 | 7.6 | 330  | 2.5  | 11   | 0.22 |
| J14   | 19.0 | 7.3 | 1221 | 4.4  | 85   | 0.07 | S44  | 19.9 | 7.6 | 583  | 5.2  | 42   | 0.26 |
| J15   | 23.5 | 7.0 | 1193 | 2.4  | 106  | 0.09 | S45  | 21.1 | 7.8 | 575  | 7.8  | 23   | 0.30 |
| J16   | 19.8 | 7.4 | 890  | 2.2  | 52   | 0.03 | S46  | 21.2 | 7.0 | 817  | 17.8 | n.d. | n.d. |
| J17   | 13.7 | 7.5 | 720  | 1.8  | 78   | 0.04 | S47  | 22.4 | 7.0 | 735  | 7.3  | n.d. | n.d. |
| J18   | 25.5 | 7.2 | 840  | 5.2  | 66   | 0.05 | S50  | 23.0 | 7.5 | 581  | 13.4 | n.d. | n.d. |
| LC63  | 18.6 | 7.3 | 762  | 6.6  | 101  | 0.08 | S52  | 23.0 | 7.6 | 755  | 19.8 | n.d. | n.d. |
| LC65  | 21.9 | 7.8 | 914  | 3.5  | n.d. | n.d. | S54  | 21.0 | 7.3 | 786  | 7.2  | n.d. | n.d. |
| LC67  | 21.6 | 7.2 | 739  | 5.2  | 33   | 0.28 | S56  | 24.6 | 6.7 | 834  | 9.0  | n.d. | n.d. |
| LC69  | 25.1 | 7.4 | 884  | 6.2  | 50   | 0.18 | S562 | 27.0 | 7.2 | 843  | 10.9 | n.d. | n.d. |
| M1    | 20.9 | 7.3 | 401  | 4.6  | 31   | 0.17 | S57  | 24.9 | 7.6 | 456  | 4.5  | n.d. | n.d. |
| M5    | 24.5 | 8.3 | 469  | 3.6  | 32   | 0.59 | S58  | 15.4 | 7.2 | 1020 | 7.2  | 47   | 0.29 |
| M6    | 18.7 | 7.9 | 953  | 11.9 | 113  | 0.11 | S59  | 22.4 | 7.6 | 444  | 5.9  | 30   | 0.44 |
| M19   | 14.1 | 8.0 | 701  | 8.9  | n.d. | n.d. | S60  | 22.4 | 7.3 | 454  | 7.3  | 27   | 0.27 |
| M21   | 22.1 | 7.2 | 739  | 4.2  | 52   | 0.27 | S62  | 23.4 | 7.4 | 793  | 6.6  | 40   | 0.16 |
| M22   | 25.2 | 7.5 | 842  | 3.4  | 36   | 0.15 | S98  | 22.2 | 7.2 | 668  | 9.6  | n.d. | n.d. |
| M22-2 | 13.5 | 7.2 | 1000 | 2.5  | 27   | 0.33 |      |      |     |      |      |      |      |

n.d. = not detected

**Table 2.** Nitrate pollution index (NPI) classification of groundwater (Obeidat *et al.*, 2012) for 2021 samples  
**Tabla 2.** Clasificación del agua subterránea de acuerdo con el Índice de Contaminación por Nitrato (NPI) (Obeidat *et al.*, 2012) para las muestras 2021

| NPI value | Degree of pollution | No. wells | % wells |
|-----------|---------------------|-----------|---------|
| < 0       | Clean               | 17        | 27.0    |
| 0 - 1     | Light               | 25        | 39.7    |
| 1 - 2     | Moderate            | 13        | 20.6    |
| 2 - 3     | Significant         | 5         | 7.9     |
| > 3       | Very significant    | 3         | 4.8     |

The nitrate concentration values reported for these wells in 2003 and 2006 were added to the 2021 data in order to compare the changes of NO<sub>3</sub>-N concentrations with time. The data are listed in Table 3 and their spatial distribution in Figure 3, with shaded areas corresponding to high NO<sub>3</sub>-N concentrations. After visually comparing the three maps (Fig. 3), one can see that the high NO<sub>3</sub>-N concentrations areas shift with time but there are some areas with persistent high concentrations.

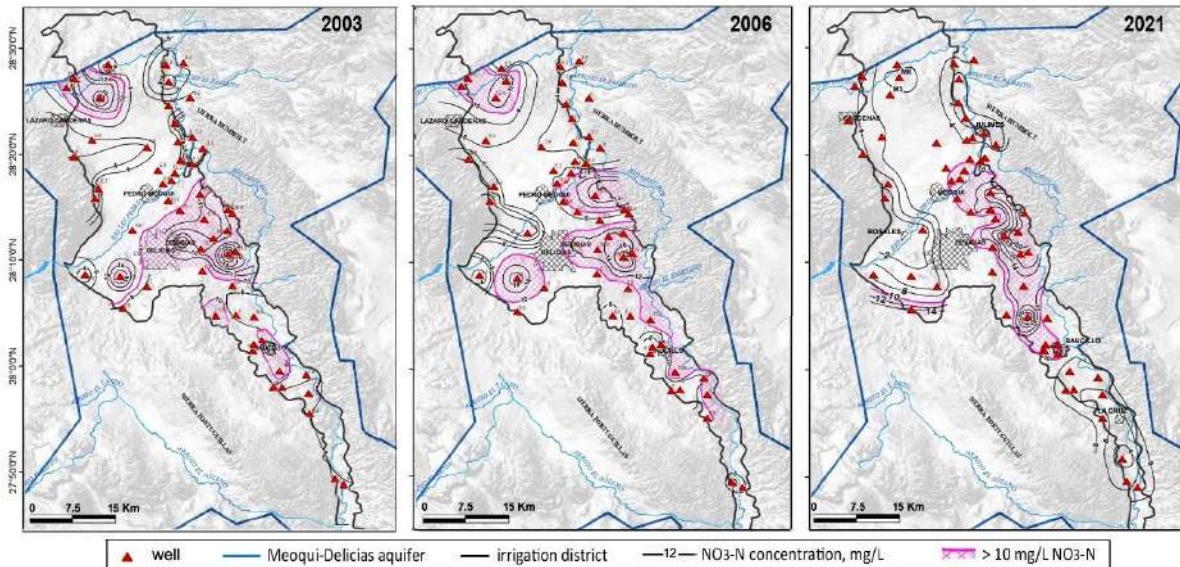


**Table 3** Nitrate values (in mg/L NO<sub>3</sub>-N) of studied wells in 2003, 2006 and 2021**Tabla 3** Valores de nitrato (en mg NO<sub>3</sub>-N/L) de los pozos estudiados en 2003, 2006 y 2021

| Well | Depth<br>m | NO <sub>3</sub> -N<br>2003 | NO <sub>3</sub> -N<br>2006 | NO <sub>3</sub> -N<br>2021 | Well | Depth<br>m | NO <sub>3</sub> -N<br>2003 | NO <sub>3</sub> -N<br>2006 | NO <sub>3</sub> -N<br>2021 |
|------|------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------|------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| D119 | -          | 17.2                       | 12.5                       | 11.5                       | M23  | -          | 13.9                       | 9.1                        | 17.0                       |
| D126 | -          | 10.7                       | 9.4                        | 11.8                       | M24  | 36         | 5.4                        | 7.4                        | 11.4                       |
| D127 | -          | 10.6                       | 5.9                        | 8.0                        | M25  | -          | 8.8                        | 10.1                       | 10.4                       |
| D129 | -          | 14.9                       | 12.1                       | 23.2                       | M26  | 150        | 10.1                       | 9.5                        | 11.2                       |
| D130 | 320        | 12.1                       | 12.5                       | 10.8                       | M27  | 150        | 11.8                       | 15.5                       | 15.8                       |
| D133 | -          | 11.4                       | 14.8                       | 20.1                       | M39  | -          | 6.7                        | 5.4                        | 4.6                        |
| D134 | -          | 5.3                        | 8.3                        | 9.8                        | M40  | 150        | 4.0                        | 4.8                        | 4.9                        |
| D136 | 200        | 10.2                       | 9.6                        | 7.0                        | M41  | -          | 5.8                        | 6.4                        | 7.0                        |
| D137 | -          | 7.1                        | 10.0                       | 5.9                        | M42  | -          | 4.8                        | 3.4                        | 9.0                        |
| D138 | -          | 6.8                        | 8.9                        | 15.0                       | M43  | -          | 5.3                        | 6.3                        | 5.1                        |
| D139 | 70         | 17.7                       | 20.0                       | 4.4                        | R2   | 152        | 11.9                       | 10.7                       | 5.4                        |
| J9   | -          | 4.2                        | 3.9                        | 0.7                        | R3   | -          | 11.9                       | 6.3                        | 4.2                        |
| J10  | -          | 8.5                        | 2.5                        | 1.0                        | R7   | -          | 2.5                        | 4.6                        | 2.0                        |
| J11  | -          | 1.9                        | 1.9                        | 1.4                        | R30  | -          | 9.6                        | 1.5                        | 1.4                        |
| J12  | -          | 4.2                        | 5.1                        | 2.6                        | R35  | -          | 3.2                        | 3.2                        | 7.9                        |
| J13  | -          | 5.8                        | 4.2                        | 2.7                        | R38  | -          | 2.5                        | 1.4                        | 2.5                        |
| J14  | -          | 6.2                        | 4.9                        | 4.4                        | S44  | -          | 10.8                       | 4.5                        | 5.2                        |
| J15  | 79         | 9.5                        | 4.0                        | 2.4                        | S45  | -          | 7.0                        | 12.3                       | 7.8                        |
| J16  | 15         | 1.3                        | 2.2                        | 2.2                        | S46  | -          | 34.3                       | 25.3                       | 17.8                       |
| J17  | -          | 3.3                        | 4.0                        | 1.8                        | S47  | 90         | 11.8                       | 12.6                       | 7.3                        |
| J18  | -          | 3.1                        | 1.9                        | 5.2                        | S50  | -          | 8.9                        | 8.5                        | 13.4                       |
| LC63 | -          | 8.2                        | 9.9                        | 6.6                        | S52  | -          | 7.0                        | 5.9                        | 19.8                       |
| LC67 | -          | 9.2                        | 4.2                        | 5.2                        | S54  | 60         | 6.5                        | 11.3                       | 7.2                        |
| LC69 | -          | 9.0                        | 6.4                        | 6.2                        | S56  | 185        | --                         | 8.1                        | 9.0                        |
| M1   | -          | 5.1                        | 6.6                        | 4.6                        | S57  | 180        | 13.0                       | 5.6                        | 4.5                        |
| M5   | -          | 19.0                       | 13.4                       | 3.6                        | S58  | 250        | 13.6                       | 13.6                       | 7.2                        |
| M6   | 181        | 12.3                       | 14.8                       | 11.9                       | S59  | -          | 13.0                       | 12.0                       | 5.9                        |
| M19  | 60         | 8.3                        | 5.4                        | 8.9                        | S60  | -          | 7.4                        | 6.9                        | 7.3                        |
| M21  | -          | 7.8                        | 6.4                        | 4.2                        | S62  | -          | 6.5                        | 7.0                        | 6.6                        |
| M22  | -          | 12.5                       | 3.6                        | 3.4                        | S98  | 137        | 4.5                        | 4.5                        | 9.6                        |

Except for two locations where the pH values were 6.0 and 6.4 (Table 1), the pH values were within the drinking water limit of 6.5-8.5 set by the World Health Organization, favoring the alkaline condition. The pH values below 7.0 likely result from the infiltration of leachate from dairy farm wastes, which have an acidic pH (Rivas-Lucero *et al.*, 2018). In contrast, TDS values seemed to associate with irrigation that extends to about 30 km radius, in localities water enriched with salts

after evaporation or from being in contact with salt-rich soils. TDS values exceeded the WHO norm (1,000 mg/L) in twelve wells spread over two main areas, one at the center of the aquifer (Meoqui and Delicias municipalities) and the other in its discharge area northeast corner of the aquifer, where the Rio Conchos receives irrigation return flows (Julimes municipality). In contrast, the lowest TDS values, around 400 mg/L, were observed in wells located near the recharge areas in the western part of the aquifer.



**Figure 3.** Evolution of  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations in 2003 to 2021. Zones  $>10$  mg/L  $\text{NO}_3\text{-N}$  shaded in pink.

**Figura 3.** Evolución de las concentraciones de  $\text{NO}_3\text{-N}$  en 2003 a 2021. Las zonas con  $\text{NO}_3\text{-N} >10$  mg/L están sombreadas en rosa.

The moderate  $\text{NO}_3\text{-N}$  values for most samples and a ratio of  $\text{NO}_3\text{-N}/\text{Cl} < 1$  in all samples (Table 1) support an anthropogenic origin of nitrate, and thus a negligible presence of natural subsoil  $\text{NO}_3\text{-N}$  deposits (Linhoff, 2022). The spatial distribution of 2021  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations in Fig. 3 shows the highest concentrations in the eastern part of Delicias, spreading over an area that belong to the municipalities of Delicias, Meoqui and Saucillo. Important areas of cultivation and large dairy farms are also located there. In addition, sources of pollution also include inadequately treated domestic waste from rural communities, such as septic tanks and other waste treatment systems.

At this point in time (2021 data), having one third of the wells in the categories of moderately to highly polluted, it seems crucial to find out if this is a relatively stable behavior or if the aquifer is borderline to worsening. Thus,  $\text{NO}_3\text{-N}$  data reported for 2003 and 2006 were added (Table 3) and plotted in maps displayed next to each other for comparison purposes (Fig. 3). To ease the comparison, areas where  $\text{NO}_3\text{-N} >10$  mg/L were shaded in pink. Comparison among these maps shows that the high  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations vary with time. One shaded area ( $\text{NO}_3\text{-N} >10$  mg/L) located in the center of the aquifer persists through the years, extending south towards Saucillo in

2021, and encompassing wells from Delicias, and Saucillo municipalities. Interestingly, two areas of high  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations in the north and western part of the aquifer decreased in concentration in 2021.

A quantitative approach was then necessary to denote their variation with time. A first glance to the data in Table 3 indicates little variation (1 to 10 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ) in  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations for most wells between 2003 and 2021. The linear regression analysis of  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations for the years 2003, 2006 and 2021 shown in Table 3 was used to determine the trend in variation over time for each well, based on the slope of their regression line (R). A visual inspection of the range of R and the slope indicated that some wells had an imperceptible change with time while others had a well-delineated change (either increase or decrease). Once those two were separated, adding an intermediate range was necessary to include all data. The selected five categories and the distribution of wells into each of these categories are listed in Table 4.

To help distinguish which wells increased their  $\text{NO}_3$  content, they were separated by code letter (municipality). Once this was done, D-wells (Delicias) were more abundant in the increase category and relatively absent in the decrease category, a behavior that was closely followed by the M (Meoqui) wells. In total, an increase behavior was observed in 25 % of the wells. On the other hand, 45 % of the wells showed a decrease or minimum decrease, among which wells from Julimes and some of Saucillo stood out. Regarding the increased number of wells whose nitrate concentration was lower in 2021, it is important to point out that these samples were collected during the winter, which is a time of low agricultural activity, unlike the samples of previous years collected in summer. On the other hand, the climatic factor does not affect milk production activity, which justifies the observed increase in nitrates in wells located adjacent to the largest dairy farms.

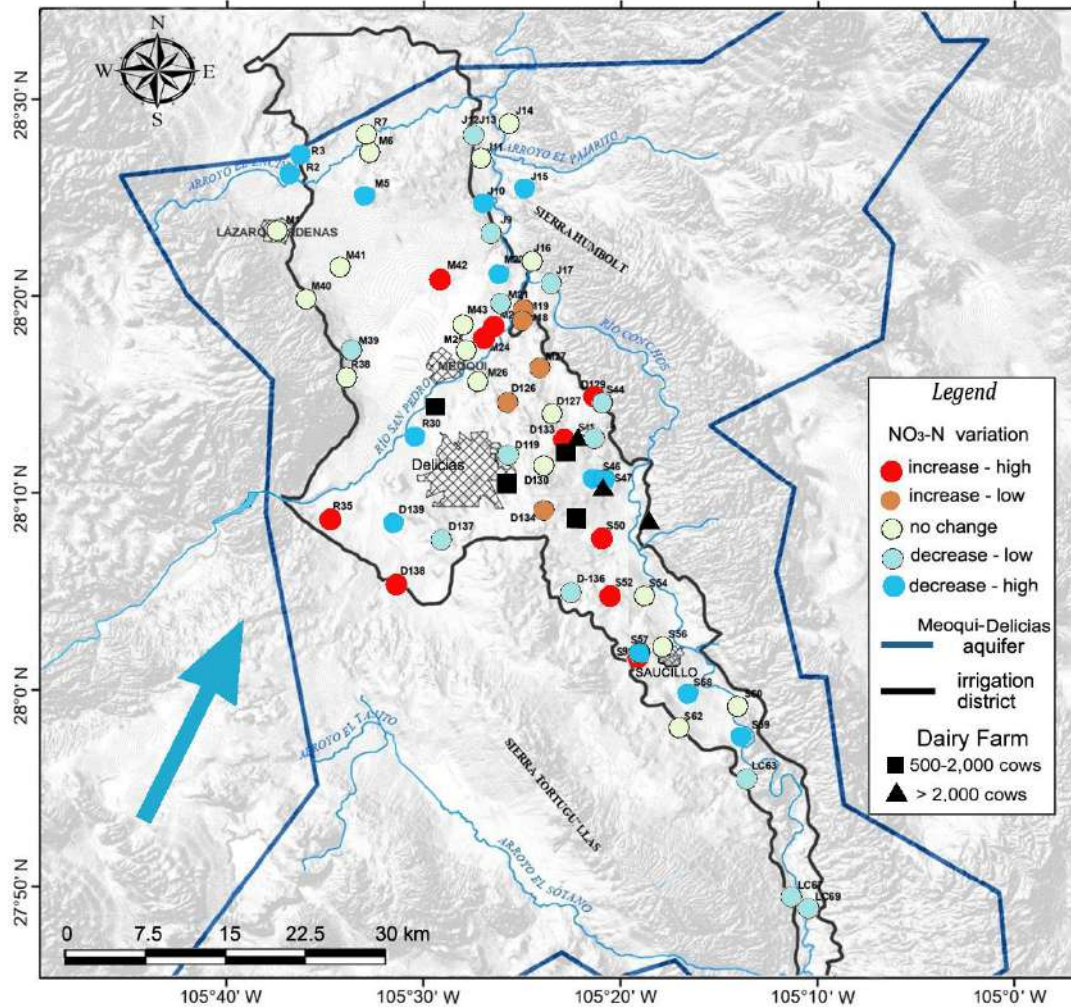
The overall results show that many of the D-, M- and S- wells (located in the Delicias, Meoqui, and Saucillo municipalities, respectively) contain high concentration of  $\text{NO}_3\text{-N}$  and identifies this area is a vulnerable part of the aquifer. The nine most affected wells were M23 (Loreto), M24 (Puentes), M27 (Nuevo Loreto), D129 (La Merced), D133 (Virginias), D138 (Nicolas Bravo), S46 (Santa Rosa), S50 (Altamirano) and S52 (Madero). Although not yet affected in the same proportion, other municipalities that have the same alluvial fill (e.g., Julimes, La Cruz, and Rosales) may become affected in the future if the amount of N-fertilizers, manure and other animal and human wastes were to increase.

Besides the small variation in  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations overall (Table 3), one can note that there are more wells in the decrease category than in the increase category (Table 4). Among the possible reasons that could explain the decrease observed in 2021 with respect to 2003 and 2006 are: 1) the proximity of recovered wells to the natural recharge zones of the aquifer after a wet rainy season in late 2020; 2) more effective application of nitrogen fertilizers by farmers in 2020; 3) decrease in nitrate concentration from the unsaturated zone due to denitrification; and 4) a better containment of animal wastes in farms near the recovered wells. However, more information would be necessary to validate each of the above points.

**Table 4.** Slope of regression line and number of data falling into each of the five assigned categories  
**Tabla 4.** Pendiente de línea de regresión y número de datos que caen dentro de cada una de las cinco categorías asignadas

| Category       | Slope            | Number of Wells | Wells   |
|----------------|------------------|-----------------|---|
| increase       | > 0.290          | 10              | D129, D133, D138, M23, M24, M42, R35, S50, S52, S98                                     |
| minor increase | 0.090 to 0.290   | 5               | D126, D134, J18, M19, M27   |
| no change      | -0.089 to 0.089  | 18              | D127, D130, J11, J14, J16, M1, M6, M25, M26, M40, M41, M43, R7, R38, S54, S56, S60, S62 |
| minor decrease | -0.090 to -0.290 | 14              | D119, D136, D137, J9, J12, J13, J17, LC63, LC67, LC69, M21, M39, S44, S45               |
| decrease       | < -0.290         | 13              | D139, J10, J15, M5, M22, R2, R3, R30, S46, S47, S57, S58, S59                           |

The spatial distribution of the variation categories is shown in Fig. 4 for a visualization of points in the study area that experienced the most variation (red dots for increase, blue dots for decrease) and for those wells where no change was observed (light green). The color-coded wells in Fig. 4 scatter throughout the area instead of grouping in a zone where a certain tendency (increase or decrease) prevails. However, we can observe that the wells with tendency to increase (red dots for high increase and orange dots for low increase) scatter within the central part of the aquifer. These wells plot the central part of the aquifer in the same region where, as we can observe in Fig. 3, high  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentrations are found, coinciding with the location of large dairy farms (Fig. 4). On the other hand, the areas with no change (green dots) or decrease in nitrate concentration (blue dots) correspond to recharge zones at north and south of the aquifer, identified by their higher altitude, i.e., the mountain ranges that limit the aquifer.



**Figure 4.** Spatial distribution of the variation of NO<sub>3</sub>-N with time according to the five variation intervals: high increase (red), minor increase (orange), no change (light green), minor decrease (light blue), high decrease (dark blue). Regional groundwater flow (blue arrow) and location of largest dairy farms shown for reference purposes.  
**Figura 4.** Distribución espacial de la variación de NO<sub>3</sub>-N con el tiempo de acuerdo con los cinco intervalos de variación: incremento alto (rojo), incremento bajo (naranja), sin cambio (verde claro), decremento menor (azul claro), decremento alto (azul oscuro). Flujo regional del agua subterránea (flecha azul) y localización de grandes establos mostrados con propósito de referencia.

A further attempt to explain the spatial distribution of NO<sub>3</sub>-N concentrations and their variation with time was to consider the well depth. Well depth information was found only for 18 of the 63 wells and was added to Table 3. The depths vary between 15 and 320 m. One should recall from Section 2 that the average depth of the aquifer is 300 m but can be up to 500 m in places. Especially troubling was to find concentrations above 10 mg/L NO<sub>3</sub>-N in 50 % of the deep wells (150-320 m deep). This finding points to nitrate contamination in parts of the aquifer generally considered to be free of anthropogenic contamination. Again, the disposal of animal waste was considered a likely source of



contamination because of the high content of nitrogen in animal waste spills and the high NO<sub>3</sub>-N concentration locations roughly coinciding with the areas where large dairy farms operate. It is possible that oxidation of dairy farm waste transforms the nitrogen compounds to nitrate (a soluble compound), which is readily transported by water into deeper parts of the aquifer.

Although NO<sub>3</sub>-N contamination is not yet severe in the study area, actions to prevent contamination leakage to groundwater are advisable, especially in the areas identified as vulnerable. Recommended actions include improving the waste management of manure and the application of only the needed amount N-fertilizer to reduce N-losses (Rivas-Lucero *et al.*, 2008; Millar *et al.*, 2018). Also, the successful implementation of any best management practices requires attention to social aspects and a clear and sensible communication between stakeholders, e.g., farmers, city officials, and water managers (McCullogh and Matson, 2016), as farmers often resist the adoption of new procedures until they are convinced of their effectiveness. This step alone may take several years (McCullogh and Matson, 2016).

Among the preventive methods known to reduce leakage of nitrate to the aquifer, the planting of cover crops stands out. Planting a cover crop has been implemented in the Meoqui-Delicias region for decades, although not by all farmers and, in the past few years, water-efficient methods such as drip-irrigation have started to become a new norm. Other preventive methods that are promising but have not been implemented in the region include no-tilling and the use of automatic sensors for fertilizer and water application (Gutiérrez *et al.*, 2021). The use of sensors has been reported as an effective and sustainable method but can be costly (Norton and Ouyang, 2019; Drazic *et al.*, 2020). Examples of corrective methods to reduce NO<sub>3</sub> concentrations include the chemical treatment of contaminated water by adsorption to a variety of materials or the use of bio-barrier substrates for nitrate removal by denitrification (Özkaraova *et al.*, 2022).

## 4. Conclusions

Groundwater NO<sub>3</sub> concentrations varied widely from 0.7 to 23.2 mg/L NO<sub>3</sub>-N throughout the study area. The distribution of nitrate content and the ratio NO<sub>3</sub>-N/Cl<1 suggests an anthropogenic origin of this contaminant related to human and animal wastes, which should be verified in future research. The spatial distribution of NO<sub>3</sub>-N concentrations, according to the reviewed literature and information on the area, indicates a possible association with waste from dairy farms, leaking of domestic wastewater, and/or excess of applied N-fertilizer. Specific studies are proposed to corroborate this assumption. According to NPI, 2/3 of the wells are slightly- to non-polluted, and 1/3 are moderately to very polluted. The distribution of the most affected wells was relatively scattered, which suggests the discharge of large amounts of waste at a few specific points. After comparing their variation in concentration from 2003, 2006 and 2021, a small increase in concentration was observed in 17% of the wells, a decrease in 22% of the wells and minor to no change in 61% of the wells. The central part of the aquifer had the highest NO<sub>3</sub>-N concentrations and increasing trends; however, wells with less nitrate were also present. Despite relying on only three years of data, the approach followed here successfully identified the affected wells, although the trends need to be confirmed using more years' data. Some deep wells surpassing the 10 mg/L NO<sub>3</sub>-N concentration guideline was a concerning find. The implementation of preventive measures to curb pollution, such as an efficient application of N-fertilizer, water-efficient irrigation, and better

practices in disposing of dairy farm wastes, are needed to move towards sustainably managing this aquifer.

## Author contributions

Conceptualization: M.S.E.V. and M.G.; methodology: M.S.E.V., H.S.H. and A.P.M.; software: N.V.G., H.S.H. and A.P.M.; validation: M.G., A.P.M. and H.S.H.; formal analysis: N.V.G. and M.G.; investigation: M.S.E.V. and N.V.G.; resources: M.S.E.V. and M.G.; data curation: N.V.G.; writing-original draft preparation, M.S.E.V. and N.V.G.; writing-review and editing, M.G.; visualization: M.G.; supervision: M.S.E.V.; Project administration: M.G.; funding acquisition: M.S.E.V. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

## Conflict of Interest

Authors have no conflict of interests to declare that are relevant to the content of this article.

## 5. References

- Barrera, Y., (2008). Estudio hidrogeoquímico y de vulnerabilidad a la contaminación del acuífero Meoqui-Delicias del Estado de Chihuahua. MS Thesis, Universidad Autónoma de Chihuahua, Mexico.
- Bijay, S. & Craswell, E. (2021). Fertilizers and nitrate pollution of surface and ground water: an increasingly pervasive global problem. *SN Appl. Sci.* 3, 518. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04521-8>
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), (2020). Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero Meoqui-Delicias, Estado de Chihuahua. [https://sigagis.conagua.gob.mx/gas1/Edos\\_Acuiferos\\_18/chihuahua/DR\\_0831.pdf](https://sigagis.conagua.gob.mx/gas1/Edos_Acuiferos_18/chihuahua/DR_0831.pdf)
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), (2022). <https://www.gob.mx/conagua/articulos/calidad-del-agua>
- Diaz, R.J. & Rosenberg, R. (2008). Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science* 321, 926. <https://doi.org/10.1126/science.1156401>
- Drazic, M., Gligorevic, K., Pajic M., Zlatanovic, I., Spalevic, V., Sestras, P., Skataric, G. & Dudic, B. (2020). The influence of the application technique and amount of liquid starter fertilizer on corn yield. *Agriculture* 10(8): 347. <https://doi.org/10.3390/agriculture10080347>
- Ducci, D., Della Morte, R., Mottola, A., Onorati, G. & Pugliano, G. (2020). Evaluating upward trends in groundwater nitrate concentrations: an example in an alluvial plain of the Campania region (Southern Italy). *Environ. Earth Sci.* 79: 319. <https://doi.org/10.1007/s12665-020-09062-8>
- Espino, M.S., Herrera, E. & Barrera, Y. (2009). Presencia de arsénico en la sección norte del acuífero Meoqui-Delicias del estado de Chihuahua, México. *Tecnociencia* 3(1): 8-18.

- Espino, M.S., Rubio, H. & Navarro, C. (2007). Nitrate pollution in the Delicias-Meoqui aquifer of Chihuahua, Mexico. *Transact. Biomed. Health*, 11: 189- 196.
- Espino, M.S., Navarro-Gómez, C.J. & Royo-Ochoa, M. (2011). Evaluación del origen de nitratos en el agua subterránea de Delicias, Chihuahua, usando técnicas isotópicas. *Libro Científico 2011. Avances de las Mujeres en las Ciencias, las Humanidades y Todas las Disciplinas*, pp. 77-90. Editorial Universidad Autónoma Metropolitana, México. ISBN: 975-607-477-519-8
- Galloway, J., Raghuram, N. & Abrol, Y.P., (2008). A perspective on reactive nitrogen in a global, Asian and Indian context. *Curr. Sci. India* 94: 1375-1381.
- Gomes, E., Antunes, I. & Leitão, B. (2023). Groundwater management: Effectiveness of mitigation measures in nitrate vulnerable zones – a Portuguese case study. *Groundwat. Sustain. Develop.* 21: 100899. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2022.100899>
- Gutiérrez, M., Biagioni, R., Alarcón-Herrera, M. & Rivas-Lucero, B. (2018). An overview of nitrate sources and operating processes in arid and semi in an arid aquifer systems. *Sci. Tot. Environ.* 1513-1522. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.252>
- Gutiérrez, M., Espino-Valdés, M.S., Calleros-Rincón, E.Y. & Alarcón-Herrera, M.T. (2021). Role of nitrogen in assessing the sustainability of irrigated areas: Case study of northern Mexico. *Water Air Soil Pollut.* 232: 148 <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05091-6>
- Gutiérrez, M., Alarcón-Herrera, M.T., Calleros-Rincón, E.Y. & Ramsey, M. (2022). Nitrate in Agricultural Soil, In: Tsadillas C. (Ed.) *Nitrate Handbook: Environmental, Agricultural, and Health Effects*, pp. 26-43, CRC Press, Taylor and Francis Group. ISBN 9780367338220
- Hamlin, Q.F., Martin, S.I., Kendall, A.D. & Hyndman, D.W. (2022). Examining relationships between groundwater nitrate concentrations in drinking water and landscape characteristics to understand health risks, *GeoHealth*, 6: e2021GH000524. <http://doi.org/10.1029/2021GH000524>
- Hansen, B., Thorling, L., Schullehner, J., Termansen, M. & Dalgaard, T. (2017). Groundwater nitrate response to sustainable nitrogen management. *Sci. Rep.* 7: 8566. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07147-2>
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (2013). [https://www.gob.mx/inifap/prensa/el-inifap-desarrolla-nuevas-practicas-para-fertilizar\\_nogal-pecanero](https://www.gob.mx/inifap/prensa/el-inifap-desarrolla-nuevas-practicas-para-fertilizar_nogal-pecanero) (comunicado 24 de diciembre de 2013 |
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (2015). Paquete Tecnológico para Chile Jalapeño. <https://www.producechihuahua.org/paqs/PT-0003Chile1.pdf>
- Lara, C. & Jurado, P. (2014). Paquete Tecnológico Para Producir Alfalfa en el Estado de Chihuahua. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Primera Edición. ISBN: 978-607-37-0277-5
- Li, D., Zhai, Y., Lei, Y., Li, J., Teng, Y. *et al.* (2021). Spatiotemporal evolution of groundwater nitrate nitrogen levels and potential human health risks in the Songnen Plain, Northeast China. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 208: 111524. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111524>
- Liu, M., Xiao, C., Liang, X., Wei, H., (2022). Response of groundwater chemical characteristics to land use types and health risk assessment of nitrate in semi-arid areas: A case study of Shuangliao City, Northeast China. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 236: 113473. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113473>
- Linhoff, B. (2022). Deciphering natural and anthropogenic nitrate and recharge sources in arid region groundwater. *Sci. Tot. Environ.* 848: 157345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157345>



- Mahlknecht, J., A. Horst, G. Hernández Limón & R. Aravena. (2008). Groundwater geochemistry of the Chihuahua City region in the Rio Conchos Basin (northern Mexico) and implications for water resources management. *Hydrol. Processes* 22:4736-4751.
- Mateo-Sagasta, J. & Albers, J. (2018). Salts. In: *More People, More Food, Worse Water?* Mateo-Sagasta, J.; Marjan Zadeh, S.; Turrall, H. (Eds.) Food and Agriculture Organization of the United Nations and International Water Management Institute. pp. 93-98, Rome.
- McCullough, E.B. & Matson, P.A. (2016). Evolution of the knowledge system for agricultural development in the Yaqui Valley, Sonora, Mexico. *PNAS*, 113: 4609-4614. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011602108>.
- Millar, N., Urrea, A., Kahmark, K., Scherbak, I., Robertson, G.P. & Ortiz-Monasterio, I. (2018). Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) flux responds exponentially to nitrogen fertilizer in irrigated wheat in the Yaqui Valley, Mexico. *Agr. Ecosyst. Environ.* 261: 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.04.003>
- Mukherjee, I. & Singh, U.K., (2021). Characterization of groundwater nitrate exposure using Monte Carlo and Sobol sensitivity approaches in the diverse aquifer systems of an agricultural semiarid region of Lower Ganga Basin, India. *Sci. Tot. Environ.* 787: 147657. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147657>
- Norton, J. & Ouyang, Y. (2019). Controls and adaptive management of nitrification in agricultural soils. *Front. Microbiol.* 10: 1931. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.0193>
- Obeidat, M.M., Awawdeh, M., Abu Al-Rub, F. & Al-Ajlouni, A. (2012). An Innovative Nitrate Pollution Index and Multivariate Statistical Investigations of Groundwater Chemical Quality of Umm Rijam Aquifer (B4), North Yarmouk River Basin, Jordan, In: *Water Quality Monitoring and Assessment*, Voudouris K, Voutsas D (Eds.) IntechOpen, pp. 169-188. <https://doi.org/10.5772/32436>
- Özkaraova, E.B., Aydin, S. & Gemechu, A.U. (2022). Screening of organic substrates for a permeable biobarrier to remediate nitrate contaminated groundwater, *Water Environ. J.* 364: 3-55. <https://doi.org/10.1111/wej.12755>
- Panneerselvam, B., Karuppannan, S. & Muniraj, K. (2020). Evaluation of drinking and irrigation suitability of groundwater with special emphasizing the health risk posed by nitrate contamination using nitrate pollution index (NPI) and human health risk assessment (HHRA), *Hum. Ecol. Risk Assess.* <https://doi.org/10.1080/10807039.2020.1833300>
- Rascón, B. (2011). Estudio hidrogeoquímico y de vulnerabilidad a la contaminación de la porción Sur del acuífero Meoqui-Delicias, del Estado de Chihuahua. M.S. Thesis, Universidad Autónoma de Chihuahua., Mexico.
- Re, V., Kammoun, S., Trabelsi, R., Zouari, K., Matiatos, I., Allais, E. & Daniele, S. (2021). A critical assessment of widely used techniques for nitrate source apportionment in arid and semi-arid regions. *Sci. Tot. Environ.* 775: 145688. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145688>
- Reyes-Gómez, V.M., Alarcón-Herrera, M.T., Gutiérrez M. & Núñez-López, D. (2015). Arsenic and fluoride variations in groundwater of an endorheic basin undergoing land-use changes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 68: 292-304.
- Rivas-Lucero, B., Chacón-Sotelo, J., Segovia-Lerma, A. & Morales-Morales, H. (2008). Valoración de la distribución espacial de establos lecheros para la gestión de los residuos generados en la cuenca de Delicias, Chihuahua. *Rev. Latinoam. Rec. Nat.* 4(2): 185-193.

- Rivas-Lucero, B.A., Gutiérrez, M., Magaña-Magaña, J.E., Márquez-Salcido, F. *et al.* (2018). Salt content of dairy farm effluents as an indicator of salinization risk to soils. *Soil Syst.* 2: 61. <https://doi.org/10.3390/soilsystems2040061>
- Rudolph, D.L., Devlin, J.F. & Bekeris, L. (2015). Challenges and a strategy for agricultural BMP monitoring and remediation of nitrate contamination in unconsolidated aquifers. *Ground Water Monit. Remediat.* 35: 97–109. <https://doi.org/10.1111/gwmmr.12103>
- Sapkota, A., Haghverdi, A., Avila, C.E., Ying, S.C. (2020). Irrigation and greenhouse gas emissions: A review of field-based studies, *Soil Syst.* 4: 20. <https://doi.org/10.3390/soilsystems4020020>
- Secretaría de Economía (2001). NMX-AA-073-SCFI-2001. Water Analysis - Determination of total chlorine in natural water, wastewaters and treated – Test Method. Mexico.
- Tesoriero, A.J., Stratton, L.E. & Miller, M.P. (2021). Influence of redox gradients on nitrate transport from the landscape to groundwater and streams. *Sci. Tot. Environ.* 800: 150200. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150200>
- USEPA (2007). Biological nutrient removal processes and costs. EPA 823-R-07-002. Washington, DC: United States Environmental Protection Agency, Office of Water.
- Villalobos-Gutiérrez, M.N. (2021). Evolución Espacial y Temporal de la Presencia de Nitratos en el Acuífero Meoqui-Delicias, Chihuahua. M.S. Thesis, Universidad Autónoma de Chihuahua. Mexico. 65 pp.
- Vitousek, P.M., Naylor, R., Crews, T., David, M.B., Drinkwater, L.E. *et al.* (2009). Nutrient imbalances in agricultural development. *Science* 324: 1519–1520. <https://doi.org/10.1126/science.1170261>
- Walvoord, M.A., Phillips, F.M., Stonestrom, D.A., Evans, R.D., Hartsough, P.C., Newman, B.D. & Striegl, R.G. (2003). A reservoir of nitrate beneath desert soils. *Science* 7(302): 1021-1024. <https://doi.org/10.1126/science.1086435>
- Xiao, Y., Hao, Q., Zhang, Y., Zhu, Y., Yin, S., Quin, L. & Li, X. (2022). Investigating sources, driving forces and potential health risks of nitrate and fluoride in groundwater of a typical alluvial fan plain. *Sci. Tot. Environ.* 802: 149909. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149909>
- Xiao, Y., Liu, K., Hao, Q., Xiao, D., Zhu, Y., Yin, S. & Zhang, Y. (2022). Hydrogeochemical insights into the signatures, genesis and sustainable perspective of nitrate enriched groundwater in the piedmont of Hutuo watershed, China. *Catena* 212: 106020. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2022.106020>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

# Estimación y modelación de emisiones de calderas de una comercializadora de combustibles

Estimation and modeling of boiler emissions of a Fuel Trader

M. Sc. Lester Rivas Trasancos<sup>1\*</sup>, M. Sc. Yamila Navarro Sosa<sup>1</sup>, Dr. Miguel Ángel Díaz Díaz<sup>1</sup>,  
Lic. Octavio del Sol Ortega<sup>1</sup>, M. Sc. Carlos Cesar Cañete Pérez<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Investigación del Petróleo. Churruca # 481, Cerro. C.P. 12000. La Habana, Cuba.

\*Correspondencia: [lesterrt83@gmail.com](mailto:lesterrt83@gmail.com) (Lester Rivas Trasancos)

DOI: DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i1.1324>

Recibido: 16 de agosto de 2023; Aceptado: 27 de noviembre de 2023

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado

Editor de Sección: Dr. Héctor Osbaldo Rubio-Arias

## Resumen

En el proceso de comercialización de combustibles, una de las fuentes de emisión de contaminantes (continuas y discontinuas) proviene de la combustión derivada de la generación de electricidad y calor, venteo y quema de hidrocarburos y emisiones fugitivas. El objetivo fue estimar y modelar las emisiones generadas por las calderas de una comercializadora de combustibles. El análisis consideró los datos técnicos y de operación, el consumo de combustible y los tiempos de operación. Los parámetros evaluados fueron: SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, CO, PST y del material particulado PM10. Con la base de datos generada realizó la modelación de la dispersión de estos contaminantes. Los resultados de la modelación con el modelo Berliand y el software SCREEN View mostraron que las concentraciones máximas alcanzadas a 303 m de la fuente, cumplen con los valores máximos y promedios establecidos en la norma tomada como referencia.

**Palabras clave:** calderas, emisiones, modelación, dispersión.

## Abstract

In the fuel marketing process, one of the sources of pollutant emissions (continuous and discontinuous) comes from the combustion from the generation of electricity and heat, venting and burning of hydrocarbons and fugitive emissions. The objective was to estimate and model the emissions generated by the boilers of a fuel marketing company. Technical and operating data, fuel consumption and operating times were considered. The evaluated parameters: SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, CO, PST and PM10 particulate matter were obtain by estimation. Modeling of the dispersion of these

contaminants was carried out. The results using the Berliand model and the SCREEN View software showed that the maximum concentrations reached 303 m from the source comply with the maximum and average values established in the standard taken as a reference.

**Keywords:** boilers, emissions, modeling, dispersion

## 1. Introducción

Cada año, cientos de millones de personas sufren de enfermedades respiratorias y otras asociadas con la contaminación del aire, tanto en ambientes interiores como exteriores. Esto se debe a que existen grupos poblacionales expuestos a fuentes fijas de contaminantes atmosféricos que carecen de zonas de protección sanitaria; por ejemplo, algunas industrias que cuentan con chimeneas de baja altura, lo que aumenta la acción contaminante de sus emanaciones, y en muchas ocasiones no disponen de medidas de control para la disminución de la contaminación a la atmósfera (Romero, 2006).

Las fuentes principales de emisiones al aire (continuas y discontinuas) en la actividad petrolera provienen de la combustión de generación de electricidad y calor, uso de compresores, bombas y máquinas recíprocas (calderas, turbinas y otras), emisiones de la quema y venteo de hidrocarburos, y emisiones fugitivas. Los contaminantes fundamentales comprenden los óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), óxidos de azufre (SO<sub>2</sub>), monóxido de carbono (CO), partículas, sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), compuestos orgánicos volátiles (COV) incluyendo metano y etano, benceno, etilbenceno, tolueno y xileno (BTEX), glicoles e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

Resulta claro que se deben tener en cuenta todas las consideraciones razonables para maximizar la eficiencia energética, así como diseñar facilidades para minimizar el uso de energía. El objetivo integral debe ser la reducción de emisiones al aire y la evaluación de opciones costo – efectivas para reducir las emisiones técnicamente factibles (Rivas, 2013).

Los métodos para controlar y reducir las emisiones fugitivas deben ser considerados en el diseño, operación y mantenimiento de las facilidades productivas. Además, se deben considerar los requerimientos de seguridad y adecuación de válvulas, uniones, sellos y empaques, así como su capacidad para reducir fugas de gas e implementar programas de detección de fugas y reparación. Las unidades de control de vapores se instalan según se necesite para las operaciones de carga y descarga de hidrocarburos (Production, N.O.a.G.E.a., 2013).

Es importante mencionar que, el primer paso en cualquier análisis de la calidad del aire es definir las emisiones de contaminantes desde una fuente o facilidad productiva para completar un inventario exacto de las emisiones. Dicho inventario determinará las regulaciones y niveles de control de la contaminación que deben aplicarse (Kumar - Ramaswamy et al., 2004).

Los niveles o categorías de la contaminación en la atmósfera (calidad del aire) son definidos por las concentraciones de las sustancias contaminantes en espacio y tiempo, dadas en mg/m<sup>3</sup> a temperatura y presión normalizadas (TPN) (NC 111, 2004). Cuando las concentraciones de las sustancias contaminantes están referidas a tiempos de promedio de 20 min se denominan como instantáneas y promedios diarios cuando se refieren a 24 h. A partir de las anteriores, también pueden ser evaluadas las concentraciones medias para 30 d (promedio mensual) y de 12 m (promedio anual) (NC 39, 1999).

Las emisiones máximas admisibles (EMA) se expresan en términos de concentración de los contaminantes en los gases secos que se expulsan a la atmósfera por las fuentes fijas y se representan en unidades de mg/Nm<sup>3</sup>, lo que corresponde al contenido en peso del contaminante por unidad de volumen del gas seco expulsado a la atmósfera, en condiciones de temperatura y presión normales (NC 803, 2017).

En correspondencia con lo anterior se hace necesario el cálculo y modelación de las emisiones de las calderas ubicadas en una comercializadora de combustibles. Por tal motivo esta investigación presenta como objetivo: evaluar la contaminación atmosférica producida por dos calderas en áreas de una comercializadora de combustibles.

## 2. Materiales y métodos

Se estimó la emisión de dos calderas, cuyos datos técnicos se muestran en la Tabla 1 y los datos de operación se especifican en la Tabla 2.

**Tabla 1.** Datos técnicos de las calderas

**Table 1.** Boiler technical data

| Parámetros                    | Valores                         |
|-------------------------------|---------------------------------|
| Flujo de salida del gas (m/s) | 6.5                             |
| Presión (Pa)                  | 1000000                         |
| Altura de la chimenea (m)     | 30                              |
| Diámetro de la chimenea (m)   | 0.80                            |
| Tipo de combustible           | Fuel oil mediano de bajo azufre |

**Tabla 2.** Datos de operación de las calderas en el 2021

**Table 2.** Boiler operation data in 2021

| Mes     | Caldera 1               |                       | Caldera 2               |                       |
|---------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
|         | Consumo combustible (L) | Tiempo de trabajo (h) | Consumo combustible (L) | Tiempo de trabajo (h) |
| Enero   | 387,006                 | 572                   | 73,329                  | 144                   |
| Febrero | 328,347                 | 511                   | 96,422                  | 153                   |
| Marzo   | 276,958                 | 336                   | 172,319                 | 272                   |
| Abril   | 0                       | 0                     | 413,359                 | 711                   |
| Mayo    | 218,834                 | 377                   | 194,995                 | 348                   |
| Junio   | 344,032                 | 579                   | 52,341                  | 90                    |
| Julio   | 418,103                 | 692                   | 10,685                  | 24                    |
| Agosto  | 468,900                 | 738                   | 5,076                   | 13                    |

**Tabla 2.** Datos de operación de las calderas en el 2021**Table 2.** Boiler operation data in 2021

| Mes          | Caldera 1               |                       | Caldera 2               |                       |
|--------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
|              | Consumo combustible (L) | Tiempo de trabajo (h) | Consumo combustible (L) | Tiempo de trabajo (h) |
| Septiembre   | 427,351                 | 667                   | 25,855                  | 41                    |
| Octubre      | 382,945                 | 610                   | 65,847                  | 114                   |
| Noviembre    | 114,638                 | 182                   | 355,335                 | 563                   |
| Diciembre    | 444,590                 | 736                   | 0                       | 0                     |
| <b>Total</b> | <b>3 811,704</b>        | <b>6,000</b>          | <b>1 465,563</b>        | <b>2 473</b>          |

Para calcular las emisiones de las calderas se consideró el consumo de combustible, su densidad, y el factor de conversión de cada contaminante, así como el porcentaje (%) de azufre en el caso del SO<sub>2</sub>. Estas emisiones se comparan con las emisiones máximas a la atmósfera (EMA) establecidas en la NC 803: 2017 Calidad del aire — Emisiones máximas admisibles de contaminantes a la atmósfera en fuentes fijas puntuales de instalaciones generadoras de electricidad y vapor (NC 803, 2017).

Para convertir las emisiones a mg/m<sup>3</sup> se utiliza el flujo volumétrico que se calculó considerando la altura y diámetro de la chimenea, así como la velocidad de salida de los gases que se obtuvieron de las mediciones realizadas en la misma instalación en estudios anteriores.

La modelación de la dispersión de contaminantes emitidos por las chimeneas de las calderas se ejecutó para los parámetros de H<sub>2</sub>S, SO<sub>2</sub>, CO, PST y PM10 que son los contaminantes principales emitidos por las fuentes evaluadas. Se aplicó la corrida del programa para el cálculo de la concentración a partir de fuentes industriales continuas (Álvarez O, 1994) siguiendo la metodología aprobada en la norma cubana (NC 39, 1999) según el modelo de Berliand. Se consideró el valor de 200 como el valor de la constante de estratificación térmica atmosférica (A) que define las condiciones naturales de difusión más adversas, según lo propuesto en nuestro país para zonas llanas o con topografía de poca complejidad y altura, el cual ha sido aceptado en la norma cubana de referencia. Como velocidad más probable del viento para calcular la concentración instantánea (20 min) se tomó 1.6 m/s con desviación estándar 0.61, de acuerdo al valor medio obtenido en las mediciones realizadas *in situ* durante los monitoreos.

El modelo Berliand partiendo de la velocidad promedio utilizada (1.6 m/s) tiene una sensibilidad para velocidades bajas de 0.002, sesgo medio teniendo en cuenta los sesgos para SO<sub>2</sub> y NO<sub>x</sub> y una precisión de 3 % para SO<sub>2</sub> y NO<sub>x</sub>.

Los datos recolectados tienen una distribución normal Figs. (1)–(2)

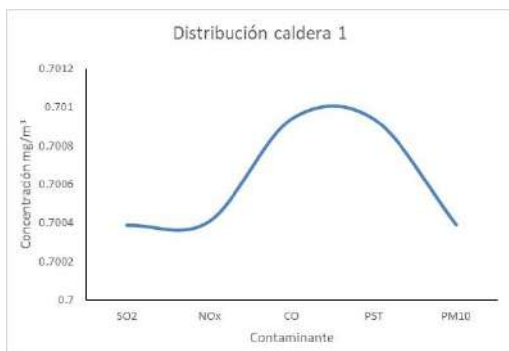


Figura 1. Distribución Caldera 1

Figure 1. Boiler 1 distribution

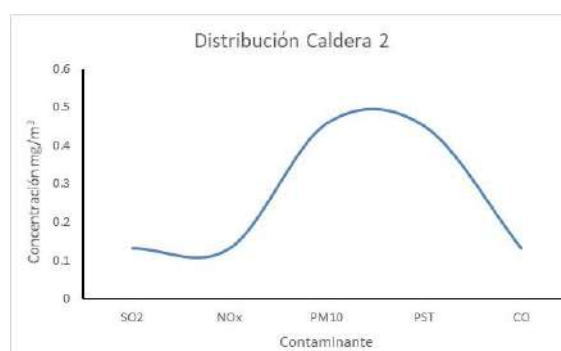


Figura 2. Distribución Caldera

Figure 1. Boiler 2 distribution

Se comprobaron los resultados obtenidos por el modelo SCREEN View (concentraciones horarias) versión 2.5.0 (Software, L.E., 2007) aplicando la opción meteorología completa, de acuerdo con lo recomendado por la norma cubana (NC 1059, 2014).

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Emisiones de las calderas

Los resultados del cálculo de la tasa emisión de contaminante a partir de los consumos de combustible, 3 % de azufre en el mismo y las horas de operación de las calderas se muestran en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3. Emisiones estimadas caldera 1

Table 3. Estimated emissions boiler 1

| Meses <sup>(1)</sup>                         | SO <sub>2</sub><br>(mg/m <sup>3</sup> ) | NO <sub>x</sub><br>(mg/m <sup>3</sup> ) | CO <sup>(3)</sup><br>(mg/m <sup>3</sup> ) | PST<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | PM10<br>(mg/m <sup>3</sup> ) |
|--|---|---|---|-----------------------------|------------------------------|
| Enero  | 3,201.68                                | 373.87                                  | 33.99                                     | 67.98                       | 48.13                        |
| Febrero                                      | 3,040.66                                | 355.07                                  | 32.28                                     | 64.56                       | 45.71                        |
| Marzo  | 3,900.56                                | 455.48                                  | 41.41                                     | 82.81                       | 58.63                        |
| Mayo   | 2,746.81                                | 320.75                                  | 29.16                                     | 58.2                        | 41.29                        |
| Junio  | 2,811.75                                | 328.34                                  | 29.85                                     | 59.70                       | 42.27                        |
| Julio  | 2,859.12                                | 333.87                                  | 30.35                                     | 60.70                       | 42.98                        |
| Agosto                                       | 3,006.63                                | 351.09                                  | 31.92                                     | 63.84                       | 45.20                        |
| Septiembre                                   | 3,031.90                                | 354.04                                  | 32.19                                     | 64.7                        | 45.58                        |
| Octubre                                      | 2,970.72                                | 346.90                                  | 31.54                                     | 63.07                       | 44.66                        |
| Noviembre                                    | 2,980.64                                | 348.06                                  | 31.64                                     | 63.28                       | 44.80                        |
| Diciembre                                    | 2,858.50                                | 333.80                                  | 30.35                                     | 60.69                       | 42.97                        |
| <b>Media muestral</b>                        | <b>3,037.18</b>                         | <b>354.66</b>                           | <b>32.24</b>                              | <b>64.48</b>                | <b>45.66</b>                 |
| <b>Desviación standard</b>                   | <b>313.02</b>                           | <b>36.55</b>                            | <b>3.32</b>                               | <b>6.64</b>                 | <b>4.70</b>                  |
| <b>EMA<sup>(2)</sup> (mg/Nm<sup>3</sup>)</b> | <b>7,000</b>                            | <b>500</b>                              | <b>-</b>                                  | <b>350</b>                  | <b>250</b>                   |

(1) La caldera 1 no operó en el mes de abril

(2) Concentración máxima admisible (EMA) establecida en la NC 803: 2017 (NC 803, 2017)

(3) El CO no se regula en la norma

**Tabla 4.** Emisiones estimadas caldera 2  
**Table 4.** Estimated emissions boiler 2

| Meses <sup>(1)</sup>                         | SO <sub>2</sub><br>(mg/m <sup>3</sup> ) | NO <sub>x</sub><br>(mg/m <sup>3</sup> ) | CO <sup>(3)</sup><br>(mg/m <sup>3</sup> ) | PST<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | PM10<br>(mg/m <sup>3</sup> ) |
|--|---|---|---|-----------------------------|------------------------------|
| Enero  | 2,409.73                                | 281.39                                  | 25.58                                     | 51.16                       | 36.22                        |
| Febrero                                      | 2,981.55                                | 348.16                                  | 31.65                                     | 12.66                       | 7.41                         |
| Marzo  | 2,997.92                                | 350.08                                  | 31.83                                     | 63.65                       | 45.06                        |
| Mayo   | 2,751.15                                | 321.26                                  | 29.21                                     | 58.41                       | 41.35                        |
| Junio  | 2,651.55                                | 309.63                                  | 28.15                                     | 56.30                       | 39.86                        |
| Julio  | 2,752.03                                | 321.36                                  | 29.21                                     | 58.43                       | 41.37                        |
| Agosto                                       | 2,106.74                                | 246.01                                  | 22.36                                     | 44.73                       | 31.67                        |
| Septiembre                                   | 2,984.01                                | 348.5                                   | 31.68                                     | 63.35                       | 44.86                        |
| Octubre                                      | 2,733.30                                | 319.18                                  | 29.02                                     | 58.03                       | 41.09                        |
| Noviembre                                    | 2,986.66                                | 348.76                                  | 31.71                                     | 63.41                       | 44.90                        |
| <b>Media muestral</b>                        | 2,735.46                                | 319.43                                  | 29.04                                     | 53.01                       | 37.38                        |
| <b>Desviación standard</b>                   | 291.22                                  | 34.01                                   | 3.09                                      | 15.36                       | 11.33                        |
| <b>EMA<sup>(2)</sup> (mg/Nm<sup>3</sup>)</b> | <b>7,000</b>                            | <b>500</b>                              | <b>-</b>                                  | <b>350</b>                  | <b>250</b>                   |

<sup>(1)</sup> La caldera 2 no operó en el mes de diciembre

En ambos casos, las emisiones estimadas cumplen con la concentración máxima admisible establecida en la norma (NC 803, 2017) para calderas de generación de vapor existentes que utilizan fueloil, según se aprecia en las tablas 3 y 4.

### 3.2. Modelación de emisiones

La modelación mediante el modelo de Berliand para cada caldera utilizando la tasa de emisión (Tabla 5 y 6) permitió determinar los siguientes parámetros:

**Tabla 5.** Valores de concentración de contaminantes y distancia caldera 1 Berliand  
**Table 5.** Pollutant concentration and distance boiler 1 Berliand

| Parámetro       | M (g/s) | Cm<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | Xm<br>(m) | CmU<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | XmU<br>(m) | C24h<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | LAEL <sup>(1)</sup><br>(mg/m <sup>3</sup> ) |                    |
|-----------------|---------|----------------------------|-----------|-----------------------------|------------|------------------------------|---|--------------------|
|                 |         |                            |           |                             |            |                              | CPA <sup>(2)</sup>                          | CMA <sup>(3)</sup> |
| SO <sub>2</sub> | 9.10    | 0.28                       | 303.49    | 0.27                        | 303.5      | 0.11                         | 5   | 10                 |
| NO <sub>x</sub> | 1.06    | 0.03                       | 303.49    | 0.03                        | 303.5      | 0.012                        | 5   | 10                 |
| CO              | 0.10    | 0.003                      | 303.49    | 0.003                       | 303.5      | 0.0012                       | 20  | 100                |
| PST             | 0.193   | 0.006                      | 303.49    | 0.006                       | 303.5      | 0.0022                       | -   | -                  |
| PM10            | 0.137   | 0.008                      | 303.49    | 0.008                       | 303.5      | 0.0032                       | -   | -                  |

<sup>(1)</sup> Límites admisibles de exposición laboral a las sustancias nocivas en NC 872: 2011

<sup>(2)</sup> Concentración promedio admisible

<sup>(3)</sup> Concentración máxima admisible



**Tabla 6.** Valores de concentración de contaminantes y distancia caldera 2**Table 6.** Pollutant concentration and distance boiler 2

| Parámetro       | M (g/s) | Cm<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | Xm<br>(m) | CmU<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | XmU<br>(m) | C24h<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | LAEL <sup>(1)</sup><br>(mg/m <sup>3</sup> ) |                    |
|-----------------|---------|----------------------------|-----------|-----------------------------|------------|------------------------------|---|--------------------|
|                 |         |                            |           |                             |            |                              | CPA <sup>(2)</sup>                          | CMA <sup>(3)</sup> |
| SO <sub>2</sub> | 7.96    | 0.24                       | 303.49    | 0.24                        | 303.5      | 0.092                        | 5   | 10                 |
| NO <sub>x</sub> | 0.93    | 0.03                       | 303.49    | 0.03                        | 303.5      | 0.011                        | 5   | 10                 |
| CO              | 0.08    | 0.002                      | 303.49    | 0.002                       | 303.5      | 0.001                        | 20  | 100                |
| PST             | 0.155   | 0.005                      | 303.49    | 0.005                       | 303.5      | 0.0018                       | -   | -                  |
| PM10            | 0.109   | 0.01                       | 303.49    | 0.01                        | 303.5      | 0.0025                       | -   | -                  |

Los resultados de la modelación de la dispersión por Berliand para ambas calderas, muestran que las concentraciones máximas de los contaminantes ocurren a la distancia de 303 m al oeste del punto, para el rumbo de vientos predominante en la zona cumplen con los valores de máximos y promedios establecidos en la norma tomada como referencia (NC 872, 2011). Esta norma no regula las partículas.

La modelación mediante SCREEN para cada caldera utilizando la tasa de emisión (Tabla 7 y 8) permitió determinar los siguientes parámetros:

**Tabla 7.** Valores de concentración de contaminantes y distancia caldera 1 SCREEN**Table 7.** Pollutant concentration and distance boiler 1 SCREEN

| Parámetro       | M (g/s) | Cmáx,<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | Distancia<br>(m) | LAEL <sup>(1)</sup><br>(mg/m <sup>3</sup> ) |                    |
|-----------------|---------|-------------------------------|------------------|---|--------------------|
|                 |         |                               |                  | CPA <sup>(2)</sup>                          | CMA <sup>(3)</sup> |
| SO <sub>2</sub> | 9.10    | 0.21                          | 349              | 5   | 10                 |
| NO <sub>x</sub> | 1.06    | 0.024                         | 349              | 5   | 10                 |
| CO              | 0.10    | 0.0023                        | 349              | 20  | 100                |
| PST             | 0.193   | 0.0044                        | 349              | -   | -                  |
| PM10            | 0.137   | 0.0031                        | 349              | -   | -                  |

**Tabla 8.** Valores de concentración de contaminantes y distancia caldera 2 SCREEN**Table 8.** Pollutant concentration and distance boiler 2 SCREEN

| Parámetro       | M (g/s) | Cmáx,<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | Distancia<br>(m) | LAEL <sup>(1)</sup><br>(mg/m <sup>3</sup> ) |                    |
|-----------------|---------|-------------------------------|------------------|---|--------------------|
|                 |         |                               |                  | CPA <sup>(2)</sup>                          | CMA <sup>(3)</sup> |
| SO <sub>2</sub> | 7.96    | 0.18                          | 349              | 5   | 10                 |
| NO <sub>x</sub> | 0.93    | 0.021                         | 349              | 5   | 10                 |
| CO              | 0.08    | 0.0018                        | 349              | 20  | 100                |
| PST             | 0.155   | 0.0035                        | 349              | -   | -                  |
| PM10            | 0.109   | 0.0025                        | 349              | -   | -                  |

Los resultados de la modelación de la dispersión por SCREEN para ambas calderas, muestran que las concentraciones máximas de los contaminantes ocurren a la distancia de 349 m del punto. Los valores de concentración máxima de cada contaminante analizado cumplen con los valores de máximos y promedios establecidos en la norma tomada como referencia (NC 872, 2011).

La comparación de los resultados de los modelos de dispersión, así como los valores de concentración máxima establecida en la norma se muestra en la tabla siguiente:

**Tabla 9.** Resultados de los modelos

**Table 9.** Model Results

| Contaminante    | Caldera | ScreenView                    |                  | Berliand                      |                  | CMA <sup>(1)</sup><br>(mg/m <sup>3</sup> ) |
|-----------------|---------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|--|
|                 |         | Cmáx,<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | Distancia<br>(m) | Cmáx,<br>(mg/m <sup>3</sup> ) | Distancia<br>(m) |  |
| SO <sub>2</sub> | 1       | 0.21                          | 349              | 0.26                          | 303              | 10   |
|                 | 2       | 0.18                          | 349              | 0.23                          | 303              |  |
| NO <sub>x</sub> | 1       | 0.024                         | 349              | 0.31                          | 303              | 10   |
|                 | 2       | 0.021                         | 349              | 0.027                         | 303              |  |
| CO              | 1       | 0.0023                        | 349              | 0.003                         | 303              | 100  |
|                 | 2       | 0.0018                        | 349              | 0.002                         | 303              |  |
| PST             | 1       | 0.0044                        | 349              | 0.0059                        | 303              | -  |
|                 | 2       | 0.0035                        | 349              | 0.0047                        | 303              |  |
| PM10            | 1       | 0.0031                        | 349              | 0.0083                        | 303              | -  |
|                 | 2       | 0.0025                        | 349              | 0.0066                        | 303              |  |

<sup>(1)</sup> Concentraciones máximas admisibles en la NC 872: 2011

Las concentraciones máximas de dispersión obtenidas muestran valores similares en ambos modelos lo que demuestra la veracidad del resultado. Los valores de concentración obtenidos se encuentran dentro de los límites admisibles de exposición laboral a las sustancias nocivas establecidos en la norma (NC 872, 2011).

Se considera que el radio mínimo admisible 1,000 m en torno a las empresas industriales y otras fuentes emisoras de contaminantes del aire (Industria química Clase I Depósitos y almacenes de productos de alta toxicidad - Instalaciones de carga descarga de productos químicos de alta toxicidad) (NC 1059, 2014) las emisiones de los contaminantes evaluados no alcanzan la zona poblada cercana a la comercializadora, ya que la misma se encuentra ubicada a 1.5 km al oeste de la fuente emisora. Los modelos aplicados sitúan los valores máximos de concentración a una distancia de 303 m (Berliand) a 349 m (SCREEN View) de la fuente emisora.

## 4. Conclusiones

Derivado del presente estudio se puede arribar a tres conclusiones: 1) Los valores de las emisiones estimadas de las calderas cumplen con los límites establecidos en la norma. 2) Para los modelos utilizados, las concentraciones máximas de dispersión ocurren a una distancia de 349 m (SCREEN) y a 303 m (Berliand) de la fuente y cumplen lo establecido en la norma. 3) Los modelos

aplicados refieren que los valores máximos de concentración de las emisiones se encuentran dentro del radio mínimo de protección sanitaria establecido en la (NC 1059: 2014). Así mismo se recomienda: 1) Mantener los parámetros de operación de ambas calderas sin cambios. 2) Realizar el estudio bajo otros parámetros de operación.

## Conflicto de interés

Los autores de presente artículo confirman que no existe conflicto de interés en la publicación de la presente investigación.

## Nomenclatura

- M: tasa de emisión
- C24h: concentración del contaminante para 24 horas
- Cm: concentración máxima del contaminante para 20 minutos bajo condiciones meteorológicas desfavorables
- Xm: distancia a la que ocurre Cm
- CmU: concentración máxima del contaminante para velocidad del viento diferente de la crítica
- XmU: Distancia donde se produce la CmU

## 5. Referencias

- Álvarez, O. (1991). Tesis: Diagnóstico y pronóstico de la contaminación por SO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S en Moa. Modelación con consideraciones de terreno plano. in INSMET. 1994, Academia de Ciencias. Universidad de La Habana: La Habana, Cuba. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.11032.26885>
- ISO. (2021). ISC Fields 13.040.20 Ambient atmospheres.
- Kumar, R., Ramaswamy, B. & Kumar, A. (2004). A review of world wide web sites for air pollution instrumentation. *Environmental Progress* 18(2): A10-A16. <https://doi.org/10.1002/ep.670180208>
- Lakes Environmental Software. Screen View. Screening Air Dispersion Model (SCREEN3). Version 2.5.0. 2007. <https://goo.su/rQ6B6Z>
- NPI. (2013). Emission estimation technique manual for Oil and Gas Extraction and Production. Version 2.0 Department of Sustainability, Water, Population and Communities. Australian Government. ISBN: 0642550573. <http://www.npi.gov.au/> (<https://goo.su/Chq4> )
- ONN, NC 1059: 2014. (2014). Calidad del aire — Metodología para modelar las afectaciones de la calidad del aire a escala local debido a las emisiones de contaminantes atmosféricos desde fuentes fijas. *Oficina Nacional de Normalización (NC)*. El Vedado, La Habana. Cuba. <https://goo.su/JV2CZ>
- ONN, NC 111: 2004. (2004). Calidad del aire—Reglas para la vigilancia de la calidad del aire en asentamientos humanos. *Oficina Nacional de Normalización (NC)*. Ciudad de La Habana, Cuba. p. 14. <https://goo.su/b70URm>

- ONN, NC 39: 1999. (1999). Calidad del Aire. Requisitos Higiénicos - Sanitarios. *Oficina Nacional de Normalización (NC)*. Ciudad de La Habana, Cuba. p. 89. <https://goo.su/8rnrs>
- ONN, NC 803: 2010. (2021). Calidad del aire — Emisiones máximas admisibles de contaminantes a la atmósfera en fuentes fijas puntuales de instalaciones generadoras de electricidad y vapor. *Nacional de Normalización (NC)*. El Vedado, La Habana. Cuba. p. 18. <https://goo.su/ZN8bs>
- ONN, NC 872: 2011. (2011). Seguridad y salud en el trabajo — Sustancias nocivas en el aire de la zona de trabajo — Evaluación de la exposición laboral — Requisitos generales. *Nacional de Normalización (NC)*. El Vedado, La Habana. Cuba. p. 24. <https://goo.su/LIG8bjB>
- Romero Placeres, M., Diego Olite, F. & Álvarez Toste, M. (2006). La contaminación del aire: su repercusión como problema de salud. *Revista Cubana Higiene y Epidemiología* 44(2): 1-14. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223214848008>
- Rubio M., Hernández K., Olivera W., Cervera D. & Aponte N. (2019). Estudio de Riesgos Naturales ECC Matanzas. Inversiones Gamma S.A., Matanzas, Cuba.
- Trasancos, L.R. (2013). Tesis: Propuesta para disminuir la contaminación por emisiones de flares. Facultad de Ingeniería Química. Instituto Superior Politécnico “José Antonio Echeverría”: La Habana, Cuba. p. 85.

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Artículo de Revisión

# Modelos murinos de diabetes para el estudio de compuestos bioactivos

Murine models of diabetes for the study of bioactive compounds

Luis Fernando López-Soto<sup>1</sup>, Carmen Candia Plata<sup>1</sup>, Viviana Reyes Marquez<sup>3</sup>, Jeanette Arredondo Damian<sup>2</sup>, Ana Lourdes Mata-Pineda<sup>1</sup>, Gerardo Álvarez Hernández<sup>1</sup>, Rafael Lorenzana Basaldúa<sup>4</sup> y Adriana Soto-Guzmán<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora. Colosio y Reforma S/N, Col. Centro, C.P. 83,000, Hermosillo, Sonora, México.

<sup>2</sup> Programa de Posgrado en Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro, C.P. 83,000, Hermosillo, Sonora, México.

<sup>3</sup> Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro, C.P. 83,000, Hermosillo, Sonora, México.

<sup>4</sup> Clínica Veterinaria Odín, Israel González y Av. Cuatro, no. 112, Col Bugambillas, C.P. 83,140, Hermosillo, Sonora, México.

\*Correspondencia: [adriana.soto@unison.mx](mailto:adriana.soto@unison.mx) (Adriana Soto-Guzmán)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i1.1402>

Recibido: 06 de noviembre de 2023; Aceptado: 13 de febrero de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado

Editor de Sección: Dr. David Morales-Morales

## Resumen

La diabetes es una enfermedad metabólica de alta prevalencia internacional. La hiperglicemia y sus complicaciones derivadas son la principal característica de la diabetes. El desarrollo de fármacos para el control glicémico y sus complicaciones ha sido del interés de la comunidad científica por muchos años y las estrategias para obtener evidencia de los efectos biológicos de las sustancias y extractos de plantas son diversas. Los modelos murinos son herramientas experimentales que permiten comprender los mecanismos fisiopatológicos de la diabetes, así como para evaluar los efectos de compuestos obtenidos de fuentes naturales, así como sintéticos sobre la hiperglicemia, el estrés oxidativo, la inflamación y la cicatrización de heridas en ratas y ratones diabéticos. En esta revisión se describen los modelos murinos para el estudio de la diabetes más frecuentemente reportados en la literatura científica actual y las estrategias que en ellos se utilizan para llevar a cabo el estudio de la actividad biológica de extractos de plantas o compuestos sintéticos.

**Palabras clave:** rata diabética, ratón diabético, compuestos bioactivos, hipoglicemiante, antioxidante, antiinflamatorio, cicatrización.

## Abstract

Diabetes is a metabolic disease of high international prevalence. Hyperglycemia and its derived complications are the main characteristics of diabetes. The development of drugs for glycemic control has been of interest to the scientific community for many years, and the strategies to obtain evidence of the biological effects of substances and plant extracts are diverse. Murine models are experimental tools for understanding the pathophysiological mechanisms of diabetes and evaluating the effects of compounds obtained from natural sources and synthetic ones on hyperglycemia, oxidative stress, inflammation, and wound healing in rats and diabetic mice. This review describes the murine models for the study of diabetes most frequently reported in the current scientific literature and the strategies used in them to study the biological activity of plant extracts or synthetic compounds.

**Keywords:** diabetic rat, diabetic mice, bioactive compounds, hypoglycemic, antioxidant, anti-inflammatory, wound healing.

## Introducción

La diabetes es una enfermedad metabólica y compleja que tiene como característica principal la hiperglicemia crónica (Aleppo *et al.*, 2022). La hiperglicemia se origina como consecuencia de la baja entrada de glucosa a las células causada por la deficiente producción de insulina por el páncreas o por defectos del receptor de insulina, en los transportadores de glucosa o en otras moléculas participantes de la ruta de la entrada y asimilación de la glucosa en las células (ElSayed *et al.*, 2022).

La glucosa en circulación sanguínea se une a los grupos amino en las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos desencadenando una serie de reacciones reversibles que generan bases de Schiff y productos de Amadori, compuestos altamente inestables que dan lugar a productos de glucosilación avanzada (PGA) (Cárdenas-León *et al.*, 2009). Los PGA se pueden unir a proteínas, ácidos nucleicos, lípidos e incluso formar entrecruzamientos PGA-PGA y durante estos procesos se da la formación de radicales libres de oxígeno que activan respuestas celulares proinflamatorias (Cárdenas-León *et al.*, 2009; Seow *et al.*, 2012). Los PGA son reconocidos por los receptores para PGA (RPGA) en las superficies celulares y con ello activan rutas de transducción de señales reguladoras tales como senescencia, apoptosis, inflamación y estrés oxidativo (Rabbani y Thornalley, 2018). Una elevación en la cantidad de PGA en circulación sanguínea se asocia directamente al desarrollo acelerado de esclerosis vascular, hipoxia e inflamación tisular crónica propios de la patogénesis de las complicaciones vasculares de la diabetes (enfermedad cardiovascular, retinopatía, nefropatía, neuropatía y pie diabético) (Cárdenas-León *et al.*, 2009).

Existen varios tipos de diabetes entre los que se encuentran la diabetes tipo 1 (DT1), la diabetes tipo 2 (DT2), la diabetes gestacional, y otros tipos menos frecuentes que se originan por la presencia de síndromes monogénicos, disfunción pancreática o que son inducidas químicamente por intoxicación o tratamientos farmacológicos (Aleppo *et al.*, 2022). Aunque son considerables los avances en el entendimiento de la diabetes aún existen dudas respecto a los mecanismos implicados en su desarrollo y complicaciones (Cárdenas-León *et al.*, 2009; Aylwin, 2016; Khan *et al.*, 2019). Cuantiosa información sobre los mecanismos fisiopatológicos y moleculares de la diabetes y sus complicaciones se ha obtenido mediante la realización de investigación en animales empleando gatos, perros y

roedores a los que se les induce el desarrollo de diabetes o en casos específicos lo desarrollan espontáneamente (Aylwin, 2016; Brito-Casillas *et al.*, 2016). Particularmente, los modelos *in vivo* de diabetes que emplean ratas y ratones ofrecen la ventaja de ser económicos en comparación a otros especímenes de mayor tamaño (Brito-Casillas *et al.*, 2016).

El control glicémico es primordial para el manejo de la diabetes y son muchos los estudios que han permitido el avance en este campo, desde la producción de insulina, metformina y sulfonilureas, seguidas del surgimiento de los inhibidores de alfa glucosidadas, las tiazolinedionas (TZD) y las meglitinidas en los 90s, y posterior al año 2000 surgen las incretinas y los inhibidores de los cotransportadores de sodio-glucosa tipo 2 (ISGLT2) (Nauck *et al.*, 2021). Asimismo, a casi un siglo desde el inicio del uso clínico de insulina exógena para el tratamiento de la diabetes se siguen haciendo investigaciones para mejorar sus preparaciones, los dispositivos con los que se aplica, desarrollo de fármacos coadyuvantes, preparaciones para su administración oral, nasal y dérmica, entre otras, para lo cual se requiere el empleo de modelos murinos en su fase de investigación preclínica (Hallschmid, 2021; Reidy *et al.*, 2021).

En búsqueda de una alternativa a los medicamentos alopáticos, los tratamientos tradicionales han sido ampliamente estudiados para el manejo de la diabetes. Se encuentran disponibles más de 400 plantas, de las cuales solo de una fracción se ha estudiado científica y clínicamente su eficacia, demostrándose que la presencia de compuestos flavonoides, fenólicos, terpenoides y cumarinas son efectores de carácter antidiabético en las plantas que los poseen (Kumar-Shubham, 2021). Algunos ejemplos de fármacos hipoglicemiantes que se obtienen de origen natural son acarbosa, miglitol y voglibose, y como tratamiento de problemas circulatorios el Pycnogenol®. Una ventaja de los medicamentos a base de hierbas es la baja atribución de efectos adversos, por lo que resultan ser blanco de interés de estudio en la búsqueda de nuevas moléculas con efecto antidiabético (Kumar-Shubham, 2021).

En la actualidad la diabetes representa un problema de salud pública mundial debido a su alta prevalencia y mortalidad. Los modelos animales nos permiten elucidar los aspectos fisiopatológicos de la diabetes y avanzar en el desarrollo de nuevos tratamientos para control glucémico y para inhibir el desarrollo y avance de las complicaciones vasculares de la diabetes (Aylwin, 2016; Kumar-Shubham, 2021). Se realizó una revisión de artículos científicos actuales sobre modelos animales para el estudio de la diabetes y sus tratamientos en las plataformas PubMed, SciELO, Scopus y Google Académico. En la presente revisión narrativa se describen los modelos murinos de diabetes más empleados en la actualidad para el estudio de compuestos naturales y sintéticos con fines terapéuticos, así como las estrategias metodológicas para llevarlos a cabo.

## Modelos animales de experimentación

La investigación científica para el diseño de nuevos medicamentos debe de llevarse a cabo de manera estructurada iniciando con ensayos *in silico* e *in chimico* que generen evidencia de la pertinencia de una siguiente etapa de estudio en microorganismos o cultivos de células de mamíferos (*in vitro*) que justifique el uso de animales de experimentación (*in vivo*) para evaluar los efectos farmacológicos y toxicológicos. Una vez concluidos los ensayos en modelos animales que descarten el riesgo en su uso se da paso a la etapa clínica de la investigación (Fig. 1) (Díaz *et al.*, 2020).

El empleo de animales en investigación es un recurso al que se debe acudir cuando se han agotado las alternativas *in vitro* o *in silico* para responder la pregunta de investigación. Es un proceso que debe ser regulado en las instituciones donde se realiza para garantizar que se utilice el número mínimo de especímenes para cubrir los objetivos de la investigación y refinar los procedimientos de cuidado, reproducción y vivienda de los especímenes con la finalidad de reducir al mínimo el sufrimiento o dolor de acuerdo a los principios éticos de las 3R (reducción, reemplazo y refinamiento) (Couto y Cates, 2019; Díaz *et al.*, 2020). Para evaluar el efecto y mecanismo de acción de compuestos bioactivos para el tratamiento de la diabetes se han utilizado numerosos modelos murinos, algunos de ellos son en ratas o ratones que presentan de manera espontánea la enfermedad y en otros en los que se induce su desarrollo intencionalmente (Fig. 2) (Slavikova *et al.*, 2018).

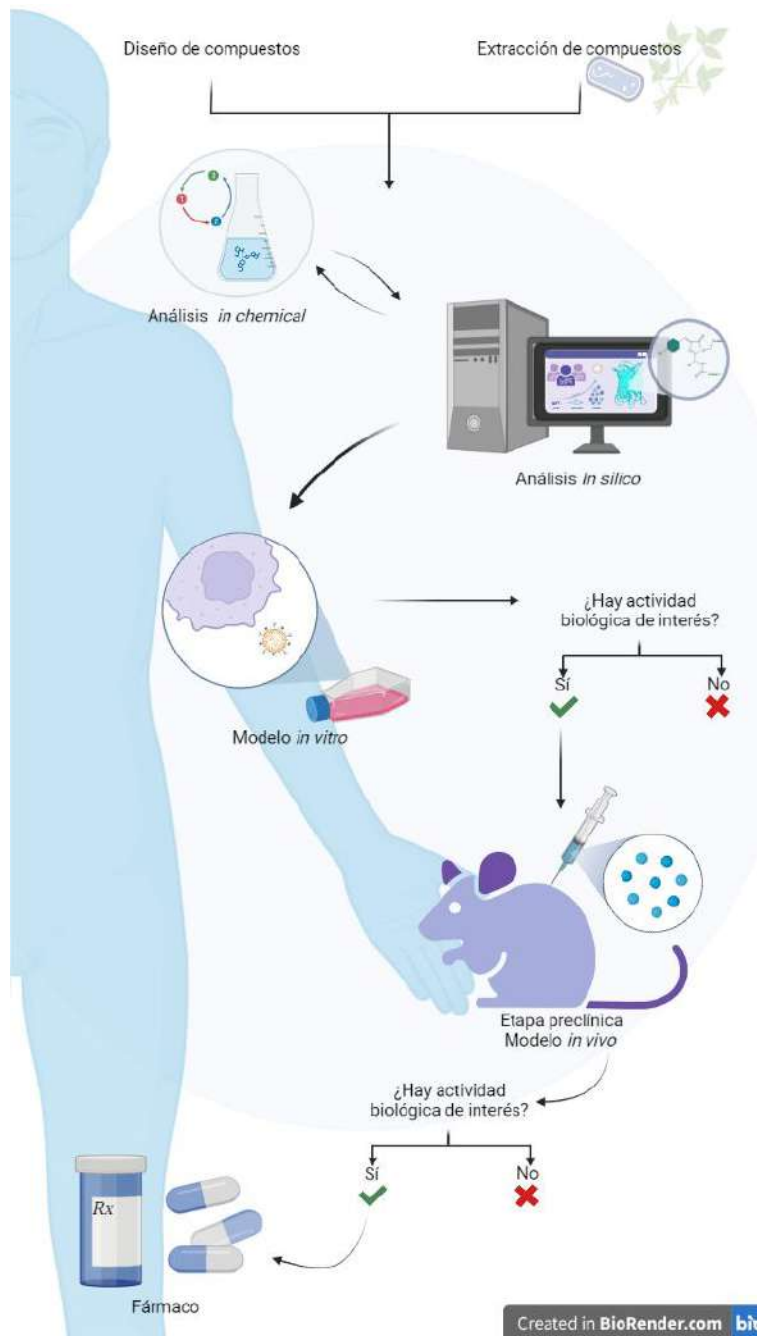
## Modelos espontáneos de diabetes

Existen modelos de ratas y de ratones en los que a través de cruces endogámicas de un animal que presenta uno o varios rasgos fenotípicos de la diabetes se generan estirpes de roedores con un linaje propenso a este padecimiento y se le denomina a este linaje modelo espontáneo de diabetes, ya que el animal no ha sido sujeto a manipulaciones para presentar diabetes (Weiss *et al.*, 2005; Arias-Díaz y Balibrea, 2007). Los modelos espontáneos autoinmunes más frecuentemente empleados son el ratón NOD, las Ratas BB (Biobreeding) y las Ratas LEW.1AR1-*iddm* (Pandey y Dvorakova, 2019).

**Ratas de BioBreeding (BB).** Las ratas de cría biológica o BB (del inglés *BioBreeding*) son ratas Wistar exogámicas y representan un modelo de diabetes autoinmune de tipo espontáneo, desarrollan diabetes aproximadamente el 90 % de los casos justo después de la semana 8 y 9 de vida en ambos sexos. Posterior al destete se da una sobre expresión de interferón  $\alpha$  y del complejo mayor de histocompatibilidad clase 1 (MHC 1), seguida de una infiltración de macrófagos, células asesinas naturales (NK), células dendríticas, células T y en menor medida células B, lo que desencadena auto reactividad de las células  $\beta$  pancreáticas y destrucción de los islotes. El fenotipo diabético de las ratas BB se caracteriza por desarrollar hiperglucemia, hipoinsulinemia, pérdida de peso, cetonuria y requiere una intervención inmediata de terapia con insulina para su supervivencia. La presencia de linfopenia en este modelo es la principal desventaja para su uso en la investigación en la DT1, dado a que esta condición no es característica de la DT1 en humanos (Pandey y Dvorakova, 2019).

**Ratas LEW.1AR1-*iddm*.** Las ratas LEW.1AR1-*iddm* representan un modelo espontáneo autoinmune para el estudio de DT1, surge de una mutación espontánea en genes del loci para el MHC de ratas LEW.1AR1. Las ratas LEW.1AR1-*iddm* generalmente manifiestan diabetes (aproximadamente el 20 % de los casos) justo en la pubertad sin alguna diferencia entre machos y hembras. Cuando existe la endogamia en las ratas LEW.1AR1-*iddm* con diabetes la incidencia de este padecimiento puede incrementarse hasta un 60 % de las camadas resultantes en ambos sexos (Weiss *et al.*, 2005). El fenotipo de diabetes en las ratas LEW.1AR1-*iddm* se caracteriza por hiperglucemia, glucosuria, cetonuria y poliuria, así como la destrucción apoptótica de las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans posterior a la infiltración de linfocitos B y T, macrófagos y células NK (Weiss *et al.*, 2005; Arndt *et al.*, 2018). En contraste con la rata BB y el ratón NOD (diabético no obeso), la rata LEW.1AR1-*iddm* sobrevive bien después del inicio de la diabetes y no presenta otras afecciones autoinmunes, lo que hace que este modelo de rata LEW sea adecuado para estudiar las complicaciones de la diabetes (Arias-Díaz y Balibrea, 2007).





**Figura 1.** Etapas del estudio de compuestos con potencial terapéutico para diabetes. Realizado en BioRender.com.

**Figure 1.** Stages of the study of compounds with therapeutic potential for diabetes. Created in BioRender.com.

**Ratón NOD.** El ratón NOD es el modelo animal de preferencia para comprender los mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades autoinmunes, entre ellas la DT1 (Miyazaki *et al.*, 1985; Pandey

y Dvorakova, 2019). En la tercera o cuarta semana de edad los islotes pancreáticos de los ratones NOD son infiltrados por células inmunes innatas principalmente por linfocitos CD4+ y CD8+ junto con células NK, linfocitos B, células dendríticas (DC), macrófagos y neutrófilos (Miyazaki *et al.*, 1985; Willcox *et al.*, 2009), lo que lleva a la destrucción de los islotes y pérdida de alrededor del 90 % de la insulina pancreática en un periodo de 10 a 14 semanas en el cual termina estableciéndose la diabetes (Miyazaki *et al.*, 1985). Los ratones del modelo NOD pierden peso rápidamente y requieren la administración de un tratamiento con insulina para sobrevivir hasta las 30 semanas de edad en promedio (Miyazaki *et al.*, 1985). Los ratones NOD desempeñan un rol determinante en la comprensión de la fisiopatología de la enfermedad humana, ayudan a los investigadores a diseñar y evaluar objetivos terapéuticos en la DT1 (Willcox *et al.*, 2009; Pandey y Dvorakova, 2019).

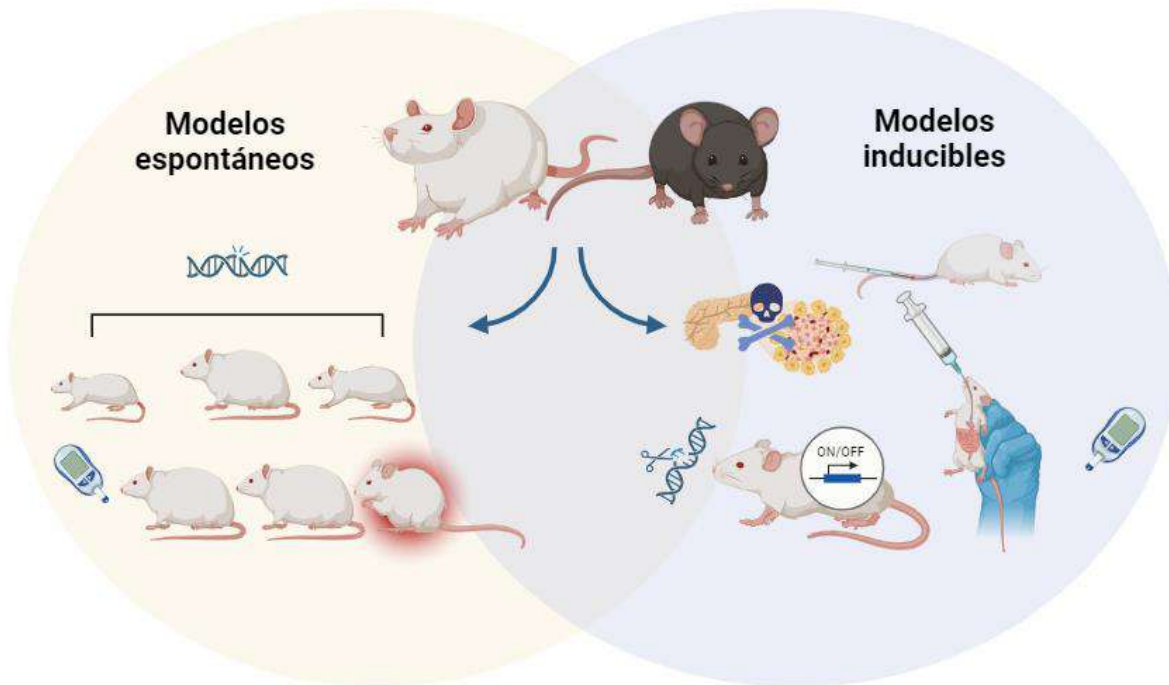
**Ratón Akita.** Es un ratón C57BL/6NSlc que presenta una mutación espontánea en el gen II de la insulina (*Ins2*), en su forma homocigota rara vez sobrevive 12 semanas. Presentan hipoinsulinemia, hiperglucemia, polidipsia y poliuria. El modelo de ratón Akita se utiliza para el estudio del estrés del retículo endoplasmático en las células  $\beta$  pancreáticas (Chang y Gurley, 2012), y se puede considerar como un modelo animal para el estudio de la neuropatía autonómica simpática diabética y de nefropatía diabética debido a las similitudes clínicas que presentan con estas afecciones en el humano (Chang y Gurley, 2012; He *et al.*, 2019).

## Modelos de diabetes inducidos

La generación de ratas y ratones que presenten una o más características clínicas de diabetes es posible mediante la manipulación genética de los murinos o mediante la administración de corticoides y fármacos que causan la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas a estos modelos se les denomina modelos inducidos (Fig. 2).

**Inducción química.** Mediante el uso de productos químicos como el aloxano y la estreptozotocina (STZ) considerados diabetogénicos potentes, mismos que funcionan como análogos de glucosa altamente citotóxicos y acumulables en células  $\beta$  pancreáticas a través del transportador de glucosa 2 (GLUT2) provocando su destrucción. Dosis elevadas  $\geq$  a 50 mg·kg<sup>-1</sup> intravenosas de STZ pueden producir diabetes irreversible en ratas. El fármaco más ampliamente utilizado para inducir diabetes en ratas en la STZ la cual mediante su actividad alquilante de ácidos nucleicos conduce a la fragmentación del ADN (Pandey y Dvorakova, 2019).

**Inducción hormonal.** La administración de glucocorticoides, como la dexametasona, en distintos periodos de la vida, puede afectar selectivamente la acción de la insulina e inducir resistencia a la misma. Algunas otras hormonas que pueden causar estos efectos al ser administradas en exceso son las catecolaminas y la somatostatina.



**Figura 2.** Diabetes espontánea e inducida. La diabetes en murinos puede desarrollarse por mutaciones espontáneas o ser inducida mediante la administración de fármacos. Creado en BioRender.com.

**Figure 2.** Spontaneous and induced diabetes. Diabetes in murines can develop through spontaneous mutations or be induced by drug administration. Created at BioRender.com.

**Manipulación genética.** La manipulación de un gen o grupo de genes cuyo producto esté relacionado con el metabolismo de la glucosa en ratones (principalmente) ha permitido la generación de modelos de estudio de la diabetes. Las modificaciones pueden ser diversas, denominándose ratones transgénicos cuando se induce la sobre activación de un gen particular, ratón *Knock-out* cuando se elimina al gen o genes particulares y ratón *Knock-in* cuando se reemplaza un gen con otra versión alterada del mismo (Fig. 2).

Un ejemplo de modelos de diabetes en ratones modificados genéticamente es el ratón  $LepR^{db/db}$ , este modelo se desarrolló a través de la inducción de una mutación en el gen *db* que codifica para el receptor de leptina. Los ratones  $LepR^{db/db}$  desarrollan obesidad, hiperinsulinemia e hiperglucemia dentro del primer mes de vida y posterior a los tres meses hay un pico de hiperglucemia e hipo insulinemia. Este modelo es frecuentemente empleado para estudio de dislipidemia diabética o en estudio de agentes miméticos y de sensibilizadores de insulina (Guilbaud *et al.*, 2019; Pandey y Dvorakova, 2019).

## **Estrategias para estudio de la actividad biológica de compuestos en modelos murinos de diabetes**

El estudio y caracterización de nuevos compuestos bioactivos con actividad antidiabética requiere el empleo de modelos animales en sus etapas preclínicas, y los modelos murinos de diabetes son la herramienta ideal para este propósito.

### **Compuestos hipoglicemiantes**

El objetivo central en el tratamiento de la diabetes es mantener la glucemia en niveles normales o lo más cercano a ello, y para lograrlo son empleados tratamientos con fármacos denominados hipoglicemiantes. El número de fármacos hipoglicemiantes se ha incrementado permitiendo que exista la oportunidad de un manejo individualizado de los pacientes. Actualmente, existen fármacos hipoglicemiantes con mecanismos de acción, efectos secundarios, limitaciones y riesgos diversos (Tabla 1) (Dalama y Mesa, 2016), lo que hace necesario el desarrollo de compuestos con capacidad hipoglicemiante que permitan a pacientes no respondedores a determinados fármacos preexistentes el control adecuado de su glicemia.

### **Estrategias para el estudio de la actividad hipoglicemiante en modelos murinos**

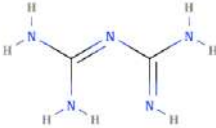
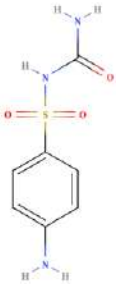
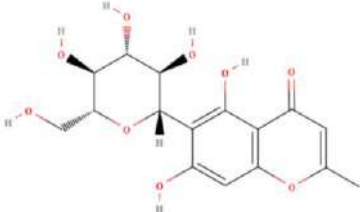


Una estrategia para el estudio del efecto hipoglicemiante de compuestos bioactivos es su administración oral en ratas Wistar inducidas con STZ y monitorización periódica posterior de niveles de glucosa sérica (Bell y Hye, 1983), tal como la realizada por Guerrero-Romero *et al.*, quienes usan este modelo de diabetes para evaluar la capacidad hipoglicemiante de suplementos comerciales de cúrcuma (*Curcuma longa*) y del extracto de cáliz de tomate verde (*Physalis ixocarpa Brot.*) (Guerrero-Romero *et al.*, 2020, 2021).

En los modelos de ratas diabéticas más allá del estudio del impacto sobre los niveles séricos de glucosa es factible estudiar el mecanismo de acción de los compuestos y su efecto a nivel orgánico; para lograr esto se administra (vía oral, intraperitoneal o intradérmica, según corresponda) el extracto o compuesto aislado a probar a grupos de ratas con diabetes y sin diabetes por un periodo mínimo de cuatro semanas espacio de tiempo en el cual se obtienen periódicamente muestras sanguíneas de la vena de la cola y de las que se evalúan niveles de glucosa sérica utilizando un glucómetro o kits colorimétricos. Es además factible la determinación de otros parámetros tales como los niveles de insulina sérica mediante prueba de ELISA comercial y el análisis de proteínas y metabolitos del suero, plasma u orina por espectrometría de masas para elucidar el mecanismo de acción particular hipoglicemiante de los compuestos estudiados (Wang *et al.*, 2021). Sumado a lo anterior, biopsias de tejido hepático pueden ser analizadas mediante técnicas proteómicas tales como electroforesis de proteínas, inmuno detección por *Western Blotting* (WB) y en su caso espectrometría de masas, para detectar diferencias en proteínas asociadas al metabolismo de glucosa (e.g., GLUT2, INSR, IRS-1, entre otras) y técnicas transcriptómicas tales como la secuenciación masiva y los microarreglos que permitan evaluar la activación de genes implicados en la actividad hipoglicemiante. Así mismo es factible la realización de estudios histopatológicos de tejido pancreático para la evaluación de reversión del daño de las células beta generado por la STZ en los grupos de ratas Wistar tratados con

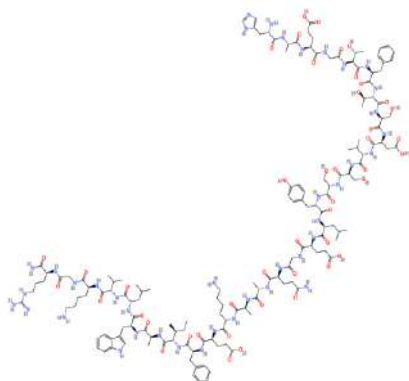
el o los compuestos probados. Tal es el caso de Mahana *et al.* (2023), al estudiar la capacidad hipoglicemiante de los componentes witanólicos y flavonoides del extracto etanólico de *Physalis pruinosa*.

**Tabla 1.** Fármacos utilizados para el control glicémico en la diabetes, su mecanismo de acción y ejemplos.

**Table 1.** Drugs used for glycemic control in diabetes, their mechanism of action and examples.

| Fármaco                            | Estructura  | Mecanismo de acción  | Ejemplos  |
|------------------------------------|---|--|---|
| Biguanidas                         |    | El principal mecanismo descrito es a nivel hepático donde reduce la gluconeogénesis y glucogenólisis (Di Magno <i>et al.</i> , 2022).  | Metformina  |
| Sulfonilureas                      |   | Estimula la secreción de insulina por células $\beta$ del páncreas y potencia la insulina endógena a nivel periférico (Rosas-Saucedo <i>et al.</i> , 2019).                  | Glibenclamida<br>Glipizida<br>Glicazida MR<br>Glimepirida |
| Inhibidores de la alfa glucosidasa |  | Retrasa la digestión de carbohidratos en el intestino delgado (Fisher, 2022).  | Acarbosa<br>Miglitol                                      |
| Tiazolidinedionas                  |  | Produce un aumento de sensibilidad a insulina de células hepáticas, tejido adiposo y músculo esquelético (Yabeta <i>et al.</i> , 2022).                                      | Pioglitazona<br>Rosiglitazona                             |
| Inhibidores de la DPP-4,           |  | Inhibición rápida y completa de actividad de DPP-4. Potencia sensibilidad a glucosa de células $\beta$ , favoreciendo secreción de insulina (Andersen <i>et al.</i> , 2018). | Saxagliptina<br>Sitagliptina<br>Vidagliptina              |

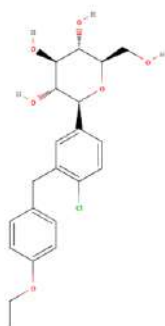
Análogos de los  
receptores del  
GLP-1



Incrementa, de forma glucosa-  
dependiente, la secreción de  
insulina de las células  $\beta$   
pancreáticas. Suprime la  
secreción de glucagón (Yabeta  
*et al.*, 2022).

Exenatida  
Liraglutida  
Semaglutida  
Efglenatida

Inhibidores del  
SGLT2



Inhibidor competitivo  
reversible y selectivo  
altamente potente del SGLT2.  
Inhibe la reabsorción de  
glucosa en el lóbulo proximal  
renal, permitiendo su  
eliminación por orina (Cowie  
y Fisher, 2020).

Canagliflozina  
Dapagliflozina  
Enfagliflozina

DPP-4, di-peptidil peptidasa 4; GLP-1, péptido similar al glucagón tipo 1; SGLT2, cotransportador de sodio-glucosa tipo 2.

## Compuestos antioxidantes

El estrés oxidativo es resultado de un desbalance entre la producción de radicales libres y la habilidad del organismo de eliminarlos ya sea por medio de mecanismos endógenos o mediante la participación de sustancias exógenas con capacidad antioxidante (Santos-Sánchez *et al.*, 2019). Existen diferentes tipos de compuestos antioxidantes que se clasifican de acuerdo con su estructura química y mecanismo de acción, entre los que se encuentran los polifenoles, carotenoides, taninos y vitaminas de los cuales se han identificado y caracterizado más de 8,000 compuestos en productos extraídos de plantas, animales y microorganismos mediante técnicas tales como la extracción con solventes, extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida con microondas y extracción enzimática, por mencionar algunas (Oroian y Escriche, 2015; Santos-Sánchez *et al.*, 2019), tal es el caso de la curcumina obtenida de *Curcuma longa*, la cual disminuye los niveles de ROS y del flavonoide kaempferol, derivado de té verde y otras fuentes, que con su actividad antioxidante disminuye los niveles de IL-1  $\beta$  y de TNF- $\alpha$  en ratones con neuropatía (Abo-Salem, 2014; Unuofin y Lebelo, 2020).

El análisis de la capacidad antioxidante *in vitro* es un buen indicador de una actividad antioxidante *in vivo*, una vez que se observa favorable, es cuando debe ser estudiado el efecto antioxidante del compuesto en modelos animales de experimentación.

## Estrategias para el estudio del efecto antioxidante en modelos murinos de diabetes

Durante los procedimientos de administración de los compuestos con potencial antioxidante se debe cuidar especialmente la manipulación y el almacenamiento del compuesto dada la biotransformación a la que se puede enfrentar (e.g., biotransformación por exposición a luz, calor o altas concentraciones de oxígeno). El modelo rata diabética inducido con STZ es el más frecuentemente utilizado para la evaluación de actividad antioxidante de un compuesto en diabetes *in vivo* (Pandey y Dvorakova, 2019). Una vez establecida la diabetes se administran dosis determinadas de los compuestos a probar durante un régimen específico de tiempo en las ratas, al completarse los tiempos establecidos se obtienen muestras de fluidos y tejidos de interés (e.g., orina, plasma, suero, eritrocitos, líquido cerebro espinal, saliva, tejido hepático, etc.) en los que se estima la concentración de Glutathion (GSH) reducido, actividad de superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y de catalasa, así como el porcentaje de peroxidación de lípidos y estudio metabólico de plasma, suero y orina mediante espectrometría de masas y cromatografía líquida de alta presión, entre otras (Wang *et al.*, 2021).

Lui *et al.* en el 2019 utilizaron ratas Wistar con diabetes inducida con STZ para evaluar la capacidad antioxidante de los polisacáridos de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava*). Administraron diariamente por vía oral el extracto por un periodo de tres semanas a grupos de ratas con diabetes y ratas sin diabetes. Al concluir el tiempo obtuvieron muestras sanguíneas por punción en la vena infra orbital y muestras de tejido hepático, renal y pancreático, en las que determinaron concentración de radicales libres, malondialdehído (MDA), actividad de SOD y catalasa mediante *kits* comerciales, obteniendo resultados de efecto antioxidante de los polisacáridos de hoja de guayaba dada la reducción de los niveles de MDA y actividad de SOD en el modelo de diabetes (Luo *et al.*, 2019).

## Compuestos antiinflamatorios

La inflamación es un proceso desencadenado por daño tisular o infección por agentes patógenos de manera secuencial y organizada tanto por las células afectadas como por las células del sistema inmunológico que acuden al sitio de la lesión (Tu *et al.*, 2022). El incremento de PGA derivado de la hiperglicemia crónica, así como la resistencia a la insulina, conducen a la activación de células del sistema inmune que producen moléculas proinflamatorias que llaman al establecimiento del estado de activación persistente del endotelio vascular, lo que se reconoce como daño endotelial (Maruhashi and Higashi, 2021; Nauck *et al.*, 2021).

Un ejemplo ampliamente utilizado en el tratamiento de la diabetes desde finales de los años 90 son las tiazolidinedionas mismas que favorecen la sensibilidad a la insulina y con ello disminuyen los niveles de citocinas proinflamatorias. En esa misma línea posteriormente se ha demostrado que el análogo de GLP-1 liraglutida induce el incremento de adiponectina, una citocina antiinflamatoria disminuida en diabetes y obesidad (Dahlqvist *et al.*, 2018). Por lo tanto, el control glicémico e inflamatorio son determinantes para la prevención y el tratamiento adecuado de las complicaciones vasculares y de los nervios que caracterizan a los pacientes con diabetes (Tilg y Moschen, 2008; Luo *et al.*, 2021; Nauck *et al.*, 2021; Tu *et al.*, 2022).

## Estrategias para el estudio de la actividad antiinflamatoria en modelos *in vivo* de diabetes

Para caracterizar la actividad antiinflamatoria de compuestos obtenidos de plantas o sintéticos se emplean comúnmente ratas Wistar con diabetes previamente establecida a las que se les administra un esquema de dosis de las diferentes sustancias a evaluar por periodos de 4 a 8 semanas, se obtiene muestras de sangre de la vena de la cola semanalmente y al final del tratamiento se obtienen muestras de tejido de interés (Furman, 2021).

El suero o plasma es sometido a la determinación de la concentración de moléculas asociadas a inflamación, el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), el *Western blot* (WB), la citometría de flujo y la nefelometría cuantitativa son algunas de las múltiples técnicas que permiten la inmuno detección de marcadores de inflamación circulantes en sangre, tales como la proteína C reactiva (PCR), ácido siálico, proteína amiloide A, Factor de Necrosis Tumoral (TNF), adiponectina, por mencionar algunos. Las muestras de tejido pueden ser sometidas a análisis histopatológico para determinar la presencia de infiltración de células inflamatorias en el tejido u órgano estudiado; análisis inmunohistoquímico para la detección de proteínas proinflamatorias (p.e., TNF- $\alpha$  e IL 1) y antiinflamatorias (p.e., IL 10 y TGF- $\beta$ ) en el tejido de interés; citometría de flujo para evaluar la presencia de marcadores celulares de inflamación. Asimismo, el análisis de los ácidos nucleicos extraídos del tejido nos permite evaluar la activación de genes codificantes de moléculas asociadas a inflamación mediante la técnica de qPCR, microarreglos de genes inflamatorios y secuenciación masiva (Fu *et al.*, 2021), por mencionar algunas técnicas.

Un ejemplo de estudio del efecto antiinflamatorio es el realizado en ratas Wistar diabéticas inducidas con STZ vía intraperitoneal es el publicado por Mahana *et al.* (2023), quienes analizaron la capacidad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Physalis pruinosa*, que contiene componentes de las familias witanólidos y flavonoides (Mahana *et al.*, 2023). Una vez establecida la enfermedad en el modelo *in vivo* se administró vía oral el extracto etanólico de *Physalis pruinosa* a los grupos de ratas controles y diabéticas por espacio de cuatro semanas. Posteriormente, el hígado y páncreas fue analizado mediante WB y se detectó disminución en las proteínas p30-MAPK, ERK1/2, NF-KB y TNF- $\alpha$  en el grupo de ratas tratadas con el extracto etanólico, por lo que determinaron que el extracto etanólico de *Physalis pruinosa* presenta actividad antiinflamatoria a través de la vía MAPK y ERK1/2 (Mahana *et al.*, 2023).

## Compuestos inductores de cicatrización

La hiperglicemia crónica induce cambios vasculares que comprometen el suministro de sangre a los tejidos. En el caso de presencia de heridas, el escaso flujo sanguíneo genera un ambiente hipóxico que disminuye la velocidad de recuperación del tejido e incrementa la posibilidad de infección (Garrido *et al.*, 2003; Rodríguez Chula *et al.*, 2020). El pie diabético es la principal causa de amputación de un miembro inferior dado que la pobre irrigación e hipoxia tisular permite el desarrollo de necrosis (Garrido *et al.*, 2003). Ya sea como apósitos o cremas de biopolímeros sintéticos, de nanopartículas, de infusiones o de extractos de plantas, existen estudios enfocados en desarrollar tratamientos que mejoren la capacidad de cierre de heridas en pacientes con diabetes, para lo que utilizan en su etapa preclínica a modelos murinos de diabetes.



## Estrategias para el estudio de agentes cicatrizantes en modelos de diabetes

Los modelos murinos de cicatrización más frecuentemente utilizados son los de recuperación de una herida de segunda intención y el modelo de quemaduras (Politis y Dmytrowich, 1998; Dunn et al., 2013; Abdullahi et al., 2014; Martínez-Higuera et al., 2021; Chen et al., 2022).

**Modelo de cicatrización de la herida de segunda intención.** Este modelo plantea el mimetizar las heridas que se generan en los pacientes con pie diabético. Para realizar este modelo primero se anestesia a los animales de experimentación por vía intraperitoneal o intramuscular, según se prefiera. Posteriormente, se elimina todo el pelo del área y se realiza la herida con un punzón de anclaje dérmico de biopsia y se administra el compuesto a analizar por vía oral o tópica directamente sobre la herida a intervalos de tiempo según corresponda. Se monitoriza la recuperación de la herida midiendo la misma con un vernier para calcular su % de retracción (Ecuación 1) y analizando indicadores histológicos a distintos tiempos de recuperación de la herida (Martínez-Higuera et al., 2021).

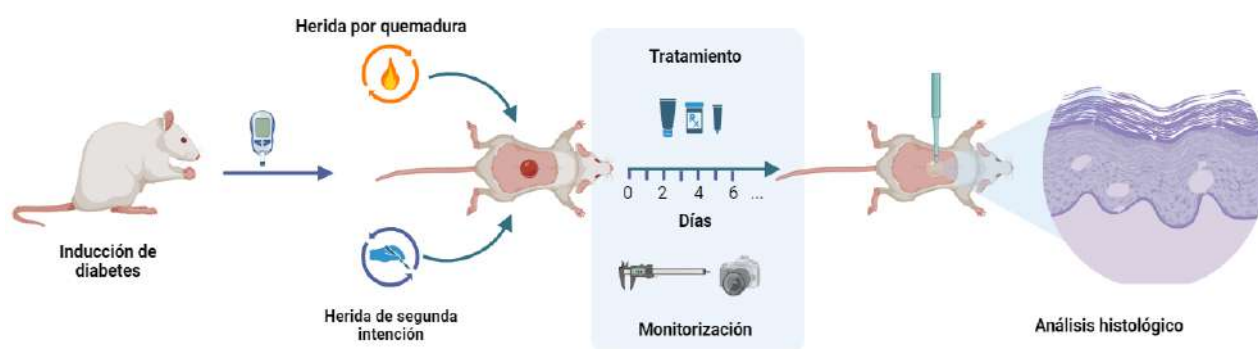
$$\% \text{ de retracción de herida} = \frac{\text{Área inicial de la lesión} - \text{Área final de la lesión}}{\text{Área inicial de la lesión}} \times 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

Un ejemplo de este procedimiento es el desarrollado por Chen et al. (2021) quienes con el objetivo de evaluar la actividad cicatrizante de geniposide en un modelo de rata diabética inducida con STZ realizaron una herida de segunda intención en el dorso de la rata y administraron oralmente la geniposide a diferentes concentraciones diariamente por siete días (Fig. 3). La recuperación de la herida se evaluó midiendo la herida e indicadores histológicos de biopsia de la herida al séptimo día. Geniposide redujo significativamente la lesión a los 7 días de tratamiento en comparación con el grupo control de vehículo y sin tratamiento. Mediante histología se evidenció la reducción significativa de la infiltración de células inflamatorias y la proliferación de fibroblastos en la región central de la herida (Chen et al., 2022).

**Modelo de cicatrización de la herida de quemaduras.** En murinos se realiza con anestesia mediante vía intraperitoneal o intramuscular, se elimina el pelo del área y se realiza contacto con una solera de metal adaptada a un cautín con el propósito de controlar la temperatura y área de la lesión inicial (Martínez-Higuera et al., 2021), una vez generada la herida se administra el compuesto por vía oral o tópica, según corresponda (Martínez-Higuera et al., 2021). La recuperación de la herida se evalúa midiendo la misma para calcular su retracción (Ecuación 1) y evaluando indicadores histológicos a distintos tiempos (Fig. 3).

Un ejemplo de aplicación del modelo de cicatrización de quemaduras es el trabajo desarrollado por Martínez et al. (2021) quienes estudiaron la capacidad cicatrizante de un hidrogel de Carbopol con nanopartículas de plata acopladas a extracto de *Mimosa tenuiflora* en un modelo de quemadura de segundo grado en rata Wistar diabéticas inducidas con STZ, emplearon ketamina/xilazina (70 mg kg<sup>-1</sup>/8 mg kg<sup>-1</sup>) vía intraperitoneal como anestésico y realizaron una quemadura de segundo grado de diámetro controlado en el dorso lateral de ratas diabéticas y controles, empleando un metal a 110 °C en contacto con la piel de la rata durante 10 segundos. El grado de la quemadura fue confirmado

histológicamente y una vez generada la herida se procedió a aplicar diariamente y de forma tópica el hidrogel con las nanopartículas de plata y el extracto de *Mimosa tenuiflora* por espacio de 14 días; el proceso de recuperación de la herida fue medida por un vernier electrónico diariamente y al final se tomó biopsia de la piel cicatrizada para su análisis histológico. Martínez *et al.* (2021), evidenciaron que el hidrogel de Carbopol con nanopartículas de plata acopladas a extracto de *Mimosa tenuiflora* reduce significativamente la herida por quemadura en un tiempo menor al que presentaron los grupos controles sin tratamiento. Como hallazgos histológicos se mostró reducción de la infiltración de células inflamatorias y la proliferación de fibroblastos en la región central de la herida en preparados de hematoxilina y eosina (Martínez-Higuera *et al.*, 2021).



**Figura 3.** Estrategia para el estudio de cicatrización en modelos murinos de diabetes. Creado en BioRender.com.  
**Figure 3.** Strategy for the study of healing in murine models of diabetes. Created in BioRender.com.

## Consideraciones al emplear modelos murinos de diabetes

Factores genéticos, ambientales y epigenéticos dan lugar a síntomas y cuadros clínicos particulares en diferentes tipos de diabetes lo que hace incorrecta la generalización de los modelos murinos de diabetes para el estudio de esta patología y sus tratamientos (ElSayed *et al.*, 2022). En el caso de la DT1 hay destrucción de las células beta del páncreas y por lo tanto ausencia de insulina, a diferencia de la DT2 donde se presenta resistencia a la insulina entre otros factores.

Los modelos murinos de diabetes poseen características particulares que se deben considerar al momento de su elección y diseño de la estrategia experimental, e.g., los ratones obesos LepR<sup>db/db</sup> nos permitirán estudiar aspectos relacionados a la resistencia a la insulina (Guilbaud *et al.*, 2019), mientras que los ratones Akita dado que presentan glomerulopatía por deposición de IgA no serán una buena elección para el estudio de la función renal, por mencionar algunos (Tabla 2) (Chang y Gurley, 2012). Por lo tanto, la elección del modelo de diabetes debe realizarse en consideración al tipo de tratamiento en el estudio propuesto y con entendimiento de la fisiopatología del modelo seleccionado (Yagihashi, 2023).

## Conclusiones

El estudio de nuevos compuestos bioactivos para el desarrollo de tratamientos de la diabetes y sus complicaciones es un campo de investigación que se encuentra en continuo avance. La realización de ensayos *in vivo* en etapas preclínicas de estudio de sustancias bioactivas es indispensable previo a la realización de ensayos clínicos en humanos. Las ratas y ratones son especímenes de experimentación con múltiples ventajas sobre otros modelos animales por su tamaño, espacio requerido, costo y capacidad de manipulación, además de que desarrollan de manera inducida o espontánea cuadros clínicos que asemejan a los de la DT1 o DT2 presentes en humanos, haciéndose posible evaluar en estos animales los efectos hipoglucemiantes, antiinflamatorios, antioxidantes y cicatrizantes de los compuestos propuestos mediante procedimientos que son reproducibles, actuales y ampliamente reportados.

**Tabla 2.** Ventajas y limitaciones de los modelos murinos de diabetes.

**Table 2.** Advantages and limitations of murine models of diabetes.

|             | Modelo                      | Ventajas/aplicaciones   | Limitaciones  | Referencias   |
|-------------|-----------------------------|---|---|---|
| Espontáneos | Ratas BB                    | Estudio de RI y obesidad asociada a la diabetes.<br>Tratamientos para ACV e inflamación.<br>Estudios de intervención. | Requiere insulina para sobrevivencia.<br>Deficiencia de células T.<br>Propensas a desarrollar tiroiditis.<br>Estudio de DT1.  | (Dalco y Dave, 2023; Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023) |
|             | Ratas LEW.1AR1- <i>iddm</i> | Sobrevivencia mayor que ratas BB y ratones NOD, ideales para estudios de largo plazo.                                 | Incremento de citocinas proinflamatorias en los islotes.  | (Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023)                     |
|             | Ratón NOD                   | Estudio de la DT1 autoinmune.<br>Estudios de intervención en nefropatía y neuropatía.                                 | Requiere insulina para sobrevivir después de las 30 sem.<br>Estudio de DT1.<br>La presencia de patógenos inhibe desarrollo de diabetes.<br>Algunas drogas eficientes en este modelo no lo son en humanos. | (Olivares <i>et al.</i> , 2017; Yagihashi, 2023)        |
|             | Ratón Akita                 | Estudio de DT1 como alternativa al modelo con STZ.<br>Neuropatía y retinopatía diabética.                             | Estudio de DT1.<br>No empleados para estudios renales.<br>Sobrevivencia $\leq$ 12 sem.  | (Dalco y Dave, 2023; Olivares <i>et al.</i> , 2017)     |

|           |                               |   |   |  |
|-----------|-------------------------------|---|---|--|
|           | Inducción con STZ             | Bajo costo.<br>Requiere bajas dosis para desarrollo de diabetes.<br>Estudios de intervención.<br>En combinación con dietas altas en grasas puede generar cuadros clínicos de DT2. | La STZ es altamente tóxica y carcinogénica.<br>Daño a hepático y renal por STZ atribuible a la diabetes.<br>Sobrevivencia hasta las 20 sem. | (Dalco y Dave, 2023; Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023; Olivares <i>et al.</i> , 2017) |
| Inducidos | Inducción con aloxano         | Estudios de intervención.<br>En combinación con dietas altas en grasas puede generar cuadros clínicos propios de DT2.   | Daño renal atribuible a la diabetes.<br>Sobrevivencia hasta las 20 sem.   | (Olivares <i>et al.</i> , 2017)  |
|           | Ratones LepR <sup>db/db</sup> | Estudio de inflamación y ACV, dislipidemia, obesidad y RI.<br>Estudios de intervención.   | Costo y mantenimiento.  | (Dalco y Dave, 2023; Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023; Yagihashi, 2023)               |

BB, BioBreeding; RI, resistencia a la insulina, ACV, accidente cerebro vascular; DT1, diabetes tipo 1; NOD, diabético no obeso; STZ, estreptozotocina; DT2, diabetes tipo 2.

## Contribuciones de los autores

Conceptualización, M.C.P., G.A.H. y L.L.S.; investigación, A.M.P.; redacción-redacción del borrador original, V.R.M., J.A.D. y A.L.M.; redacción-revisión y edición, A.S.G., V.R.M. y R.L.B.; supervisión, A.S.G. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad de Sonora y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca otorgada a JAR y por el financiamiento CB-2016 número 285059.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Referencias

- Abdullahi, A., Amini-Nik, S. & Jeschke, M. G. (2014). Animal models in burn research. *Cellular and Molecular Life Sciences* 71(17): 3241–3255. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1612-5>
- Abo-Salem, O. M. (2014). Kaempferol attenuates the development of diabetic neuropathic pain in mice: Possible anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 2(3): 424–430. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2014.073>
- Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Leon, J., Lyons, S. K., Perry, M. Lou, Prahalad, P., Pratley, R. E., Seley, J. J., Stanton, R. C. & Gabbay, R. A. (2022). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes care* 2023 46(1): S19-S40 <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>
- Andersen, E. S., Deacon, C. F. & Holst, J. J. (2018). Do we know the true mechanism of action of the DPP-4 inhibitors? *Diabetes, Obesity and Metabolism* 20(1): 34–41. <https://doi.org/10.1111/dom.13018>
- Arias-Díaz, J. & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria* 22(2): 160–168. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309226715005>
- Arndt, T., Jörns, A. & Wedekind, D. (2018). Changes in immune cell frequencies in primary and secondary lymphatic organs of LEW.1AR1-iddm rats, a model of human type 1 diabetes compared to other MHC congenic LEW inbred strains. *Immunologic Research* 66: 462–470. <https://doi.org/10.1007/S12026-018-9015-6>
- Aylwin H., C. G. (2016). Nuevos fármacos en diabetes mellitus. *Revista Médica Clínica Las Condes* 27(2): 235–256. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2016.04.013>
- Bell, R. H. & Hye, R. J. (1983). Animal models of diabetes mellitus: Physiology and pathology. *Journal of Surgical Research* 35(5): 433–460. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-4804\(83\)90034-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-4804(83)90034-3)
- Brito-Casillas, Y., Melián, C. & Wägner, A. M. (2016). Estudio de la patogénesis y tratamiento de la diabetes mellitus a través de modelos animales. *Endocrinología y Nutrición* 63(7): 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2016.03.011>
- Cárdenas-León, M., Díaz-Díaz, E., Argüelles-Medina, R., Sánchez-Canales, P., Díaz-Sánchez, V. & Larrea, F. (2009). Glicación y entrecruzamiento de proteínas en la patogénesis de la diabetes y el envejecimiento. *Revista de Investigación Clínica* 61(6): 505-520. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=40898>
- Chang, J.-H. & Gurley, S. B. (2012). Assessment of Diabetic Nephropathy in the Akita Mouse. In: Joost, HG., Al-Hasani, H., Schürmann, A. (eds) *Animal Models in Diabetes Research. Methods in Molecular Biology* Vol. 933. (pp. 17–29). Humana Press, Totowa, NJ. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7_2)

- Chen, X. Yan, Jiang, W. Wen, Liu, Y. Ling, Ma, Z. Xia & Dai, J. Qiang (2022). Anti-inflammatory action of geniposide promotes wound healing in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology* 60(1): 294–299. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2030760>
- Couto, M. & Cates, C. (2019). Laboratory guidelines for animal care. In: Pelegri, F. (eds) *Vertebrate Embryogenesis. Methods in Molecular Biology*, vol 1920. (pp. 407–430). Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9009-2\\_25](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9009-2_25)
- Cowie, M. R. & Fisher, M. (2020). SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control. *Nature Reviews Cardiology* 17: 761–772. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0406-8>
- Dahlqvist, S., Ahlén, E., Filipsson, K., Gustafsson, T., Hirsch, I. B., Tuomilehto, J., Imberg, H., Ahrén, B., Attvall, S. & Lind, M. (2018). Variables associated with HbA1c and weight reductions when adding liraglutide to multiple daily insulin injections in persons with type 2 diabetes (MDI Liraglutide trial 3). *BMJ Open Diabetes Research and Care* 6(1): e000464. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2017-000464>
- Dalama, B. & Mesa, J. (2016). Nuevos hipoglucemiantes orales y riesgo cardiovascular. Cruzando la frontera metabólica. *Revista Española de Cardiología* 69(11): 1088–1097. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2016.07.029>
- Dalco, L. J. & Dave, K. R. (2023). Diabetic rodent models for chronic stroke studies. In: Karamyan, V.T., Stowe, A.M. (eds) *Neural Repair. Methods in Molecular Biology*, Vol. 2616. (pp. 429–439). Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2926-0\\_30](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2926-0_30)
- Di Magno, L., Di Pastena, F., Bordone, R., Coni, S. & Canettieri, G. (2022). The mechanism of action of biguanides: New answers to a complex question. *Cancers* 14(13):3220. <https://doi.org/10.3390/cancers14133220>
- Díaz, L., Zambrano, E., Flores, M. E., Contreras, M., Crispín, J. C., Alemán, G., Bravo, C., Armenta, A., Valdés, V. J., Tovar, A., Gamba, G., Barrios-Payán, J. & Bobadilla, N. A. (2020). Ethical considerations in animal research: The principle of 3R's. *Revista de Investigación Clínica* 73(4): 199–209. <https://doi.org/10.24875/RIC.20000380>
- Dunn, L., Prosser, H. C. G., Tan, J. T. M., Vanags, L. Z., Ng, M. K. C. & Bursill, C. A. (2013). Murine model of wound healing. *Journal of Visualized Experiments* (75): e50265. <https://doi.org/10.3791/50265>
- ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Gaglia, J. L., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Leon, J., Lyons, S. K., Perry, M. Lou, Prahalad, P., Pratley, R. E., Seley, J. J., ... Association, A. D. (2022). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of care in diabetes—2023. *Diabetes Care* 46(Supplement\_1): S19–S40. <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>
- Fisher, M. (2022). Acarbose and alpha glucosidase inhibitors. In M. Fisher, G. A. McKay & A. Llano (eds) *Diabetes Drug Notes* (pp. 229–238). Wiley Online Library. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119785033.ch11>

- Fu, X., Zhou, X., Liu, Y., Lei, Y., Xie, H., Leng, Y., Gao, H. & Xie, C. (2021). Exploration of SQC formula effect on type 2 diabetes mellitus by whole transcriptome profile in rats. *Endocrine, Metabolic y Immune Disorders Drug Targets* 21(7): 1261–1269. <https://doi.org/10.2174/1871530321666210225125141>
- Furman, B. L. (2021). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols* 1(4). <https://doi.org/10.1002/CPZ1.78>
- Garrido Calvo, A. M., Cía Blasco, P. & Pinós Laborda, P. J. (2003). El pie diabético. *Medicina Integral* 41(1): 8–17. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-el-pie-diabetico-13044043>
- Guerrero-Romero, F., Simental-Mendía, L. E., Guerra Rosas, M. I., Sayago-Monreal, V. I., Morales Castro, J. & Gamboa-Gómez, C. I. (2021). Hypoglycemic and antioxidant effects of green tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) calyces' extracts. *Journal of Food Biochemistry* 45(4): e13678. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13678>
- Guerrero-Romero, F., Simental-Mendía, L. E., Martínez-Aguilar, G., Sánchez-Meraz, M. A. & Gamboa-Gómez, C. I. (2020). Hypoglycemic and antioxidant effects of five commercial turmeric (*Curcuma longa*) supplements. *Journal of Food Biochemistry* 44(9): e13389. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13389>
- Guilbaud, A., Howsam, M., Niquet-Léridon, C., Delguste, F., Boulanger, E. & Tessier, F. J. (2019). The LepR<sup>db/db</sup> mice model for studying glycation in the context of diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 35(2): e3103. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3103>
- Hallschmid, M. (2021). Intranasal insulin. *Journal of Neuroendocrinology* 33(4 A Special Issue of neuroendocrine review articles to mark the centenary of the discovery of insulin): e12934. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jne.12934>
- He, X., Zhang, T., Tolosa, M., Goru, S. K., Chen, X., Misra, P. S., Robinson, L. A. & Yuen, D. A. (2019). A new, easily generated mouse model of diabetic kidney fibrosis. *Scientific Reports* 9: 12549. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49012-4>
- Khan, R. M. M., Chua, Z. J. Y., Tan, J. C., Yang, Y., Liao, Z. & Zhao, Y. (2019). From pre-diabetes to diabetes: Diagnosis, treatments and translational research. *MDPI Medicina* 55(9): 546. <https://doi.org/10.3390/medicina55090546>
- Kumar, S., Mittal, A., Babu, D. & Mittal, A. (2021). Herbal medicines for diabetes management and its secondary complications. *Current Diabetes Reviews* 17(4): 437-456. <https://doi.org/10.2174/1573399816666201103143225>
- Luo, Y., Peng, B., Wei, W., Tian, X. & Wu, Z. (2019). Antioxidant and anti-diabetic activities of polysaccharides from Guava leaves. *MDPI Molecules* 24(7): 1343. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24071343>

- Luo, X. M., Yan, C. & Feng, Y. M. (2021). Nanomedicine for the treatment of diabetes-associated cardiovascular diseases and fibrosis. *Advanced Drug Delivery Reviews* 172: 234-248. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.01.004>.
- Mahana, A., Hammada, H. M., Khalifa, A. A., Elblehi, S. S., Harraz, F. M. & Shawky, E. (2023). Integrated serum pharmacochimistry and network pharmacology analyses reveal the bioactive metabolites and potential functional mechanism of ground cherry (*Physalis pruinosa* L.) in treatment of type 2 diabetes mellitus in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 300: 115750. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115750>
- Martín-Carro, B., Donate-Correa, J., Fernández-Villabrille, S., Martín-Vírgala, J., Panizo, S., Carrillo-López, N., Martínez-Arias, L., Navarro-González, J. F., Naves-Díaz, M., Fernández-Martín, J. L., Alonso-Montes, C. & Cannata-Andía, J. B. (2023). Experimental models to study diabetes mellitus and its complications: Limitations and new opportunities. *MDPI Molecular Sciences* 24(12): 10309. <https://doi.org/10.3390/ijms241210309>
- Martínez-Higuera, A., Rodríguez-Beas, C., Villalobos-Noriega, J. M. A., Arizmendi-Grijalva, A., Ochoa-Sánchez, C., Larios-Rodríguez, E., Martínez-Soto, J. M., Rodríguez-León, E., Ibarra-Zazueta, C., Mora-Monroy, R., Borbón-Nuñez, H. A., García-Galaz, A., Candia-Plata, M. del C., López-Soto, L. F. & Iñiguez-Palomares, R. (2021). Hydrogel with silver nanoparticles synthesized by *Mimosa tenuiflora* for second-degree burns treatment. *Scientific Reports* 11: 11312. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90763-w>
- Maruhashi, T. & Higashi, Y. (2021). Pathophysiological association between diabetes mellitus and endothelial dysfunction. *MDPI Antioxidants* 10(8): 1306. <https://doi.org/10.3390/antiox10081306>
- Miyazaki, A., Hanafusa, T., Yamada, K., Miyagawa, J., Fujino-Kurihara, H., Nakajima, H. & Tarui, S. (1985). Predominance of T lymphocytes in pancreatic islets and spleen of pre-diabetic non-obese diabetic (NOD) mice: a longitudinal study. *Clin. exp. Immunol* 60 (3): 622-630. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1577215/>
- Nauck, M. A., Wefers, J. & Meier, J. J. (2021). Treatment of type 2 diabetes: challenges, hopes, and anticipated successes. *The Lancet Diabetes y Endocrinology* 9(8): 525-544. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(21\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(21)00113-3)
- Olivares, A. M., Althoff, K., Chen, G. F., Wu, S., Morrisson, M. A., DeAngelis, M. M. & Haider, N. (2017). Animal models of diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reports* 17: 93. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0913-0>
- Oroian, M. & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International* 74: 10-36. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
- Pandey, S. & Dvorakova, M. C. (2019). Future perspective of diabetic animal models. *Endocrine, Metabolic y Immune Disorders - Drug Targets* 20(1): 25-38. <https://doi.org/10.2174/1871530319666190626143832>



- Politis, M. J. & Dmytrowich, A. (1998). Promotion of second intention wound healing by emu oil lotion: Comparative results with Furasin, Polysporin, and Cortisone. *Plastic and Reconstructive Surgery* 102(7): 2404-2407. <https://goo.su/Vao1cQ7>
- Rabbani, N. & Thornalley, P. J. (2018). Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease. *Kidney International* 93(4): 803–813. <https://doi.org/10.1016/J.KINT.2017.11.034>
- Reidy, P. T., Monnig, J. M., Pickering, C. E., Funai, K. & Drummond, M. J. (2021). Preclinical rodent models of physical inactivity-induced muscle insulin resistance: Challenges and solutions. *Journal of Applied Physiology* 130(3): 537–544. <https://doi.org/10.1152%2Fjappphysiol.00954.2020>
- Rodríguez Chula, E. & García Carmona, M (2020). Efectividad de la terapia de presión negativa en la cicatrización de las heridas crónicas en el pie de pacientes con diabetes. *Universidad Privada Norbert Wiener - Tesis*. <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/3864>
- Rosas-Saucedo, J., Rosas-Guzmán, J., Agustín Mesa-Pérez, J., González-Ortiz, M., Martínez-Abundis, E., González-Suárez, R., Sinay, I. & Lyra, R. (2019). Sulfonilureas. Estado actual de su empleo en América Latina. Documento de posición de la Asociación Latinoamericana de Diabetes. *Revista de La ALAD* 9(2). <https://doi.org/10.24875/ALAD.19000375>
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C. & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In: Emad Shalaby (ed) *Antioxidants* (pp. 10: 1–29). IntechOpen. <https://www.intechopen.com/chapters/66259>
- Seow, K. M., Juan, C. C., Wang, P. H., Ho, L. T. & Hwang, J. L. (2012). Expression levels of vascular cell adhesion molecule-1 in young and nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 73(3): 236–241. <https://doi.org/10.1159/000334175>
- Tilg, H. & Moschen, A. R. (2008). Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Molecular Medicine* 14: 222–231. <https://doi.org/10.2119/2007-00119.Tilg>
- Tu, Z., Zhong, Y., Hu, H., Shao, D., Haag, R., Schirner, M., Lee, J., Sullenger, B. & Leong, K. W. (2022). Design of therapeutic biomaterials to control inflammation. *Nature Reviews Materials* 7: 557–574. <https://doi.org/10.1038/s41578-022-00426-z>
- Unuofin, J. O. & Lebelo, S. L. (2020). Antioxidant effects and mechanisms of medicinal plants and their bioactive compounds for the prevention and treatment of type 2 diabetes: An updated review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020: 1356893. <https://doi.org/10.1155/2020/1356893>
- Wang, H., Teng, Y., Li, S., Li, Y., Li, H., Jiao, L. & Wu, W. (2021). UHPLC-MS-based serum and urine metabolomics reveals the anti-diabetic mechanism of Ginsenoside Re in type 2 diabetic rats. *MDPI Molecules* 26(21): 6657. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26216657>
- Weiss, H., Bleich, A., Hedrich, H. J., Kölsch, B., Elsner, M., Jörns, A., Lenzen, S., Tiedge, M. & Wedekind, D. (2005). Genetic analysis of the LEW.1AR1-iddm rat: An animal model for

spontaneous diabetes mellitus. *Mammalian Genome* 16: 432–441. <https://doi.org/10.1007/s00335-004-3022-8>

Willcox, A., Richardson, S. J., Bone, A. J., Foulis, A. K. & Morgan, N. G. (2009). Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clinical and Experimental Immunology* 155(2): 173–181. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03860.x>

Yabeta, J., Moscoso, A. & Osorio, P. (2022). Relación de las características farmacológicas de los hipoglucemiantes orales usados en pacientes con el tratamiento de diabetes mellitus tipo II. *Universidad - Ciencia y Sociedad* 23(2): 47–51. <https://doi.org/10.61070/ucs.v23i2.27>

Yagihashi, S. (2023). Contribution of animal models to diabetes research: Its history, significance, and translation to humans. *Journal of Diabetes Investigation* 14(9): 1015–1037. <https://doi.org/10.1111/jdi.14034>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



## ÁRBITROS 2023

### • ALIMENTOS

**Dra. Ariadna Thalia Bernal Mercado** - Universidad de Sonora

**Dra. Betzabe Lopez Corona** - Universidad de Sonora

**Dra. Deborah Murowaniecki Otero** - Universidade Federal da Bahia, BR.

**Dr. Carlos Abel Amaya Guerra** - Universidad Autónoma de Nuevo León

**Dr. Carlos Iván Delgado Nieblas** - Universidad Autónoma de Sinaloa

**Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez** - Universidad Autónoma de Nuevo León

**Dr. Mario Armando Gómez Favela** - Universidad Politécnica del Mar y la Sierra

**Dra. Carla Kuesten** - Kuesten Sensory Perception Research, USA.

**Dra. Daniela Sánchez Aldana Villarruel** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dra. Diana Beatriz Muñoz Márquez** - Universidad Autónoma de San Luis Potosí

**Dra. Xochitl Ariadna Ruiz Armenta** - Universidad Autónoma de Sinaloa

### • AGROPECUARIA

**Dr. Ignacio Rodrigo Islas Flores** - Centro de Investigación Científica de Yucatán

**Dr. Guillermo Fuentes Dávila** - Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

**Dr. Víctor Arturo González Hernández** - Colegio de Posgraduados. Estado de México

**Dra. Ana María Castillo González** - Universidad Autónoma de Chapingo



**Dra. Daniela D. Herrera Balandrano** - Nantong University: Nantong, CN

**Dra. Daniela Sánchez Aldana Villarruel** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dra. Laila Nayzzel Muñoz Castellanos** - Universidad Autónoma de Chihuahua

• **INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA**

**Dra. Araceli Castillo Romero** - Universidad de Guadalajara

**Dr. Balter Trujillo Navarrete** - TecNM-Tijuana

**Dr. Daniel Lardizabal Gutiérrez** - CIMAV-Chihuahua

**Dr. David Sáenz Zamarrón** - TecNM-Cd. Cuauhtémoc

**Dr. Francisco Paraguay Delgado** - CIMAV-Chihuahua

**Dr. Javier López Miranda** - TecNM-Durango

**Dr. José Guadalupe Rutiaga Quiñones** - Universidad Michoacana

**Dr. José Luis Solís Veliz** - Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, PE.

**Dr. José Melchor Medina Quintero** - Universidad Autónoma de Tamaulipas

**Dr. Luis Ernesto Elizalde Herrera** - Centro de investigación en Química Aplicada

**Dr. Oscar A. Viramontes Olivas** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. Víctor M. Ovando Medina** - Universidad Autónoma de San Luis Potosí

**Dr. Humberto Hernández Sánchez** - Instituto Politécnico Nacional

**Dra. Lucero Moreno Sáenz** - Colegio de la Frontera Norte

**Dr. Pablo Preciado Rangel** - TecNM-Torreón



• **QUÍMICA Y RECURSOS NATURALES**

**Dr. Domingo Salazar Mendoza** - Universidad Tecnológica de la Mixteca

**Dr. Alfredo Granados Olivas** - Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

**Dr. Celestino García Gómez** - Universidad Autónoma de Nuevo León

**Dr. Eduardo Valente Gómez Benítez** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. Emmanuel Hernández Núñez** - CINVESTAV-Mérida

**Dr. Héctor Osbaldo Rubio Arias** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. Horacio Eliseo Alvarado Raya** - Universidad Autónoma de Chapingo

**Dr. Javier Camarillo Cisneros** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. Javier Lamarra** - Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, AR.

**Dr. Jesús Ricardo Parra Unda** - Universidad Autónoma de Sinaloa

**Dr. Joel Domínguez Viveros** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. Jorge Alfonso Jiménez Castro** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. Jorge Arturo Salas Plata Mendoza** - Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

**Dr. Josué David Mota Morales** - Universidad Nacional Autónoma de México

**Dr. Josue Juarez** - Universidad de Sonora

**Dr. Manuel Livera-Muñoz** - Colegio de Posgraduados-Texcoco

**Dr. Miguel Ángel Sánchez Madrigal** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. René Renato Balandrán-Quintana** - CIAD-Hermosillo

**Dr. Rodolfo Gomez Cruz** - Universidad Juárez Autónoma de Tabasco



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA



**TECNOCENCIA CHIHUAHUA**  
Revista de ciencia y tecnología

**Dra. Ericka Santacruz Juárez** - Universidad Politécnica de Tlaxcala

**Dra. Ángela Ávila Fernández** - Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

**Dra. Daniela D. Herrera Balandrano** - Nantong University: Nantong, CN

**Dra. Diana Beatriz Muñoz Márquez** - Universidad Autónoma de San Luis Potosí

**Dra. Flor Yanhira Rentería Baltiérrez** - Universidad Autónoma de Nuevo León

**Dra. Lucero González Sebastián** - UAM. Iztapalapa

**Dra. María del Rosario Delgado Caballero** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dra. María del Rosario Peralta Pérez** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dra. María Marcela Rodríguez** - Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, AR.

**Dra. Mélida Gutiérrez** - Missouri State University

**Dra. Viviana Reyes Márquez** - Universidad de Sonora

**M.C. Carlos Eduardo Cañedo Figueroa** - Universidad Autónoma de Chihuahua

#### • SALUD

**Dr. Arnulfo Ramos Jiménez** - Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

**Dr. Carlos Armando Vélez Dávila** - Universidad Autónoma de San Luis Potosí

**Dr. Carlos Esteban Villegas Mercado** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. David Picazo** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dr. Eleuterio Burgueño Tapia** - Instituto Politécnico Nacional



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA



**TECNOCIENCIA CHIHUAHUA**  
Revista de ciencia y tecnología

**Dr. Erik René Lizárraga Verdugo** - Universidad Autónoma de Sinaloa

**Dr. Jesús Darío Landa Silva** - University of Nottingham. Nottinghamshire, GB.

**Dr. José Geovanni Romero Quintana** - Universidad Autónoma de Sinaloa

**Dr. Vladimir Villarreal Contreras** - Universidad Tecnológica de Panamá, PA.

**Dra. Jazmín Leticia Tobías Espinoza** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dra. América Chávez Martínez** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dra. Carolina Jiménez Lira** - Universidad Autónoma de Chihuahua

**Dra. Diana Barraza Jiménez** - Universidad Juárez del Estado de Durango

**Dra. Mariana Avendaño Felix** - Universidad Autónoma de Sinaloa

**Dra. Patricia Gómez Aguilar** - Universidad Autónoma de Yucatán



## Guía para autores



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

| Dirección de Investigación y Posgrado



## Política editorial

Son bienvenidos manuscritos originales e inéditos de tipo científico y tecnológico, los cuales deberán estar escritos con un lenguaje accesible a lectores con formación profesional o de interés científico en forma lógica y clara. TECNOCIENCIA CHIHUAHUA, publica artículos de investigación, notas científicas y artículos de revisión actualizados *por invitación*. Todo manuscrito recibido es revisado en primera instancia por el Comité Editorial para asegurar que cumpla con el formato y contenido establecido por las normas editoriales de TECNOCIENCIA CHIHUAHUA. El equipo editorial revisará que el envío cumpla con todos los requisitos de postulación, incluyendo su revisión bajo el software antiplagio iThenticate donde el porcentaje de similitud con otros trabajos deberá ser menor al 10 %. Los artículos serán enviados a revisión y una vez revisado y consideradas las sugerencias y cambios al manuscrito, los editores asociados determinarán su viabilidad para ser publicado; notificándose la aceptación o rechazo al autor. Si el manuscrito es aceptado la revista enviará el manuscrito al proceso de edición, cuyo responsable se contactará con el autor de correspondencia para la revisión y aprobación de las pruebas de galera. Así mismo, se le solicitará un resumen gráfico que describa en forma visual el contenido del artículo, además de cuatro o cinco aspectos relevantes del trabajo a publicar.

Para la evaluación de manuscritos se aplican los criterios de: rigor científico, calidad y precisión de la información, relevancia del tema y la claridad del lenguaje. Los árbitros prestarán especial atención a la originalidad de los escritos, es decir, revisarán que el manuscrito sea producto del trabajo directo del autor o autores y que no haya sido publicado o enviado algo similar a otras revistas. Los artículos de investigaciones deben presentar: un análisis detallado de los resultados originales, así como un desarrollo metodológico riguroso, resaltando los aportes científicos logrados. Las notas científicas o comunicación corta, deberán mostrar resultados novedosos, modificaciones de técnicas o desarrollo de técnicas emergentes innovadoras. Asimismo, los artículos de revisión deberán abordar temáticas novedosas y fundamentar el estado del arte en una revisión de literatura actualizada sobre temas actuales y de interés para el lector.

La revista TECNOCIENCIA CHIHUAHUA proporciona un acceso abierto e inmediato a su contenido, con el principio de ofrecer al público un acceso libre a información científica original e inédita y a revisiones críticas actualizadas que favorezcan una mayor difusión global de conocimiento y cumplir así, con la normativa de acceso abierto de DOAJ.

## Arbitraje

El proceso de evaluación de manuscritos es el siguiente: Un editor evaluará cada contribución, y podría rechazar trabajos en esta etapa por razones tales como: carecer de originalidad, tener serias deficiencias científicas, un uso inadecuado del lenguaje y de la gramática en general, o que el contenido esté fuera de los alcances de la revista. Los autores deberán proporcionar los datos de contacto completos de cuando menos tres árbitros potenciales adscritos a una institución distinta a la del autor, sin embargo,

la asignación de los árbitros para revisión del manuscrito será una decisión de la revista. La revista opera bajo un sistema de doble ciego y favorecerá la participación de revisores externos a la institución y al país de la revista. Tras el proceso de arbitraje, el editor emitirá un dictamen respecto a la evaluación del trabajo a los autores el cual puede ser: aceptado, aceptado con revisiones menores, aceptado con revisiones mayores o rechazado.

En caso de controversia, el Editor podrá solicitar una evaluación adicional con un tercer árbitro o dictaminar el manuscrito.

### **Derechos de autor**

Una vez aceptado el manuscrito, se solicitará al Autor enviar el formato de cesión de derechos de autor para la difusión del artículo a TECNOCENCIA CHIHUAHUA. Los autores concederán por escrito a la revista TECNOCENCIA CHIHUAHUA, la propiedad de los derechos de autor, lo que permite que su artículo y materiales puedan ser reproducidos, publicados, editados, fijados, comunicados y transmitidos públicamente en cualquier forma o medio, así como su distribución en el número de ejemplares que se requieran y su comunicación pública, en cada una de sus modalidades, incluida su puesta a disposición del público a través de medios electrónicos, ópticos o de cualquier otra tecnología, para fines exclusivamente científicos, culturales, de difusión y sin fines de lucro.

Los artículos publicados en TECNOCENCIA CHIHUAHUA, se distribuirán amparados bajo la [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](#)

### **Costo y tiempo de publicación**

La Revista TECNOCENCIA CHIHUAHUA es gratuita y está financiada por la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Se solicita a los autores se inscriban a la Revista para estadísticas de acceso y autoría.

El tiempo para la recepción y envío a revisión será en un máximo de tres días. El tiempo promedio para la primera respuesta de los árbitros es de cuatro semanas. El tiempo estimado para la aceptación del artículo es de tres meses y su publicación dependerá de la cantidad de trabajos que estén en espera de publicación.

### **Contribuciones**

#### **1. Tipos de contribuciones**

Las contribuciones se clasifican en artículos de investigación, notas científicas, así como artículos de revisión en español e inglés. Se aceptarán para su evaluación artículos de revisión, únicamente con *previa invitación* por parte del comité editorial de TECNOCIENCIA CHIHUAHUA.

No se aceptan contribuciones que se limiten a reportar información general sin fundamento estadístico, encuestas, composición química, u optimización de formulaciones (superficie de respuesta). Debe haber una aportación científica, tecnológica o ingenieril original, inédita y que no esté siendo considerada para su publicación simultánea en otro medio. Una descripción de los envíos se encontrará en el siguiente apartado.

## **2. Áreas de las contribuciones**

Las áreas que abarca la Revista TECNOCIENCIA CHIHUAHUA son las siguientes: Alimentos, Biológica, Salud, Agropecuaria, Cultura Física, Ingeniería y Tecnología, Química y Recursos Naturales. Al someter su contribución se deberá indicar la categoría que le corresponde. De no ser esto posible, es responsabilidad del autor proporcionar el área sugerida de su contribución.

## **3. Idioma de las contribuciones**

El idioma de las contribuciones será inglés o español. Se recomienda que los autores lleven a cabo una cuidadosa revisión del correcto uso del lenguaje para que los revisores puedan evaluar los méritos científicos del trabajo. Los editores podrán rechazar cualquier contribución que no cumpla los estándares.

## **4. Preparación y envío de las contribuciones**

Es indispensable que el autor se registre para postular el manuscrito a la revista. Se recomienda que el autor complete en su totalidad todos los datos solicitados en su perfil incluyendo su identificador [ORCID](#).

¿No está registrado? [Regístrese aquí](#)

¿Ya está registrado? [Ingrese aquí](#)

Los autores, deberán seguir las directrices del sitio web de la revista para el envío de las contribuciones.

## **Lineamientos generales para envío de manuscritos**

### **[Guía práctica para subir un envío a la plataforma](#)**

Las contribuciones deben ir acompañadas de una carta al editor ([Carta de presentación del artículo](#)) en donde explícitamente se describirá la relevancia del trabajo, manifestando que el trabajo no ha sido publicado o está siendo considerado para

publicación en otra parte. Así mismo, se hará de manifiesto que la publicación ha sido aprobada por todos los autores y que el manuscrito una vez aceptado no será publicado de la misma forma en otra revista, en inglés, español, o cualquier otra lengua, ni electrónicamente, sin el consentimiento de la revista. Las secciones que integrarán a cada una de las contribuciones se muestran a continuación:

### 1) Artículos científicos

Se constituirán de los resultados parciales o finales de investigaciones originales fundamentadas en metodologías científicas. Los artículos de investigaciones deben presentar: un análisis detallado de los resultados, así como un desarrollo metodológico original, resaltando los aportes científicos logrados. Estos artículos se conforman de las siguientes secciones:

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Introducción
- d) Materiales y métodos
  - Materiales
  - Métodos
    - Métodos fisicoquímicos
    - Métodos biológicos
    - Métodos estadísticos
- e) Resultados y discusión
- f) Conclusiones
- g) Agradecimientos
- h) Conflicto de interés
- i) Referencias

En la descripción de la sección de Materiales y métodos y Resultados y discusión, puede redactarse y presentarse en una sola sección o estructurarse con subtítulos para una mejor descripción. Deberá tener una extensión de 18 cuartillas como máximo, incluyendo Resumen y Referencias

### 2) Notas científicas

Es una comunicación corta, sobre resultados novedosos, modificaciones de técnicas o desarrollo de técnicas emergentes innovadoras, informes novedosos de investigaciones en el área de agropecuaria, salud, deportes o ingeniería. Para la presentación de este documento, se incluirán las secciones.

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Texto
- d) Conclusiones
- e) Agradecimientos

- f) Conflicto de interés
- g) Referencias

El texto de las notas científicas, se presentará en forma corrida, pero en forma clara y con coherencia, que permita su fácil comprensión. Deberá tener una extensión máxima de 9 cuartillas, incluyendo Resumen y Referencias

### 3) Artículos por invitación

#### Artículos de revisión

Se conformarán, de revisiones críticas actualizadas de un tópico en especial novedoso de las áreas temáticas de la revista. El objetivo de estos artículos, es presentar al lector una perspectiva de un tema en específico, a través de su análisis de la información, discusión y tendencias. La estructura de este artículo se conformará de las secciones:

- a) Título del artículo
- b) Resumen/Abstract
- c) Introducción
- d) Texto
- e) Conclusiones
- f) Agradecimientos
- g) Conflicto de interés
- h) Referencias

El texto deberá ser coherente con el objetivo y podrá redactarse con los subtítulos que sean necesarios, para una mayor comprensión del tema. Deberá tener una extensión máxima de 20 cuartillas, incluyendo Resumen y Referencias.

### Plantillas de los artículos

La descripción de las secciones están incluidas en la siguiente sección de esta Guía para Autores, además de en la plantilla para cada tipo de artículo: Artículo de Investigación: [Plantilla de Artículo de Investigación](#); Notas científica: [Plantilla de Notas Científicas](#); Artículo de Revisión: [Plantilla Artículo de Revisión](#). En estas se consideran sus especificaciones, las cuales deben ser acatadas por el autor. Asimismo, en cada una de las plantillas vienen las especificaciones del formato de texto (tamaño y tipo de fuente, márgenes, interlineado, etc.) el cual debe estar a una columna. Todas las páginas deben ser numeradas secuencialmente.

### Descripción de los elementos de un artículo

#### Título

Deberá incluir versiones en español e inglés, ser conciso y explicar la naturaleza del trabajo. Este deberá tener una extensión máxima de 20 palabras. La plantilla incluye la sección de autores, los cuales deberán ser correctamente descritos, incluyendo su afiliación. En caso de existir varios autores, deberá indicarse con un asterisco el autor para la correspondencia, así como la cuenta de correo electrónico del mismo.

### **Resumen/Abstract**

Éste deberá presentarse en español e inglés, respectivamente. Con la extensión máxima de palabras como se muestra en la plantilla. Este debe de incluir en forma clara el objetivo, descripción breve de la metodología, resultados y discusión relevantes conclusiones y aporte del trabajo. En éste se incluirán cinco palabras claves, en español e inglés, que permitan ligar informáticamente el contenido del artículo.

### **Introducción**

La introducción describe el estado actual del conocimiento sobre el tópico de investigación abordado, su justificación e importancia, así como la inclusión de la hipótesis y el objetivo del trabajo. Esta sección no deberá ser mayor a dos cuartillas.

### **Materiales y métodos**

#### **Materiales**

En esta sección se describen los materiales o sustancias empleadas para el desarrollo de la investigación. Especificando las características y fuentes de obtención, condiciones de manejo, almacenamiento y grado de pureza de sustancia o reactivos si ese es el caso. Señalando el nombre de compañías, ciudad y país donde los materiales y sustancias fueron adquiridos.

#### **Métodos**

Descripción de técnicas y procedimientos, así como el análisis de datos de los resultados obtenidos. En el caso de metodologías novedosas, estas se describirán detalladamente y cuando sean métodos comunes, se indicará la referencia correspondiente.

**Ética:** Cuando el artículo incluya estudios, experimentos con animales y evaluación sensorial de alimentos se deberá de incluir la sección ética correspondiente, la cual deberá describir los procedimientos seguidos y su apego a las normas, asimismo adjuntar un documento con la aprobación por el comité de bioética que corresponda.

### **Resultados y discusión**

Los resultados y discusión se presentarán en una sola sección. Los resultados podrán presentarse en tablas, figuras, fotografías o datos, los cuales se describirán y se justificarán con base a conocimientos o fundamentos existentes. En esta sección se contrastan los resultados obtenidos con la hipótesis planteada y sus semejanzas o

diferencias con resultados de investigaciones previamente realizadas y publicadas. El empleo de tablas y figuras deberá ser en forma complementaria del texto de la sección.

### **Conclusión**

Es una generalización de los resultados obtenidos y representan las aportaciones concretas del estudio. Incluyen magnitudes relativas o absolutas de las respuestas sin argumentación complementaria. Resaltando los aspectos novedosos e importancia de los resultados obtenidos, especificando mejores condiciones o parámetros finales del estudio. Debe mostrar congruencia con el título, resumen y objetivo del trabajo.

### **Agradecimientos**

Esta sección es opcional y tendrá un máximo de cuatro renglones para expresar agradecimientos a personas o instituciones que hayan contribuido a la realización del trabajo.

### **Conflicto de Interés**

Escribir un párrafo señalando la inexistencia de conflicto de intereses, en la publicación de estos resultados.

### **Referencias**

Las referencias que se incluyan en el texto deberán ser pertinentes, originales y modernas; se citarán acorde al formato sistema Harvard, en el cual se incluye el apellido de los autores y año de la publicación entre paréntesis. En el caso de que sean dos autores irán unidos por “y” (Choi y Garza, 2020). Cuando sean más de dos autores, se citará el apellido del primero seguido por “et al.,” (en cursiva) y el año de publicación (Gu *et al.*, 2019). Si se citan varias referencias, éstas se separarán por punto y coma y en orden cronológico ascendente (Gu *et al.*, 2019; Choi y Garza, 2020). La relación de autores en la sección de referencias será por orden alfabético de acuerdo al formato APA.

**IMPORTANTE:** Toda vez que la referencia cuente con el registro internacional DOI debe incluirlo utilizando el siguiente formato <http://doi.org/XXXXXX>

A continuación, se muestran algunos ejemplos:

#### *Artículos de revistas científicas*

Braber, N. V., Vergara, L. D., Rossi, Y. E., Aminahuel, C. A., Mauri, A. N., Cavaglieri, L. R., & Montenegro, M. A. (2020). Effect of microencapsulation in whey protein and water-soluble chitosan derivative on the viability of the probiotic *Kluyveromyces marxianus* VM004 during storage and in simulated gastrointestinal conditions. *LWT*, 118, 108844. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108844>



### Capítulos de libros

Ho, Y. C., Chua, S. C., & Chong, F. K. (2020). Coagulation-Flocculation Technology in Water and Wastewater Treatment. In *Handbook of Research on Resource Management for Pollution and Waste Treatment* (pp. 432-457). IGI Global.

### Libros

Low, I. M. (Ed.). (2018). *Advances in ceramic matrix composites*. Woodhead Publishing.

Patnaik, A., & Patnaik, S. (Eds.). (2019). *Fibres to Smart Textiles: Advances in Manufacturing, Technologies, and Applications*. CRC Press.

### Patentes

Götz, M. R., Holmgren, K., Larsson, N., Fiebich, B., & Wade, W. (2019). *U.S. Patent Application No. 16/478,514*.

### Tesis

Rios, E. A. (2018). *Incidencia y control de tipos patógenos de Escherichia coli (STEC y EPEC) en leche de vaca y quesos derivados en Castilla y León* (Tesis doctoral, Universidad de León).

### Boletín

Kirk, M. D., Angulo, F. J., Havelaar, A. H., & Black, R. E. (2017). Diarrhoeal disease in children due to contaminated food. *Bulletin of the World Health Organization*, 95(3), 233.

### Páginas electrónicas

Inegi. (2017). <https://www.inegi.org.mx/temas/agricultura/>

### Base de datos

Wishart, D. S., Feunang, Y. D., Marcu, A., Guo, A. C., Liang, K., Vázquez-Fresno, R., ... & Sayeeda, Z. (2017). HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. *Nucleic acids research*, 46(D1), D608-D617.

**Citas** la abreviación de la revista TECNOCENCIA CHIHUAHUA en los índices internacionales es *Rev. TECNOCENCIA CHIH*.

**Tablas, figuras y ecuaciones**, las tablas y figuras deben enviarse en un archivo adjunto al manuscrito; de preferencia en un archivo Word. O bien, crear un archivo comprimido (.zip o .rar) que contenga los archivos de tablas y figuras. Adicionalmente, las tablas y figuras del manuscrito, se colocarán dentro del texto principal en el lugar indicado por



los autores, con títulos en español e inglés. El título de la figura debe presentarse como Fig. 1. Título de la figura.

Es recomendable que las figuras se preparen con software específico. Tome en cuenta que el tamaño de las figuras se ajustará en el proceso de edición para ajustarse a los márgenes de impresión. Por ello, se recomienda hacer ejes, cuadros, etc., suficientemente grandes para que resulten legibles aún al reducir el tamaño. Las extensiones aceptables para las figuras son JEPG y TIF, considerando las siguientes características de calidad (en puntos por pulgadas):

- 300 ppp para imágenes a escala de grises o color.
- 600 ppp para combinaciones imagen texto.
- 1,200 ppp para imágenes a línea.

Las tablas deben presentar tres bordes horizontales completos (en la fila de encabezados y al final), cualquier otro borde horizontal debe ser parcial, no deben tener bordes verticales y no se aceptarán en forma de imágenes.

Las ecuaciones deben estar escritas con un editor de ecuaciones y deben aparecer en el manuscrito numeradas con el formato de número arábigo. Las ecuaciones insertadas como imágenes no son aceptables.

En el texto del manuscrito, al referirse a una ecuación debe escribirse de la siguiente manera: Ec. (1) o bien Ecs. (1) -(4), al referirse a una figura, seguir la misma regla, por ejemplo: Fig. 1, o bien Figs. (1) -(5) y al referirse a una tabla, por ejemplo: Tabla 1 o bien Tablas (1) -(3).

### **Figuras y cuadros (versión para producción)**

Las figuras y gráficos deben proporcionarse en el texto principal y numerarse consecutivamente con números arábigos y sus subtítulos respectivos deben incluirse dentro del texto principal en el lugar indicado por los autores.

Cuando se incluyan figuras que contengan fotografías o micrografías, asegurarse que sean de alta resolución para que cada foto tenga al menos 300 ppp para imágenes a escala de grises o color. Todas las fotografías deben contener el nombre del autor.

### **Tablas (versión para producción)**

Las tablas deben proporcionarse en el texto principal y como archivo adjunto, y numerarse con números arábigos. Deben estar incrustados en el texto del manuscrito, en el lugar indicado por el autor. Las tablas deben prepararse con Microsoft Word® 2007 o posterior; no deben importarse de Excel® o Powerpoint®, y deben:

- a) Tener un número y un título (en inglés y en español)
- b) Sea auto-explicable

- c) Tener los dígitos significativos con la desviación estándar definidos de acuerdo con el criterio estadístico
- d) Mostrar datos que no se muestran en los gráficos
- e) Tener el formato más simple posible; no está permitido el uso de sombras, color o filas verticales y diagonales
- f) Solo tienen letras minúsculas en el superíndice que indiquen notas al pie de tabla (abreviaturas, unidades, diferencias estadísticas, etc.). Un ejemplo de tabla se muestra en los formatos de "[Plantillas de artículos](#)"

**Abreviaturas**, los nombres científicos se escribirán en cursivas, el género de la especie podrá abreviarse después de que se mencione por primera ocasión en el texto. Las unidades de cualquier dato científico o de laboratorio deberán seguir el sistema internacional de medidas y usar las abreviaturas o símbolos recomendados por las normas internacionales. No deberá usarse punto en las abreviaciones Ej.: kg (NO kg.). Se utilizará espacio entre la cantidad y la unidad o símbolo Ej. 8 cm, 100 %. Las notas a pie de página deberán ser evitadas.

**Material adicional**, si los autores lo desean, pueden proporcionar material adicional o complementario como soporte al artículo (texto, tablas, figuras o multimedia), el cual estará disponible en la página web de la revista una vez que sea publicado. Si el manuscrito ha sido aceptado, también se le solicitará al autor un resumen gráfico y los puntos relevantes del trabajo. El resumen gráfico debe describir en forma general el contenido del artículo, este resumen debe tener las siguientes características: archivo editable en diapositiva de Powerpoint, NO usar datos, tablas o figuras contenidos en el artículo, contener figuras libres de restricciones de derechos de autor, debe incluir un resumen que incluya de dos a tres enunciados donde se describe los antecedentes, como fue realizado el trabajo y los principales resultados. Los puntos relevantes del trabajo, deberán ser cuatro aspectos alcanzados, presentados en forma de enunciado con un máximo de 80 caracteres con espacios.

## Los archivos que el autor deberá preparar para el envío serán:

### ([Formatos](#))

El texto principal del manuscrito debe presentarse de la siguiente manera:

#### 1) El manuscrito en Word para producción

Este archivo, corresponde a las "[Plantillas de artículos](#)" presentadas en esta guía de autores, cuyas características de formato se muestran a continuación.

- Formato Microsoft Word® 2007 (o posterior)
- 10 puntos Palatino Linotype
- Espaciado especificado en la plantilla

- Texto completo del manuscrito (extensión de acuerdo al tipo de manuscrito)
- Las figuras, cuadros, tablas, ecuaciones y sus respectivos títulos deben estar incorporados en el texto principal en el lugar indicado por los autores
- Las páginas deben estar numeradas secuencialmente
- La carta de presentación debe presentarse por separado
- La página principal debe incluir los nombres e instituciones de los autores
- El archivo deberá llamarse “**Apellidos autor producción**”.doc.

## 2) En el manuscrito en Word para revisión

Este archivo es una copia del **manuscrito en Word para producción** pero se editará **sin** los nombres de los autores e Instituciones para enviar este archivo cegado a revisión con los árbitros.

Este archivo deberá ser nombrado “**Apellidos de autor revisión**”.doc: versión para evaluación del revisor. Las características de formato incluyen las siguientes especificaciones:

- Las líneas del texto al igual que las páginas deben estar numeradas secuencialmente
- **No debe incluir** los nombres e instituciones de los autores ni en la página principal del manuscrito, ni en la información del archivo

## 3) Carta de presentación de artículo o autoría.

La carta de presentación del manuscrito ([Carta de presentación del artículo](#)) debe incluir la relevancia e importancia del trabajo (un breve texto que describa la relevancia del trabajo de investigación o artículo de revisión de manera concisa (con no más de 100 palabras). Además, incluirá la declaratoria de que el documento presentado no ha sido publicado (parcial o totalmente) ni ha sido sometido a arbitraje simultáneamente en otra revista. Haciendo constar que cuenta con la aprobación para su publicación por los autores y coautores.

**4) Los archivos de Tablas y Figuras para producción** (especificaciones que se describen en la **sección de Tablas, figuras y ecuaciones** en esta guía)

**5) Resumen gráfico** (características descritas en la **sección de Material adicional** en esta guía)

Después de verificar el estilo de formato (acorde a la plantilla y especificaciones en esta guía de autores) y crear los archivos de acuerdo a las especificaciones presentadas, continúe con el envío en línea.

¿No está registrado? [Regístrese aquí](#)

¿Ya está registrado? [Ingrese aquí](#)

Una vez registrado en la plataforma de la revista, entrar y dar clic en 'Nuevo envío', después seguir las instrucciones y completar cada una de las 5 pestañas del envío.



**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

Dirección de  
**Investigación y Posgrado**



**FACULTAD DE MEDICINA Y  
CIENCIAS BIOMÉDICAS. UACH.**

**TECNOCIENCIA CHIHUAHUA**  
Revista de ciencia y tecnología





**UACH**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

Dirección de  
**Investigación y Posgrado**



**LA MEDICINA SUSTENTO DE LA VIDA Y VENCEDORA DE LA MUERTE**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y CIENCIAS BIOMÉDICAS. UACH.**  
**AUTOR: MIGUEL VALVERDE CASTILLO**

**TECNOCENCIA CHIHUAHUA**  
Revista de ciencia y tecnología