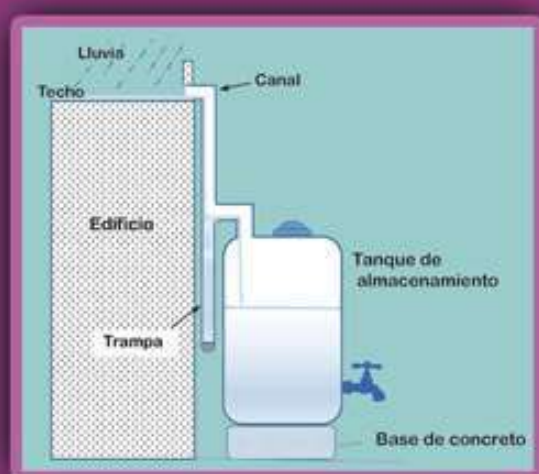


# TECNOCIENCIA Chihuahua

Revista arbitrada de ciencia, tecnología y humanidades  
Universidad Autónoma de Chihuahua



Captación pluvial en Chihuahua:  
una alternativa sustentable



Aspectos relevantes sobre la bioquímica  
y la fisiología del hierro en plantas



Técnicas serológicas y moleculares utilizadas para la identificación  
y caracterización de *Beet curly top virus*



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
**CHIHUAHUA**

M.C. JESÚS ENRIQUE SEÁÑEZ SÁENZ  
*Rector*

M.D. SAÚL ARNULFO MARTÍNEZ CAMPOS  
*Secretario General*

LIC. SERGIO REAZA ESCÁRCEGA  
*Director de Extensión y Difusión Cultural*

DR. ROSENDO MARIO MALDONADO ESTRADA  
*Director de Planeación y Desarrollo Institucional*

DR. ALEJANDRO CHÁVEZ GUERRERO  
*Director Académico*

M.C. JAVIER MARTÍNEZ NEVÁREZ  
*Director de Investigación y Posgrado*

M.A.R.H. HORACIO JURADO MEDINA  
*Director Administrativo*

**TECNOCIENCIA**  
Chihuahua

**Comité Editorial Interno**

DR. CÉSAR HUMBERTO RIVERA FIGUEROA  
*Editor en Jefe*

M.S.I. IVÁN DAVID PICAZO ZAMARRIPA  
*Coordinador editorial*

M.E.S. NANCY KARINA VENEGAS HERNÁNDEZ  
*Asistente editorial - Abstracts*

**Editores Asociados**

DRA. ALMA DELIA ALARCÓN ROJO  
DRA. ANA CECILIA GONZÁLEZ FRANCO  
DR. OSCAR ALEJANDRO VIRAMONTES OLIVAS

DR. CARMELO PINEDO ÁLVAREZ  
DR. JAVIER TARANGO ORTIZ

DRA. LUZ HELENA SANÍN AGUIRRE  
DRA. MARÍA DE LOURDES VILLALBA

**Consejo Editorial Internacional**

DR. GUILLERMO FUENTES DÁVILA  
*Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México*

DR. VÍCTOR ARTURO GONZÁLEZ HERNÁNDEZ  
*Colegio de Posgraduados, México*

DR. JOHN G. MEXAL  
*New Mexico State University, Estados Unidos de América*

DR. ULISES DE JESÚS GALLARDO PÉREZ  
*Instituto de Angiología y Cirugía Vascular, La Habana, Cuba*

DR. HUMBERTO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ  
*Universidad Autónoma de Nuevo León, México*

DRA. ELIZABETH CARVAJAL MILLÁN  
*Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., México*

DR. ALBERTO J. SÁNCHEZ MARTÍNEZ  
*Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México*

DR. LUIS RAÚL TOVAR GÁLVEZ  
*Instituto Politécnico Nacional, México*

DR. LUIS FERNANDO PLENGE TELLECHEA  
*Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México*

DR. HÉCTOR OSBALDO RUBIO ARIAS  
*Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México*

DRA. ANGELA BEESLEY  
*University of Manchester, Reino Unido*

DR. LUIS ALBERTO MONTERO CABRERA  
*Universidad de La Habana, Cuba*

DR. RICARD GARCÍA VALLS  
*Universitat Rovira I Virgili, España*

DR. LUIZ CLOVIS BELARMINO  
*Faculdade Atlantico Sul, Brasil*

TECNOCIENCIA-Chihuahua. Revista arbitrada de ciencia, tecnología y humanidades. Volumen VIII, Número 1, Enero-Abril 2014. Publicación cuatrimestral de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Editor en Jefe: Dr. César Humberto Rivera Figueroa. ISSN: 1870-6606. Número de Reserva al Título en Derecho de Autor: 04-2007-0326610180900-102. Número de Certificado de Licitud de Título: 13868. Número de Certificado de Licitud de Contenido: 11441. Clave de registro postal PP08-0010. Domicilio de la publicación: Edificio de la Dirección de Investigación y Posgrado, Ciudad Universitaria s/n, Campus Universitario I, C.P. 31170, Chihuahua, Chihuahua, México. Oficina responsable de la circulación: Dirección de Investigación y Posgrado, Ciudad Universitaria, Campus Universitario I, C.P. 31170. Imprenta: Impresora Standar, Ernesto Talavera No. 1207, Teléfono 416-7845, Chihuahua, Chih. Tiraje: 1,000 ejemplares.

Precio por ejemplar en Chihuahua: \$ 60.00 Costo de la suscripción anual: México, \$ 200 (pesos); EUA y América Latina, \$ 35 (dólares); Europa y otros continentes, \$ 40 (dólares). La responsabilidad del contenido de los artículos firmados es de sus autores y colaboradores. Puede reproducirse total o parcialmente cada artículo citando la fuente y cuando no sea con fines de lucro.

Teléfono: (614) 439-1500 (extensión 2214); fax: (614) 439-1500 (extensión 2209), e-mail: tecnociencia.chihuahua@uach.mx

Página web: <http://tecnociencia.uach.mx>

## Contenido

Definición de la revista	I	
Editorial	II	
El científico frente a la sociedad		
Captación pluvial en Chihuahua: una alternativa sustentable		Aspectos relevantes sobre la bioquímica y la fisiología del hierro en plantas
<i>Mélida Gutiérrez</i> <i>Héctor O. Rubio-Arias</i>	1	<i>Jaime Miguel Ortega-Maldonado</i> <i>Dámaris Leopoldina Ojeda-Barrios</i> <i>Jaime Javier Martínez-Téllez</i> <i>Adriana Hernández-Rodríguez</i> <i>Teresita de Jesús Ruiz-Anchondo</i> <i>Dalila Jacqueline Escudero-Almanza</i>
Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable		30
Técnicas serológicas y moleculares utilizadas para la identificación y caracterización de <i>Beet curly top virus</i>		Servicios ambientales de árboles: énfasis en la industria del nogal pecanero
<i>Loreto Robles-Hernández</i> <i>Luis Carlos Chavira-Sáenz</i> <i>María Teresa Sáenz-Gutiérrez</i> <i>Ana Cecilia González-Franco</i>	7	<i>J.G. Mexall</i> <i>E. Herrera</i>
Las proteínas DING, una familia con intrigantes funciones celulares		39
<i>Ligia Brito-Argáez</i> <i>Martha Chí-Poot</i> <i>Rita Uc-Ku</i> <i>José Aarón Tamayo-Sansores</i> <i>Dianeli Madera-Piña</i> <i>Ignacio Islas-Flores</i>	17	Ingeniería y Tecnología
		Comportamiento en vibraciones longitudinales y transversales de vigas de madera antigua de <i>Picea abies</i>
		<i>Javier Ramón Sotomayor-Castellanos</i>
		46

## Definición de la Revista *TECNOCENCIA Chihuahua*

TECNOCENCIA Chihuahua es una publicación científica arbitrada de la Universidad Autónoma de Chihuahua, fundada en el año 2007 y editada de forma cuatrimestral. Está incluida en los siguientes índices y directorios:

- LATINDEX, Catálogo de revistas científicas de México e Iberoamérica que cumplen con criterios internacionales de calidad editorial.
- PERIODICA, la base de datos bibliográfica de la UNAM de revistas de América Latina y el Caribe, especializadas en ciencia y tecnología.
- CLASE, la base de datos bibliográfica de la UNAM de revistas de América Latina y el Caribe, especializadas en ciencias sociales y humanidades

### Objetivos

Servir como un medio para la publicación de los resultados de la investigación, ya sea en forma de escritos científicos o bien como informes sobre productos generados y patentes, manuales sobre desarrollo tecnológico, descubrimientos y todo aquello que pueda ser de interés para la comunidad científica y la sociedad en general. También pretende establecer una relación más estrecha con su entorno social, para atender a la demanda de los problemas que afectan a la sociedad, expresando su opinión y ofreciendo soluciones ante dicha problemática.

La revista *TECNOCENCIA Chihuahua* se publica cuatrimestralmente para divulgar los resultados de la investigación en forma de avances científicos, desa-

rollo tecnológico e información sobre nuevos productos y patentes. La publicación cubre las siguientes áreas temáticas: Alimentos, Salud y Deporte, Ingeniería y Tecnología, Educación y Humanidades, Economía y Administración, Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable, Creatividad y Desarrollo Tecnológico.

### Visión

Mejorar de manera continua la calidad del arbitraje de los artículos publicados en la revista, proceso que se realiza en forma anónima bajo el sistema de doble ciego. Conformar el Consejo Editorial Internacional y cada Comité Editorial por área del conocimiento de la revista, incorporando como revisores a investigadores del país y del extranjero adscritos a instituciones de Educación Superior y Centros de Investigación, que son reconocidos como académicos y científicos especializados en su campo.

### Tipos de escritos científicos

En la revista se publican las siguientes clases de escritos originales: artículos científicos en extenso, notas científicas, ensayos científicos y artículos de revisión.

### A quién se dirige

A científicos, académicos, tecnólogos, profesionistas, estudiantes y empresarios.

# Editorial

**E**n el actual fascículo se desarrolla la interesante propuesta de captación de agua de lluvia a pequeña escala en zonas urbanas, como una alternativa sustentable para zonas áridas y semiáridas como el estado de Chihuahua. En el artículo "*Captación pluvial en Chihuahua: una alternativa sustentable*", los autores describen metodologías para captación de agua de lluvia que cae en techos de casas y edificios, o sobre el suelo para depósitos en el subsuelo y jardines pluviales.

Se presenta el artículo de revisión "*Técnicas serológicas y moleculares utilizadas para la identificación y caracterización de Beet curly top virus*" en el cual los autores enfatizan en las técnicas serológicas y moleculares para la identificación de este virus, así como en los métodos de clonación, secuenciación y análisis filogenético para su caracterización. Constituye información valiosa para los investigadores interesados en el tema, así como para el manejo de enfermedades causadas por las cepas de este virus en cultivos hortícolas como chile, frijol y tomate.

Las proteínas DING tienen funciones biológicas controversiales y por ello están siendo objeto de intensa investigación. En el presente fascículo, los autores del artículo de revisión "*Las proteínas DING, una familia con intrigantes funciones celulares*" detallan los últimos hallazgos sobre estas proteínas, que se han asociado con la aparición de enfermedades como el cáncer de mama y la caquexia, pero también con la protección contra la arterioesclerosis y la litiasis. La evidencia biológica muestra que el mecanismo de acción de las proteínas DING puede ser variado y el resultado contrastante.

En la sección Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable, los autores del artículo "*Aspectos relevantes sobre la bioquímica y la fisiología del hierro en plantas*", resaltan que la presencia de suelos calcáreos provoca la deficiencia de Hierro (Fe) en las

plantas, provocando un mal funcionamiento, lo cual constituye una problemática que afecta el rendimiento y la calidad de diversos cultivos. Se ponen a consideración, de forma detallada, aspectos relevantes sobre la bioquímica y fisiología de las plantas.

También en esta sección, incluimos el artículo "*Servicios ambientales de árboles: énfasis en la industria del nogal pecanero*", donde los autores afirman que los servicios ambientales del nogal, como la mejoría de los suelos y producción de oxígeno, así como los beneficios sociológicos para la comunidad, son factores que sin duda exceden el valor de este importante cultivo en el norte de México y sur de los Estados Unidos.

Por último, en este fascículo incluimos el artículo "*Comportamiento en vibraciones longitudinales y transversales de vigas de madera antigua de Picea abies*", en el cual los autores evalúan el comportamiento dinámico de la madera de *Picea abies* con pruebas de vibraciones longitudinales y transversales en vigas con una antigüedad de cien años. Se concluye que las vigas antiguas tienen propiedades mecánicas similares a las de madera recientemente cortada. Estos parámetros pueden servir como referencia para el análisis estructural de elementos de madera presentes en edificaciones antiguas.

M.S.I. IVÁN DAVID PICAZO ZAMARRIPA  
COORDINADOR EDITORIAL

# Captación pluvial en Chihuahua: una alternativa sustentable

## Rainwater harvesting in the state of Chihuahua: a sustainable alternative

MÉLIDA GUTIÉRREZ<sup>1,3</sup> Y HÉCTOR O. RUBIO ARIAS<sup>2</sup>

### Resumen

La captación de agua de lluvia a pequeña escala se presenta como una alternativa sustentable para zonas áridas y semiáridas. El estado de Chihuahua, en el norte de México, presenta más de la mitad de su territorio como un ecosistema árido o semiárido. El objetivo de esta publicación es dar a conocer y, en su caso, sugerir la práctica de captación pluvial con énfasis en zonas urbanas del estado de Chihuahua, especificando una metodología fácil y barata. Las metodologías incluyen la captación del agua que cae en techos de casas y edificios para su posterior almacenamiento en depósitos, ya sea sobre el suelo, depósitos en el subsuelo (cisternas o aljibes), y jardines pluviales. El agua almacenada en un depósito se podrá utilizar por gravedad, mientras que el agua en una cisterna o aljibe necesitará de bombeo.

**Palabras clave:** captación pluvial, sustentable, Chihuahua, semiárido, jardín pluvial.

### Abstract

Rainwater harvesting methods for small-scale operations are presented as a sustainable alternative to water conservation in the arid and semiarid regions of the state of Chihuahua. More than half of surface area the state of Chihuahua is arid or semiarid. The objective of this paper is to list and, in accordance to specific needs, suggest rain harvesting methods that are inexpensive and easy to maintain and that can be utilized in urban areas of the state of Chihuahua. These methods include the collection of rain water from the roof in either barrels or cisterns, as well as rain gardens. In rain barrels, the water is withdrawn by gravity, while a pump is required for cisterns.

**Keywords:** rainwater harvesting, sustainable, Chihuahua, semiarid, rain garden.

### Introducción

Cuando se habla de captación de lluvia, generalmente el término se relaciona con un lago artificial o se identifica con la construcción de una presa, ya que este ha sido el método convencional de captación de agua implementado a través de la historia. En el caso particular de México, existen más de 4,462 presas que tienen como propósito captar el agua de lluvia; de este total, 667 se encuentran clasificadas como grandes y, 100 de ellas, son consideradas como las más importantes en función de su capacidad de almacenamiento (CNA, 2012). En el caso particular del estado de Chihuahua, se tienen 10 presas; donde el Lago Toronto mejor conocida como "Presa la Boquilla", es la más grande del estado, con una capacidad de 2,894 hm<sup>3</sup> y es considerada como de los embalses más importantes en el norte del país (CNA, 2010).

<sup>1</sup> Missouri State University. Department of Geography, Geology and Planning. 901 S. National Ave., Springfield, MO, EUA. 65897.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia y Ecología. Perif. Francisco R. Almada, Km. 1, Chihuahua, Chih., Mexico. 31453.

<sup>3</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: mgutierrez@missouristate.edu.

Para el caso particular de zonas áridas y semiáridas, el método de captación de agua en presas es ineficiente debido a las altas pérdidas por evaporación. Por ejemplo, en el desierto de Chihuahua la tasa de evaporación es ocho veces la de precipitación, lo que se traduce en una pérdida por evaporación del orden de una tercera parte del agua recolectada por presas (Herting *et al.*, 2004). A pesar de la baja disponibilidad de agua en el estado de Chihuahua, en la parte semiárida se concentra la mayor parte de la población (INEGI, 2012), así como actividades industriales, comerciales y de producción agropecuaria. Como consecuencia, la demanda de agua se ha incrementado en la medida en que se desarrollan las comunidades y los sectores productivos, lo que ha ocasionado un déficit debido a la diferencia entre lo que se utiliza y lo que la naturaleza puede proveer. Este déficit se manifiesta en el abatimiento de pozos (ACUM5, 2012; INEGI, 1999), la contaminación de cuerpos de agua (Rubio-Arias *et al.*, 2011; Rubio-Arias *et al.*, 2012) y el incremento en la salinidad de agua y suelos (Gutiérrez y Carreón, 2004). Esta situación, evidentemente crítica y no sostenible, exige esfuerzos de todos los sectores, y no únicamente de las dependencias gubernamentales.

Una solución sustentable sería preservar un balance entre la cantidad de agua utilizada por el hombre con la cantidad disponible aportada por la naturaleza. Este balance se podría lograr con la implementación de las siguientes acciones: 1) regulando la cantidad de agua extraída de los acuíferos; 2) reciclando agua tratada; 3) utilizando métodos de irrigación eficientes y, 4) aumentando la captación y conservación del agua, entre otras. En especial, la acción 3 es fundamental cuando se analiza que alrededor de un 80% del agua superficial y subterránea es utilizada por los sectores agrícola y pecuario (CNA, 2006; Murad, 2010; ACUM5, 2012). En otras palabras, cualquier medida de eficiencia en este sector tendría como resultado grandes ahorros de agua.

El sector industrial se ha concentrado en las zonas urbanas y las medidas de conservación han girado alrededor del reuso del agua. Por ejemplo, para las cuatro cuencas que conforman el área de la ciudad de Chihuahua, se reporta que del total de precipitación

(100%), alrededor de un 40% se pierde por escorrentías y únicamente el 3% se retiene en presas (IMPLAN, 2006). El resto del recurso se evapora o se infiltra. Desde 2004 la ciudad de Chihuahua cuenta con un sistema de reciclaje de agua (Espino *et al.*, 2004) que se ha estado utilizando para regar áreas verdes como parques y áreas deportivas. Otras ciudades en el estado han iniciado acciones similares para el reuso de aguas tratadas (aguas grises) y se espera que más agua pueda ser reutilizada en un futuro próximo.

Es importante mencionar que a pesar de los destacados esfuerzos por parte de los sectores agrícolas e industrial, no se ha alcanzado la sustentabilidad en el suministro de agua. Obviamente, es necesario desarrollar más y mejores acciones, así como buscar otros métodos que hasta la fecha no han sido debidamente aprovechados; por ejemplo, la tecnología de captación pluvial a pequeña escala. Este tipo de tecnologías son por lo general de fácil instalación y mantenimiento. Su implementación permite el almacenamiento de agua de lluvia en cisternas o barriles, o bien, directamente al acuífero por medio de jardines pluviales, identificándose desde sistemas simples hasta muy complejos. Estas tecnologías llamadas «verdes» han ganado popularidad a nivel mundial en años recientes, ya que pueden contribuir a cosechar una cantidad considerable de agua limpia, además de que reducen picos hidrográficos y recargan los acuíferos. El objetivo de este análisis es la descripción de esta tecnología en su forma más simple. Se espera que esta información contribuya a divulgar un método sencillo y sustentable para resolver o mitigar el problema de carencia de agua limpia, en especial para zonas urbanas en zonas áridas y semiáridas como es el caso de las comunidades del norte de México.

## La disponibilidad del recurso agua

A pesar de que el agua es uno de los recursos naturales más abundantes en el planeta, su disponibilidad para el hombre apenas alcanza el 0.62%. Este porcentaje representa el agua que se localiza en lagos, ríos y agua subterránea. Este bajo porcentaje se explica por el hecho de que alrededor del 97% del agua en el planeta se encuentra en los mares, o bien, en diversas masas salinas que no están

disponibles en forma inmediata para uso humano. El resto se encuentra en estado sólido, por lo que se considera prácticamente inaccesible para el hombre. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación ha estimado que alrededor del 40% de la población mundial sufre por carencia de agua; una prognosis para el año 2025 específica que 1,800 millones de personas vivirán en regiones con escasez de este recurso (FAO, 2007).

En el caso particular de México, la disponibilidad del recurso agua es altamente contrastante; la región del sureste recibe alrededor del 70% de lluvias y escasamente concentra el 24% de la población, mientras que en el norte y altiplano se recibe solamente el 9% del agua de lluvia, pero en esta región se concentra más del 75% de la población mexicana. El estado de Chihuahua recibe una precipitación media anual de 448 mm, aunque en aproximadamente el 60% del territorio llueve menos de 350 mm anuales (CNA, 1997). La precipitación es muy variable, en algunos años se presentan lluvias abundantes y en otros años lluvias escasas. El problema de suministro de agua en este estado se acentúa debido a la presencia de sequías que en ocasiones pueden ser severas. Resulta claro que, en años de sequía, la disponibilidad del agua se reduce a niveles alarmantes, afectando las actividades normales e, inclusive, impactando el escurrimiento hacia las partes bajas de la región hidrológica Río Bravo/Río Grande. En este estado, debido a su localización geográfica, un evento de sequía también puede repercutir en el ámbito de la política internacional, toda vez que se tienen tratados internacionales de agua entre México y los Estados Unidos de América. Por ejemplo, el tratado internacional de aguas de 1994, donde se señala que México deberá entregar anualmente la cantidad de 432 Mm<sup>3</sup> de agua a Estados Unidos; de esta cantidad, el Río Conchos deberá aportar la cantidad de 234 Mm<sup>3</sup> anuales (CNA, 1997).

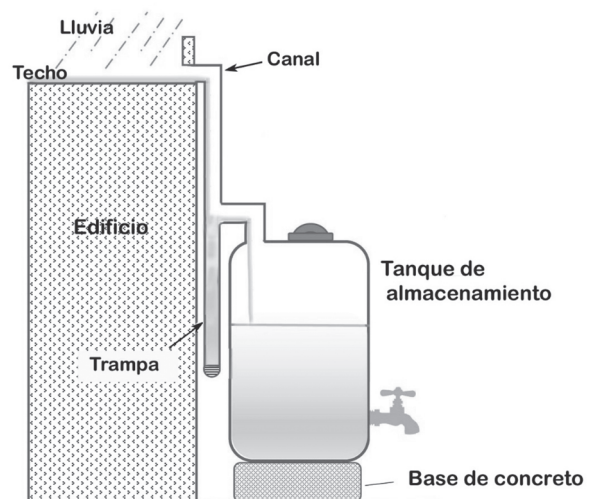
### Captación pluvial en tanques de almacenamiento

La captación de agua de lluvia es una técnica muy antigua, donde el agua cosechada se almacena en aljibes o cisternas. Esta agua puede ser utilizada posteriormente para el suministro de una familia, o bien, para toda una ciudad. Algunos antecedentes de

la implementación de estas tecnologías son consideradas a la fecha como joyas arquitectónicas; por ejemplo, la cisterna en la Basílica en Turquía, la cisterna en El\_Jadida en Marruecos y Los Chultunes en Yucatán, México.

En sistemas de menor escala, la lluvia se recolecta en los techos por dos razones; la primera es que no se requiere de bombeo o energía adicional, ya que el agua es captada por gravedad. La segunda razón es que los techos generalmente se encuentran limpios; aunque son acumuladores contaminantes como polvo y heces de aves, por lo que se requiere considerar la eliminación del agua que se capta en los primeros minutos de un evento de precipitación mediante la utilización de algún tipo de trampa. La trampa puede ser un tubo de PVC de aproximadamente 1 m de largo con un tapón de rosca en su extremo inferior (Figura 1). De esta manera, los primeros minutos de lluvia se recolectan en la trampa desviando el agua captada subsecuentemente hacia el tanque de almacenamiento. Una segunda alternativa sería la utilización de un filtro antes de que el agua sea almacenada en el tanque respectivo. Luego, el agua de lluvia se captaría en un dispositivo (barril, cisterna, aljibe) como se muestra en la Figura 2.

Figura 1. Esquema de diseño de la trampa en un sistema de captación de agua de lluvia en un tanque de almacenamiento sobre el suelo.



El proceso completo de captación de agua en estos sistemas consiste de tres pasos. El primero es la recolección, el segundo el almacenamiento y el tercero es el suministro. Según el diseño, pueden



existir pasos adicionales de tratamiento en los pasos 1-3 por medio de filtración y asegurando que animales u objetos extraños no tengan acceso al tanque de almacenamiento. El depósito puede estar sobre el suelo (Figura 1) o bien en el subsuelo. La ventaja de estar sobre el suelo es que no hay necesidad de utilizar una bomba para su extracción, mientras que un tanque enterrado sí requeriría la utilización de una bomba, aunque es más estético. Para el caso particular de zonas rurales existe la opción de usar el agua captada para recarga del acuífero en vez de almacenarla en un tanque.

**Figura 2.** Captación pluvial en tanques de almacenamiento (diseño <http://www.greenplanhomes.com/>, reproducido con permiso).



### Jardines pluviales

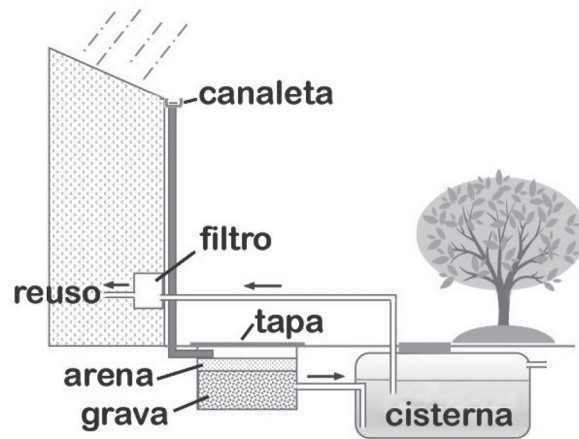
Una modalidad de captación pluvial consiste en los llamados jardines de lluvia, los cuales son pequeñas áreas verdes instaladas en lugares estratégicos. Una vez identificado el lugar hacia donde fluyen las escorrentías, la construcción es muy sencilla y consiste en donde hacer un hoyo o zanja y rellenarlo de grava en el fondo, y una capa de tierra arriba donde se plantan arbustos o plantas ornamentales. Un creativo diseño con plantas vistosas y piedras pueden hacer de éste un bello jardín (Figura 4). Estos jardines contribuyen de forma importante a regular las escorrentías y a filtrar contaminantes, además de promover la infiltración al acuífero y reducir la erosión.

### ¿Qué tanta agua se puede cosechar?

El agua captada por estos sistemas es una cantidad modesta, representa un máximo de aproximadamente el 10 a 15% del agua que se consume en un hogar promedio. No obstante, tiene

un valor agregado por los beneficios adicionales, como la producción de áreas verdes, sombra, y recarga al acuífero en el caso de jardines pluviales, y la reducción de picos hidrográficos, en el caso de la captación por techos. Para ciudades del norte de México, y según datos obtenidos del Servicio Meteorológico Nacional, se estima una cantidad aproximada de 386 litros por m<sup>2</sup> por año (Cuadro 1). Un país con larga historia de captura pluvial en techos es Bermudas, el cual es una isla donde la lluvia es la fuente principal de agua dulce. Es importante mencionar que en Bermudas, la captación pluvial por edificio es obligatoria para todos los edificios, así como para casas-habitación, edificios comerciales, hospitales, etc. Por ley, cada techo debe captar el 80% del agua de lluvia; de esta manera, la captación pluvial provee alrededor de 56% del agua que se consume en la isla (BDAGOV, 2013).

**Figura 3.** Esquema de un sistema de captación de agua de lluvia en tanque enterrado. El agua pasa por un filtro de arena previo a su almacenamiento en la cisterna.



**Figura 4.** Jardín pluvial en área urbana (foto: epa.gov).



No toda la superficie se considera como área efectiva de captación. Existe lo que se conoce como factor o porcentaje de escurrimiento, que se estima en aproximadamente 0.85. A la fecha se cuenta con una gran variedad de manuales y compañías que proveen el servicio de diseño y construcción de estos sistemas.

**Cuadro 1.** Precipitación promedio para algunas ciudades del norte de México, de acuerdo al Servicio Meteorológico Nacional

Ciudad	Precipitación (litros/m <sup>2</sup> /año)
Chihuahua	385.7
Saltillo	432.4
San Luis Potosí	367.4
Culiacán	690.1
Hermosillo	287.7

## Proyección a futuro


El aumento y el dinamismo en la población sugieren sin duda una tendencia a corto plazo hacia una mayor demanda de agua potable. Esta tendencia tiende a incrementarse debido a la escasez por contaminación, ya que aunque exista agua, si se encuentra contaminada y no se puede utilizar para los usos requeridos, su empleo estaría limitado. Sin embargo, este análisis asume que continuará operando la misma cultura del agua que se ha practicado en los últimos 50 años. Si en cambio se produce un giro hacia la sustentabilidad, estas proyecciones cambiarían a un panorama más favorable, ya que cualquier paso hacia la sustentabilidad traería consigo efectos positivos para el entorno. Por ejemplo, sería interesante cuantificar qué tanto las áreas verdes regadas con agua tratada han ayudado a incrementar la infiltración y reducido la evapotranspiración (Litvak *et al.*, 2013).

Otro factor a considerar en el futuro del recurso es el fenómeno del calentamiento global. Aunque se ha sugerido que este fenómeno producirá eventos

de precipitación más intensos y más esporádicos, estudios recientes para la zona desértica de Norteamérica reportaron que dichos efectos no serán de gran magnitud, resultando en precipitaciones de la misma intensidad promedio (Brutsaert, 2012). Otro aspecto sumamente importante para la implementación de estas tecnologías es la educación ambiental en la conservación y uso del agua. Los sistemas de conservación urgen a los ciudadanos a cuidar el recurso haciéndolos partícipes de acciones donde el agua no se desperdicie, ni se tire, y se minimice el efecto de evaporación, lo que en sí es un paso adelante hacia una educación ambiental. De hecho, la concientización sobre los beneficios de captación de agua de lluvia es el paso más difícil de dar. Por ejemplo, en la ciudad de Chennai, India, el acuífero se había deteriorado rápidamente y se contempló la recarga pluvial como una solución al problema. Los ciudadanos se mostraron apáticos en un principio, a pesar de una intensa campaña de anuncios en periódicos, radio y folletos. Después de tres años de campaña continua, los sistemas de captación empezaron a ser aceptados (Raghavan, 2004).

## Literatura citada

- ASOCIACIÓN CIVIL DE USUARIOS, UNIDAD DE RIEGO MODULO 05 (ACUM5). 2012. Agua en Chihuahua: Sustentabilidad en riesgo. Simposio El Agua en Chihuahua. Reporte disponible en <http://www.modulo05.com/simposium.html>
- BERMUDA GOVERNMENT (BDAGOV). 2013. Bermuda's Water Supply Report Part I. [http://judiciary.gov.bm/portal\\_server.pt?in\\_hi\\_space=SearchResult&in\\_hi\\_control=bannerstart&in\\_hi\\_userid=2&in\\_se\\_sel\\_1=everything&in\\_tx\\_query=water+supply](http://judiciary.gov.bm/portal_server.pt?in_hi_space=SearchResult&in_hi_control=bannerstart&in_hi_userid=2&in_se_sel_1=everything&in_tx_query=water+supply), 36 p.
- BRUTSAERT, 2012. Are the North American deserts expanding? Some climate signals from groundwater storage conditions. *Ecology*, 5, 541-549.
- COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA (CNA). 2006. La gestión del agua en México. Avances y retos. Mexico, CONAGUA, 249 p.
- COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA (CNA). 1997. Programa Hidráulico Gran Visión del estado de Chihuahua 1996-2020. Gerencia Estatal Chihuahua-CONAGUA. México.
- COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA (CNA). 2012. Comisión Nacional del Agua. Atlas Digital del agua en México 2012. Sistema Nacional de Información del Agua. [www.conagua.gob.mx/atlas/usuariosdelagua33.html](http://www.conagua.gob.mx/atlas/usuariosdelagua33.html)
- ESPINO, M.S., C.J. Navarro, J.M. Perez. 2004. Chihuahua: a reuse case in the desert, *Water Science and Technology*, 50, 323-328.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). 2007. Afrontar la escasez del agua. *Claridades Agropecuarias* 166:37-39.
- GUTIÉRREZ, M. y E. Carreón. 2004. Salinidad en el bajo Río Conchos: aportes y tendencias. México. *Terra Latinoamericana* 22:499-506.
- HERTING, A., Farmer, T., and J. Evans. 2004. Mapping of the evaporative loss from Elephant Butte Reservoir using remote sensing and GIS Technology. New Mexico State University, CAGE Report. Available at <http://wrri.nmsu.edu/research/rfp/studentgrants03/reports/herting.pdf>

- INSTITUTO MUNICIPAL DE PLANEACIÓN CHIHUAHUA (IMPLAN), 2006. Plan sectorial de agua pluvial 2006. [www.implanchihuahua.gov.mx](http://www.implanchihuahua.gov.mx)
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, GEOGRAFÍA E INFORMÁTICA (INEGI). 1999. Estudio Hidrológico del Estado de Chihuahua. Aguascalientes, Ags., México. 222 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, GEOGRAFÍA E INFORMÁTICA (INEGI). 2012. Perspectiva Estadística Chihuahua, 93 p. [http://www.inegi.org.mx/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/estados/perse\\_estd/chi/Pers-chi.pdf](http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/estados/perse_estd/chi/Pers-chi.pdf)
- LITVAK, E., N.S. Bijoer and D E. Pataki, Adding trees to irrigated turfgrass lawns may be a water-saving measure in semi-arid environmentse. *Ecohydrology*, published online 2013.
- MURAD, A.A. An overview of conventional and non-conventional water resources in arid region; Assessment and constrains of the United Arab Emirates (UEA), Journal for Water Resource and Protection (JWARP). Scientific Research Publishing, Inc. 2010. HighBeam Research. Consultado el 14 de enero de 2014. [www.highbeam.com](http://www.highbeam.com)
- RAGHAVAN, S. 2004. Rainwater harvesting in urban areas: The Chennai experience. *AridLands Newsletter*, 56, 10 pp. <http://ag.arizona.edu/oals/ALN/aln56/raghavan.html>
- RUBIO-ARIAS, H., M. Contreras-Caraveo, R. M. Quintana, R. Saucedo-Terán y A. Pinales-Munguía. 2012. An overall water quality index (WQI) for a man-made aquatic reservoir in Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 9:1687-1698.
- RUBIO-ARIAS, H., N. I. Rey, R. M. Quintana, G. V. Nevarez y O. Palacios. 2011. Coliform and metal contamination in Lago de Colina, a recreational water body in Chihuahua State, Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8:2386-2400. 

Este artículo es citado así:

Gutiérrez, M., y H. O. Rubio-Arias. 2014: Captación pluvial en Chihuahua: una alternativa sustentable. *TECNOCENCIA Chihuahua* 8(1): 1-6.

## Resumen curricular del autor y coautor

**MÉLIDA GUTIÉRREZ.** obtuvo su grado de maestría en la Universidad de Karlsruhe, Alemania, en sistemas biológicos de tratamiento de agua en 1979, y posteriormente el doctorado en geohidrología en la Universidad de Texas en El Paso, de donde se graduó en 1992. Ha impartido clases en el Instituto Tecnológico de Monterrey-Campus Guaymas, la Universidad del Estado de Nuevo Mexico - Las Cruces, y durante los últimos veinte años, en la Universidad del Estado de Missouri, en Springfield, Missouri. Actualmente imparte los cursos de geología física, geología ambiental, y geoquímica. Su investigación se ha enfocado a la calidad del agua y geoquímica de interacciones entre roca y agua, especialmente los sistemas cársticos en el sur de Missouri y el río Conchos en Chihuahua. Su investigación en el río Conchos incluye, además de la química del agua y de sedimentos, la educación ambiental. Con este motivo viaja a Chihuahua con frecuencia y mantiene nexos de colaboración con colegas de instituciones educativas en el estado.

**HÉCTOR OSBALDO RUBIO ARIAS.** Terminó su programa Doctoral en New Mexico State University, en los Estados Unidos de América, en el año 1989. Fue Investigador Titular en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por 31 años, de donde se encuentra ya jubilado. Fue maestro invitado por el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV-CONACYT) desde el año 2004 hasta diciembre de 2012. En la actualidad es Profesor-Investigador de medio tiempo en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua y participa en tres líneas de investigación: mejoramiento y preservación de los recursos naturales; contaminación ambiental con énfasis en suelo y agua y; estadística aplicada a la conservación, mantenimiento y análisis de ecosistemas. El Dr. Rubio tiene cuatro libros publicados y aparece como co-autor en varios más. Tiene alrededor de 50 publicaciones internacionales y 30 nacionales. Es miembro del Comité Editorial de varias revistas tanto internacionales como nacionales así como revisor científico. Es evaluador en diversos fondos como en los fondos sectoriales de SAGARPA-CONACYT y CONAFOR-CONACYT. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores y aparece como experto en bioseguridad por la CONABIO. Fue galardonado con el premio rotario en ciencia y tecnología en 2009 y en 2010 recibió un trofeo en Jackson, Mississippi en los Estados Unidos por su actividad en el área de ciencia y tecnología. Durante los últimos cinco años, el Dr. Rubio ha ofrecido como ponente y/o instructor alrededor de 40 cursos de capacitación, incluidos en CASA-ANUIES y diversas universidades y centros de investigación. En los últimos tres años ha sido asesor de siete estudiantes de licenciatura, tres de maestría y dos de doctorado.

# Técnicas serológicas y moleculares utilizadas para la identificación y caracterización de *Beet curly top virus*

Serological and molecular techniques used for the identification and characterization of *Beet curly top virus*

LORETO ROBLES-HERNÁNDEZ<sup>1</sup>, LUIS CARLOS CHAVIRA-SÁENZ<sup>1</sup>, MARÍA TERESA SÁENZ-GUTIÉRREZ<sup>1</sup>  
Y ANA CECILIA GONZÁLEZ-FRANCO<sup>1,2</sup>

Recibido: Diciembre 20, 2012

Aceptado: Agosto 9, 2013

## Resumen

El *Beet curly top virus* pertenece al género *curtovirus*, dentro de la familia *Geminiviridae*; su genoma está constituido por una cadena sencilla de ADN cubierto por una cápside icosaédrica geminada. La organización de su genoma revela que el ADN de los *curtovirus* produce seis o siete proteínas. El producto del ORF V1 es la proteína de la cápside del virión, el del ORF V2 está involucrado en la regulación de los niveles de ADN genómico y el del ORF V3 facilita el movimiento de célula a célula. Las cuatro proteínas codificadas por los ORFs de sentido complementario están involucradas en la replicación del virus. ORF C1 codifica la proteína Rep, C3 una proteína análoga para la replicación de la proteína de los *begomovirus*, y la C4 es una proteína que puede iniciar la división celular; la función de la C2 es desconocida. Las especies de BCTV causan enfermedades en cultivos hortícolas como chile, frijol y tomate, los cuales son económica y socialmente importantes en el estado de Chihuahua; sin embargo, hay muy poca información de este virus en el estado, es por eso que en esta revisión enfatizamos en las técnicas serológicas y moleculares para la identificación del virus, así como en los métodos de clonación, secuenciación y análisis filogenético para su caracterización, con el fin de poner a disposición esta información para técnicos e investigadores interesados en estudios específicos del BCTV, así como en el manejo de las enfermedades causadas por las cepas de este virus.

**Palabras clave:** Curtovirus, Geminivirus, tipificación de BCTV, métodos de secuenciación, clonación, análisis filogenético.

## Abstract

*Beet curly top virus* belongs to the genus *Curtovirus*, within the family *Geminiviridae*; its genome is composed of a single stranded DNA covered with an icosahedral geminate capsid. The organization of its genome reveals that *Curtovirus* DNA produces six or seven proteins. The product of ORF V1 is the virion coat protein, that of ORF V2 is involved in regulation of the genomic DNA levels, and that of ORF V3 facilitates the cell-to-cell movement of the virus. The four proteins encoded by the complementary-sense ORFs are involved in virus replication. ORF C1 encodes the Rep protein, C3 a protein analogous to the replication enhancer protein of *begomovirus*, and C4 a protein that can initiate cell division; the function of C2 is unknown. The species of BCTV cause diseases in horticultural crops such as beans, pepper, and tomato that are economically and socially important in Chihuahua State. However, there is limited information about this virus in the State. Thus, in this review, we emphasize the serological and molecular methods for identification of this virus, as well as the clonation, sequencing, and phylogenetic analysis for its characterization with the objective of providing this information to technicians and researchers interested in specific studies of BCTV, as well as in the management of the diseases caused by strains of this virus.

**Keywords:** Curtovirus, Geminivirus, typing of BCTV, sequencing methods, clonation, phylogenetic analysis.

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Ciudad Universitaria S/N Campus 1, Chihuahua, Chih., México. 31310.

<sup>2</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: conzalez@uach.mx.

## Introducción

**E**l *Beet curly top virus* (BCTV) causa enfermedades en cerca de 300 especies de plantas, entre las que se incluyen hortalizas, plantas ornamentales y malezas; las hortalizas más susceptibles son chile verde, tomate, espinacas, betabel y frijol (Bajili *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2011).

Existen pocos trabajos sobre el BCTV en México. Velásquez y Medina (2008) reportaron la especie *Beet mild curly top virus* (BMCTV) en el cultivo de chile en los estados de Zacatecas y Aguascalientes. En Chihuahua se reportó la especie *Beet severe curly top virus* en cultivos de chile, con una incidencia de 11.7% registrado para la región centro sur del estado (Robles-Hernandez *et al.*, 2011). Sin embargo, se desconoce si estas cepas son nativas o introducidas de otros países. Es por eso que en este trabajo se presentan detalladamente las técnicas serológicas y moleculares que se emplean para la identificación de especies de BCTV, así como los métodos más recientes de secuenciación y análisis filogenético de estas cepas de virus, con el fin de contar con una panorámica general de las herramientas con potencial para iniciar trabajos de investigación que permitan construir una caracterización completa de las cepas de virus reportadas en el estado de Chihuahua, y llevar a cabo un mejor manejo de las enfermedades que causan estos virus en los cultivos de chile, frijol y tomate.

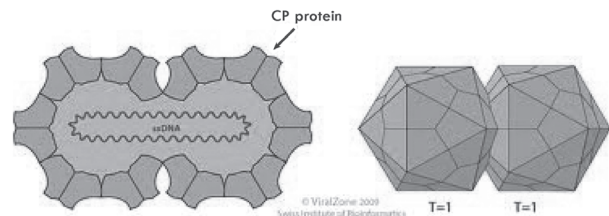
## Taxonomía

Todas las especies de virus pertenecientes a la familia *Geminiviridae* tienen como característica un genoma de ADN de una sola cadena, empaquetado en una cápside icosaédrica geminada. Los geminivirus se clasifican en cuatro géneros: *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocovirus* y *Begomovirus*; la diferencia y división entre estos géneros está sustentada en la organización de su genoma, las propiedades biológicas, el rango de hospederos y en el tipo de insecto vector que los disemina (Fauquet *et al.*, 2008). Dentro del género *Curtovirus* se tienen identificadas las

especies *Beet curly top virus* (BCTV), *Beet mild curly top virus* (BMCTV), *Beet severe curly top virus* (BSCTV), *Spinach curly top virus* (SCTV), *Horseradish curly top virus* (HrCTV), *Beet curly top iran virus* (BCTV) y *Pepper yellow dwarf virus* (PepYDV), los cuales no han sido plenamente caracterizados (Fauquet *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2011).

El BCTV se caracteriza por tener un genoma monopartita de ADN en cadena sencilla, con un tamaño aproximado de 3.0 kb, cubierto por una cápside formada por dos icosaedros geminados casi isométricos (Figura 1); la cápside está constituida por un mismo tipo de proteína de 30 kilodaltons (Creamer *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2010; Durrin *et al.*, 2010).

**Figura 1.** Esquematación de la cápside icosaédrica y geminada del BCTV. El color verde representa una sola clase de proteína (Fuente: [http://viralzone.expasy.org/all\\_by\\_species/109.html](http://viralzone.expasy.org/all_by_species/109.html)).



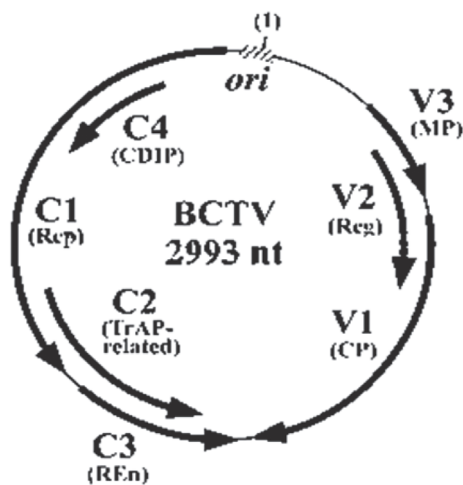
## Descripción del genoma

En el 2002, Hull reportó una clona infecciosa de BCTV con 2993 nucleótidos de longitud. La organización de su genoma revela que el ADN de los curtovirus produce seis o siete proteínas (Figura 2), las cuales están involucradas en todas las actividades de replicación, movimiento y supervivencia del virus. El producto del ORF V1 es la proteína de la cápside del virión, el del ORF V2 está involucrado en la regulación de

los niveles de ADN genómico de cadena sencilla (ss) o de cadena doble (ds), y el del ORF V3 facilita el movimiento de célula a célula del virus. Las cuatro proteínas codificadas por los ORFs de sentido complementario están involucradas en la replicación del virus. El ORF C1 codifica la proteína Rep, C3, una proteína análoga para la replicación de la proteína de los begomovirus, y la C4 es una proteína que puede iniciar la división celular; la función de la C2 es desconocida (Hull, 2002).

En estudios más recientes, se reporta que la V1 está implicada en la codificación de las proteínas de la cápside, la proteína V2, participa en la regulación del ADN (Baliji *et al.*, 2007). Por otro lado, se menciona la participación específica de la proteína C4 en el movimiento del virus, ya que se ha mostrado que en mutaciones de aislados de virus con cambios a nivel de nucleóticos en C4 e inoculados en plantas indicadoras no desplazaban hacia las hojas nuevas de la planta; este hallazgo evidenció la relación de la proteína C4 con el movimiento del virus y posiblemente con su patogenicidad (Teng *et al.*, 2010).

**Figura 2.** Organización del genoma de BCTV. El círculo representa el ADNss, la línea continua la región común. Las flechas dentro del círculo son los ORFs y sus productos, los cuales están involucrados en todas las actividades de replicación, movimiento y permanencia viral (Fuente: [http://www.springerimages.com/Images/RSS/1-10.1007\\_3-540-29719-7\\_56-1](http://www.springerimages.com/Images/RSS/1-10.1007_3-540-29719-7_56-1)).

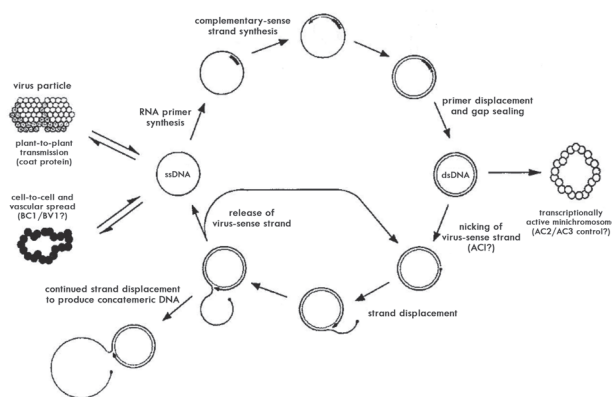


## Formas de replicación

La replicación de los geminivirus depende de las funciones de la célula del hospedero. Los geminivirus se replican en células diferenciadas que están en su fase G, es decir, cuando éstas han terminado la mayoría de sus actividades de replicación de ADN. Los geminivirus reactivan las actividades de replicación que ellos requieren y regresan a la célula a su fase S (Hull, 2002). Se cree que la síntesis de la hebra (-) del ADN viral se inicia a partir de un oligonucleótido complementario de la región intergenómica 3'. Este oligonucleótido puede ser extendido por la ADN-polimerasa *in vitro* y podría ser el iniciador *in vivo* de la cadena (-) en los masterovirus; sin embargo, poco se conoce en relación a las proteínas y los mecanismos involucrados en la síntesis de la cadena (-) en los geminivirus, y se piensa que la síntesis de esta cadena es afectada por los factores del hospedero. Por otro lado, la síntesis de la hebra (+) de los geminivirus se da en un sitio específico del anillo de la horquilla (TAATAATT↓AC) del ADN *in vivo*. La síntesis de la hebra (+) está regulada por la proteína Rep, la cual actúa como endonucleasa y ligasa para cortar y pegar la hebra (+) del ADN viral en la misma posición en la cadena *in vitro*. Se piensa que el origen de la cadena (+) se encuentra en el lado izquierdo de ésta, la cual tiene una región constante (como en el caso del TGMV) y se traslapa con el promotor AC61. Se han identificado seis elementos *cis* en esta región: 1) el elemento horquilla es común en los genomas de los geminivirus. Este elemento tiene una región rica en GC en el tallo y otra región rica en AT en el anillo. La secuencia conservada 5' TAATAATT↓AC del anillo es común en todos los geminivirus y se encuentra en el origen de la hebra (+) de otros ácidos nucleicos que se replican a través del círculo rodante (Zúñiga-Vega, 2002). 2) El sitio de unión de la proteína Rep presenta varias características: (i) es específico para el virus pero tiene algunas secuencias constantes, (ii) el GGAT es un requerimiento absoluto, (iii) el espacio entre

GGAT es importante. 3) El origen de la hebra (+) de los curtovirus comparte sitios de unión para dos factores de transcripción, la caja TATA y la caja G. Ni los factores de transcripción del hospedero ni los sitios de unión son requeridos para la replicación del virus. 4) Los otros dos elementos son la región AG y la región CA. La primera región es esencial para la replicación del virus, pero no se ha detectado ningún papel en la transcripción del AG61. Remoción de la región CA redujo la replicación de TGMV hasta 20 veces y dicha mutación sugiere que actúa como un elemento eficiente. Aunque el mecanismo por el cual estos elementos operan no se ha determinado, se sugiere que podrían unirse a los factores de la planta que son requeridos para la replicación del virus. La proteína Rep es esencial para la replicación de los geminivirus. Esta proteína es multifuncional y tiene varias características: se encuentra en el núcleo, tiene sitios de reconocimiento específicos, tiene actividad de endonucleasa, ligasa, ATPasa y de GTPasa. La proteína Rep también funciona como promotor del gen de ARNm para la síntesis de la proteína de la cápside (Hull, 2002) (Figura 3).

**Figura 3.** Diagrama representativo de la replicación de un geminivirus (Hull, 2002).



## Formas de transmisión

El BCTV se transmite solamente a través del insecto *Circulifer tenellus*, comúnmente conocido como chicharrita (Figura 4), que

pertenece al orden hemiptera y es de la familia *Cicadellidae*; es un insecto en forma de cuña que mide aproximadamente 3 mm, el cual se torna de color verde pálido a gris; su aparato bucal es de tipo chupador, es de movimientos rápidos y es difícil detectar en forma individual, solamente puede ser visto en conjunto en las hojas de las plantas (Nischwitz y Olsen, 2011).

**Figura 4.** Insecto *Circulifer tenellus* (salta-hojas) transmisor específico del BCTV (Fuente: <http://cals.arizona.edu/yavapai/graphics/beetleafhoper.jpg>).



Debido al amplio rango de plantas hospederas, el BCTV puede alojarse en malezas y posteriormente ser transportado por su vector a los cultivos hortícolas hospederos. El vector es un insecto de migración anual, en temporada invernal los adultos se alojan en malezas perenes iniciando así su ciclo reproductivo. El virus se puede alojar en el insecto desde la etapa ninfal y permanecer en él hasta el término de su ciclo de vida. En primavera, los insectos emigran hacia zonas agrícolas transmitiendo el virus en el momento en que el insecto introduce el estilete para succionar la savia de la planta, diseminándolo de planta en planta (Chen *et al.*, 2010).

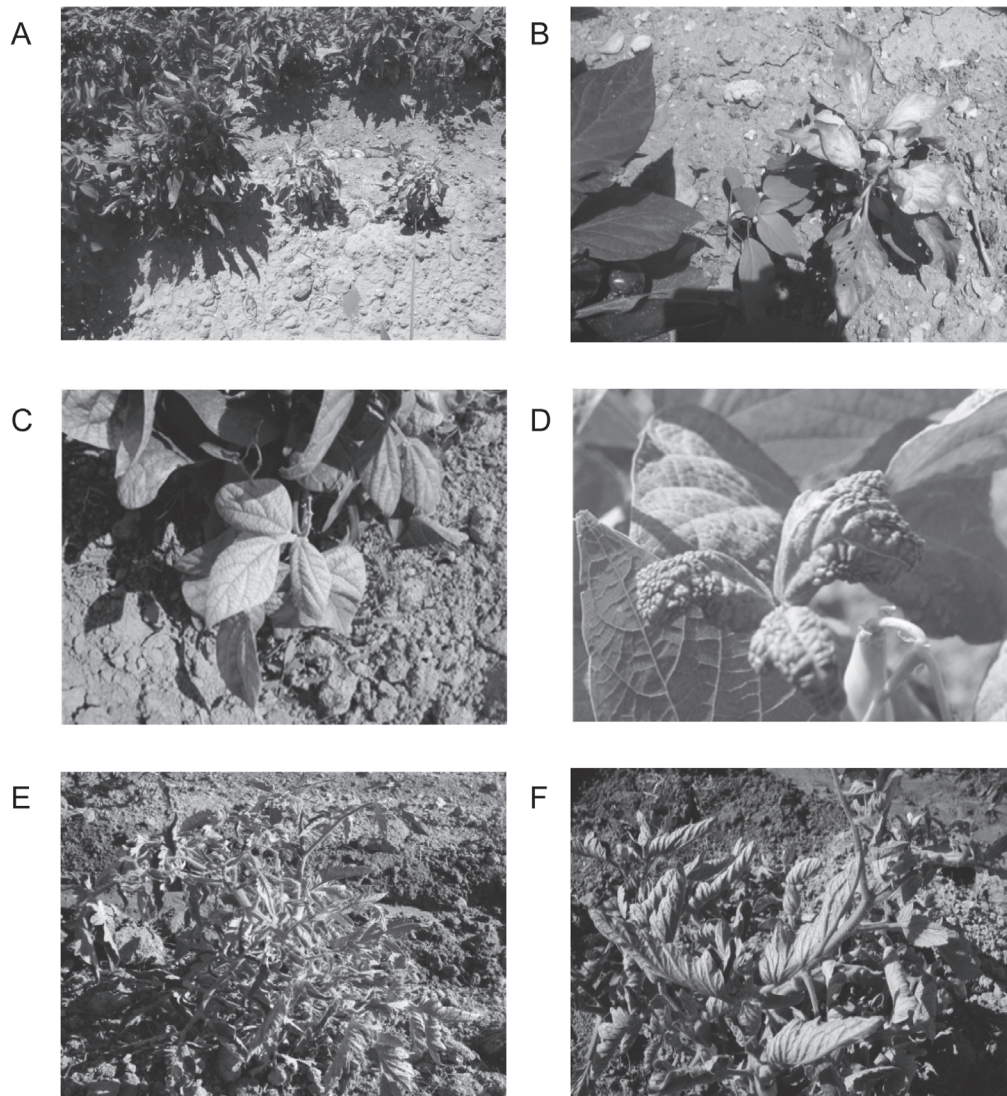
## Sintomatología de plantas infectadas por BCTV

Las enfermedades provocadas por BCTV han causado importantes pérdidas de cultivos en distintas regiones de Estados Unidos y en México. De acuerdo con las investigaciones realizadas, el BCTV infecta a una amplia gama

de cultivos, entre los que destacan, frijol, chile verde, espinacas y tomate (Creamer *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011). El nombre de la enfermedad no está bien definido, por lo tanto, su diagnóstico se basa en los síntomas característicos que se presentan en la mayoría de los cultivos. El proceso de infección en los cultivos se da cuando el insecto vector se alimenta de las plantas, inoculando con el aparato bucal el virus que pudo haber adquirido durante su etapa de desarrollo (Chen *et al.*, 2010).

Durante el desarrollo de la enfermedad se presentan algunos síntomas que pueden ser similares en todos los cultivos afectados por virus. Sin embargo, también se presentan síntomas que son específicos para cada cultivo (Figura 5). En el caso del chile, las plantas jóvenes presentan enanismo, clorosis y rizado de hojas; en plantas en etapas de desarrollo avanzado se presenta una disminución en el amarre de fruto, también se pueden presentar hojas duras y quebradizas (Creamer, 2005).

**Figura 5.** Síntomas característicos causados por BCTV en diferentes cultivos hortícolas. A) hojas rizadas y quebradizas de chile, B) hojas cloróticas de chile., C) hojas cloróticas de frijol, D) hojas epinásticas de frijol, E) hojas de tomate con decoloración púrpura y rizadas hacia arriba y F) hojas de tomate pequeñas, rizadas y quebradizas (Fuente: A y B – proporcionadas por Loreto Robles Hernández; C y D – Schwartz *et al.*, 2005; E y F – <http://www.coopext.colostate.edu/TRA/PLANTS/curlytopvirus.shtml>).





En el cultivo de frijol, durante los primeros estadios de crecimiento se presenta epinastia, rizado en las primeras hojas trifoliadas, distorsión en las puntas de crecimiento y muerte en las yemas secundarias; las primeras hojas se tornan amarillas y la planta puede morir en pocas semanas, también se produce enanismo en la planta y las hojas se vuelven gruesas y quebradizas; en infecciones tardías, las plantas pueden madurar y producir pocas vainas si éstas se forman antes de la infección; las hojas trifoliadas que se formaron parcialmente durante la infección primaria pueden permanecer de un color verde oscuro y con malformaciones rizadas hacia abajo (Zitter, 2001; Nischwitz y Olsen, 2011). En el cultivo de tomate, las hojas de plantas infectadas se vuelven pequeñas, se tornan quebradizas y se rizan hacia arriba; las venas en el envés de la hoja presentan una decoloración púrpura y frecuentemente se hinchan; las raíces detienen su crecimiento y exhiben una proliferación de raíces secundarias; el tejido de floema presenta necrosis y aparece como círculos oscuros en un corte transversal (Zitter, 2001).

## Técnicas de identificación y cuantificación de BCTV

Debido a la naturaleza de los virus, resulta complicado, y a veces implica grandes costos, poder cultivarlos y aislarlos *in vitro*, ya que requieren de condiciones y sustratos altamente específicos y de un microscopio electrónico para poderlos visualizar; como alternativa, se han desarrollado técnicas específicas que arrojan resultados convincentes de su presencia (Madigan *et al.*, 2003). Dentro de las técnicas más comunes y factibles para la identificación de *Beet curly top virus* se encuentran la identificación de síntomas, pruebas fisiológicas en plantas indicadoras, prueba de serología y técnicas moleculares (Robles-Hernández *et al.*, 2010a). Dichas técnicas se utilizan ampliamente para la identificación y caracterización de diferentes tipos de virus fitopatógenos en el estado de Chihuahua (Robles-Hernández *et al.*, 2010b y Robles-Hernández *et al.*, 2011). A continuación se describen algunas de las más comunes.

## Técnicas serológicas

Las técnicas serológicas que más se emplean para el diagnóstico de enfermedades causadas por virus en plantas es la prueba de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), que se basa en la unión covalente de enzimas con anticuerpos, de manera que se conservan las propiedades catalíticas de las enzimas y la especificidad de los anticuerpos; existen variaciones sobre esta técnica, los cuales se describen a continuación. *El método de ELISA indirecto* se basa en la adsorción del antígeno a una placa de poliestireno, seguida de la adición del anticuerpo específico, el cual reacciona con el antígeno adherido a la placa. Posteriormente, se siguen los mismos pasos del método anterior, adición de la enzima ligada al anticuerpo, incorporación del sustrato y lectura de absorbancias en el lector de microplacas, recordando que cada uno de los pasos de cada reacción lleva un tiempo de incubación (Madigan *et al.*, 2003; Roitt *et al.* 2003). *El método directo de doble anticuerpo tipo sándwich (DAS-ELISA)* consiste principalmente en la adsorción de anticuerpos específicos a una placa de poliestireno a la cual se le adiciona el antígeno presente en la muestra. Una vez que se lleva a cabo la unión antígeno-anticuerpo, se adiciona un segundo anticuerpo, el cual está ligado a una enzima que va a reaccionar con el complejo antígeno anticuerpo formado previamente. Una vez formado este complejo, se adiciona un sustrato como indicador de la reacción, que suministra una coloración directamente proporcional a la concentración de antígeno presente en la muestra (Robles *et al.*, 2010b). Una variante de esta prueba es el *triple anticuerpo tipo sándwich (TAS-ELISA)*. El fundamento de esta técnica surge a partir de la obtención de antisueros (suero con anticuerpos producidos por animales de laboratorio), el cual se obtiene mediante inmunizaciones en conejos o cobayos, principalmente. Estos anticuerpos son adsorbidos en una placa de poliestireno, luego se adiciona el extracto vegetal para provocar la unión del antígeno con el anticuerpo

primario; posteriormente se agregan otra serie de anticuerpos procedentes de otro proceso de inmunización, los cuales se unen al complejo antígeno-anticuerpo formado previamente. Para completar el proceso se adicionan anticuerpos conjugados con una enzima en donde se unen al complejo anticuerpo antígeno-anticuerpo; seguidamente, después de un período de incubación se adiciona un sustrato, el cual reaccionará con la enzima y suministrará una coloración directamente proporcional a la concentración de antígeno, la cual también se refleja con la medición de absorbancia (Vidhyasekaran, 2003; Durrin *et al.*, 2010).

De todas las variantes del método ELISA, la más utilizada para la identificación de las especies del BCTV es la técnica TAS-ELISA, debido a que es un método que tiene menos interferencia y es más sensible en la detección de este virus; esta técnica fue aplicada por Durrin *et al.* (2010) para la inmunodetección de dos cepas de *Curtovirus* en remolacha azucarera. Robles *et al.* (2011) aplicaron con éxito esta técnica para la identificación de *Beet severe curly top virus* en el cultivo de chile en el estado de Chihuahua.

## Técnicas moleculares

Las técnicas moleculares son otra alternativa para el estudio y diagnóstico de enfermedades virales en plantas. Dichas técnicas se caracterizan por ser altamente sensibles y se basan en la manipulación de ácidos nucleicos aprovechando las propiedades singulares, en particular las del ADN (Zúñiga-Vega, 2002); los métodos para determinar la secuencia de bases del ADN emplean la manera en que éste se replica (Campbell y Farrell, 2004; Agrios, 2005; Chen *et al.*, 2011).

*Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*. La PCR (Polymerase Chain Reaction, por sus siglas en inglés) es una técnica muy utilizada en biotecnología, consiste en generar una gran cantidad de copias de un fragmento de ADN y parte del requisito fundamental para que se lleve a cabo la reacción, es disponer de

fragmentos cortos de ADN de cadena sencilla complementarios a los extremos del fragmento a amplificar. Estos fragmentos se conocen como cebadores o *primers*. Todo este proceso se desarrolla en varios ciclos programados en un sistema, que permiten la desnaturalización, hibridación y elongación del ADN hasta obtener el número de copias deseado (Campbell y Farrell, 2004). Finalmente, para corroborar la amplificación del ADN se hace una separación de fragmentos de cadena de ADN mediante la técnica de electroforesis utilizando matrices de agarosa o poliacrilamida. Esta técnica de electroforesis se basa en el movimiento de partículas cargadas en un campo eléctrico, hacia un electrodo con carga opuesta; como fase inmóvil se suele emplear papel, y en el más común de los casos se utiliza gel de agarosa; como fase móvil se utiliza una solución amortiguadora que facilite el movimiento de los fragmentos de ADN (Campbell y Farrell, 2004; Chen *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011; Robles-Hernández *et al.*, 2011).

*Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real*. Esta técnica se basa en la detección y medición de productos generados durante la PCR, de esta forma, es necesario disponer de un método que exprese la acumulación del producto de PCR y un aparato que registre los resultados durante los ciclos de la reacción; el proceso de amplificación y detección se produce de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de alguna acción posterior. Esta técnica emplea un sistema de detección por fluorescencia, por medio de esto, se puede medir la cantidad del ADN producido en cada uno de los ciclos de amplificación, dado que la emisión de fluorescencia es directamente proporcional a la cantidad de ADN amplificado, permitiendo así su cuantificación; el número de ciclos que se necesitan para que la señal de fluorescencia alcance el nivel umbral se conoce como *Threshold cycle* ( $C_T$ , por sus siglas en inglés). Algunos hallazgos contribuyeron al desarrollo de la PCR en tiempo real; uno de ellos es que

la *Taq* polimerasa posee actividad de exonucleasa, y el otro es la construcción de sondas de oligonucleótidos con doble marcaje, basadas en el principio de transferencia de energía fluorescente mediante resonancia o FRET (Costa, 2004). La técnica de PCR en tiempo real ha sido utilizada para la identificación de *Curtovirus* en cucurbitáceas como melón y calabacita (Chen *et al.*, 2009).

## Método de clonación de BCTV

Para poder multiplicarse, los virus requieren parcial o totalmente de la maquinaria de la célula, a partir de ésta se logran reproducir algunas proteínas virales o el genoma completo. Para la replicación de virus fitopatógenos se debe tener en cuenta el tipo de planta hospedera que se ha de utilizar, así como el tipo de vector, ya que algunos virus tienen una alta afinidad por esos hospederos y vectores (Chen *et al.*, 2010). La clonación molecular es una de las herramientas de mayor utilidad en ingeniería genética y demás áreas afines, ya que ha facilitado el análisis de cualquier genoma. La finalidad de esta técnica es la de producir grandes cantidades del genoma viral; la estrategia básica de la clonación consiste en transferir un gen o una región específica de un organismo a otro para observar su expresión en el organismo receptor (Madigan *et al.*, 2003). El proceso de clonación *in vitro* puede llevarse a cabo en varias etapas: primero, se hace el aislamiento y la fragmentación del ADN del organismo de interés, éste puede estar combinado con el ADN de otro organismo, que con la ayuda de los *primers* específicos en un proceso de PCR, se logra obtener una gran cantidad de ADN del organismo blanco. Posteriormente, se hace la unión de los fragmentos del ADN amplificado en un vector de clonación; estos vectores están generalmente diseñados para permitir la recombinación del ADN foráneo en un sitio de restricción que corta al vector sin afectar su replicación; como parte final del proceso de clonación, se hace la introducción y mantenimiento de un organismo receptor, en el

cual se introduce el ADN generado durante el proceso de amplificación (Madigan *et al.*, 2003). En el caso de los *Geminivirus*, algunas de las plantas que se usan como hospederos son *Nicotiana tabacum*, *Arabidopsis* spp. y *Nicotiana benthamiana*, inclusive se pueden utilizar plantas de los cultivos a los que ataca.

Chen *et al.* (2010) iniciaron el proceso de clonación de *Beet mild curly top virus* a partir de plantas de Chile con los síntomas característicos causados por este virus. El material genético del virus se extrajo, se hizo la clonación y posteriormente el producto se introdujo en plantas de *Nicotiana tabacum*, observándose que el análisis de secuenciación fue muy similar a los resultados de secuenciación obtenidos del material genético clonado proveniente de plantas de Chile (Chen *et al.*, 2010). Este tipo de técnicas resultan ser muy útiles, ya que se puede obtener de forma rápida una gran cantidad de material genético, el cual se puede utilizar para una identificación más segura de *Geminivirus*. Un trabajo similar fue realizado por Baliji *et al.* (2007) con el *Spinach curly top virus*, sólo que en este caso utilizaron *Arabidopsis* spp. como huésped para introducir el material clonado (Baliji *et al.*, 2007).

## Métodos de secuenciación

Mediante la secuenciación se puede obtener el orden exacto de monómeros, tanto de proteínas, como de ácidos nucleicos, con esto se puede secuenciar las proteínas de la cápside de un virus, así como también el genoma completo del virus (Kashina *et al.*, 2005). Mediante esta técnica se pueden realizar comparaciones del genoma, lo cual permite ubicar y obtener la filogenia de una especie, en este caso, de un virus. La secuenciación se lleva a cabo siguiendo un proceso similar al de PCR, el cual se programa a varios ciclos, los cuales incluyen desnaturalización, hibridación y elongación. La reacción se lleva a cabo en un tubo de PCR, el cual debe contener amortiguadores e iniciadores altamente específicos para la región que se desee secuenciar; una vez obtenida la secuencia de

nucleótidos, se hace uso de bases de datos (bancos genéticos) para comparar la secuencia de nucleótidos con las de otros organismos (Kashina *et al.*, 2007). Existen algunos métodos altamente sensibles que permiten una secuenciación eficaz y que han sido utilizados en múltiples investigaciones. Uno de los métodos es el de Maxam y Gilbert, en el que se determina la secuencia de una molécula de ADN utilizando productos químicos que cortan en posiciones específicas los fragmentos marcados en sus extremos 5'. El segundo método es el de Sanger, en donde se utiliza un templete de ADN de cadena sencilla, para sintetizar la hebra complementaria, la cual se utiliza en posiciones específicas. En ambos métodos, la secuencia de la molécula se determina por diferencia en los tamaños de los fragmentos generados (Maxam y Gilbert, 1977; Sanger *et al.*, 1977).

## Análisis filogenético

De acuerdo con el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV, siglas en inglés), para establecer una clasificación confiable se deben considerar aspectos como la organización del genoma, propiedades biológicas, rango de hospederos y el tipo de vector de diseminación. El análisis filogenético consiste en comparar la secuencia genómica del virus BCTV y así poder establecer la relación con otras especies de curtovirus (Fauquet *et al.*, 2008; Yazdi *et al.*, 2008). Para el análisis filogenético, una vez que se obtiene la secuencia completa del genoma, se hace uso de bases de datos creadas por organizaciones especializadas que son de libre acceso y altamente confiables. Dichas organizaciones se encuentran en una constante actualización, recabando información de todas partes del mundo; estas bases de datos proporcionan la relación que hay con otras especies mediante porcentajes de similitud, número de secuencias iguales, entre otras. Existen varias metodologías para realizar el análisis filogenético con la secuencia de otros virus del mismo género, y así ver las similitudes y diferencias que puedan


existir para deducir si existe una secuencia en común con las otras especies (Yazdi *et al.*, 2008; Kerlan *et al.*, 2011).

## Conclusiones

La identificación y caracterización de *Beet curly top virus* implica un trabajo a profundidad, pues se tiene que iniciar desde su taxonomía, su importancia agrícola, su identificación mediante el uso de diversas técnicas serológicas y moleculares, así como su clonación, secuenciación y análisis filogenético a través de métodos modernos y de vanguardia. La información revisada y analizada en este documento muestra una panorámica general en trabajos con *Curtovirus* para técnicos e investigadores interesados en iniciar estudios que permitan aplicar las técnicas descritas en este documento para la identificación y caracterización de estos virus. Dicha información muestra el potencial para escalar a otros niveles de investigación que involucren estudios de las diversas proteínas que contiene el genoma, así como la relación que existe entre las especies de este virus con los vectores y sus hospederos.

## Literatura citada

- AGRIOS, G. 2005. Plant pathology. Fifth edition. ELSEVIER Academic Press. USA. 922 p.
- BALIJI, S., J. Sunter and G. Sunter. 2007. Transcriptional analysis of complementary sense genes in *Spinach curly top virus* and functional role of C2 in pathogenesis. *Molecular plant-microbe interactions* 20(2): 194-206.
- CAMPBELL, M.K. and S. O. Farrell. 2004. Bioquímica. Thomson. México, D.F. 775 p.
- CHEN, L.F. and R. L. Gilbertson. (2009). Curtovirus-cucurbit interaction: acquisition host plays a role in leafhopper transmission in a host-dependent manner. *Phytopathology* 99(1): 101-108.
- CHEN, L.F., E. Vivoda and R.L. Gilbertson. 2011. Genetic diversity in curtoviruses: a highly divergent strain of *Beet mild curly top virus* associated with an outbreak of curly top disease in pepper in Mexico. *Archives of Virology* 156: 547-555.
- CHEN, L.F., K. Brannigam, R. Clark and R.L. Gilbertson. 2010. Characterization of curtoviruses associated with curly top disease of tomato in California and monitoring for these viruses in Beet leafhoppers. *Plant Disease* 94: 99-108.
- COSTA, J. 2004. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 22 (5): 299-305.
- CREAMER, R., H. Hubble and A. Lewis. 2005. Curtovirus infection of chile pepper in New Mexico. *Plant disease* 89(5): 480-486.
- DURRIN, J.S., O.V. Nikolaeva, C.A. Strausbaugh and A.V. Karasev. 2010. Immunodetection of two curtoviruses infecting sugar beet. *Plant Disease* 94(8): 972-976.

- FAUQUET, C.M., R.W. Briddon, J.K. Brown, E. Moriones, J. Stanley, M. Zerbin, and X. Zhou. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of virology* 153(4): 783-821.
- HULL, R. 2002. Matthews' Plant virology. Academic press. San Diego, California, USA 1001p.
- KASHINA, B.D., R.B. Mabagala, A.A. Mpunami, H. Jeske, and J. Jovel. 2007. Genetic analysis of geminiviral DNA from tomato yellow leaf curl diseased tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants from Tanzania. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 40(3): 176-182.
- KERLAN, C., O.V. Nikolaeva, X. Hu, T. Meacham, S.M. Gray and A.V. Karasev. 2011. Identification of the molecular make-up of the Potato virus Y strain PVY<sup>Z</sup>: Genetic typing of PVY<sup>Z</sup>-NTN. *Phytopathology* 101(9): 1052-1060.
- MADIGAN, M.T., J.M. Martinko y J. Paker. 2003. Biología de los microorganismos. Pearson Educación. Madrid, España. 1011 p.
- MAXAM, A. M. and Gilbert W. 1977. A new method for sequencing DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74(2), 560-564.
- NISCHWITZ, C. 2010, June. Curtoviruses in leafy greens in Arizona. In *Phytopathology* (Vol. 100, No. 6, pp. S89-S90). 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, MN 55121 USA: American Phytopathological Society.
- ROBLES-HERNANDEZ, L., A.C. González-Franco, E.M. Gill-Langarica. 2011. First report of *Beet severe curly top virus* in jalapeño pepper in Chihuahua, Mexico. *Plant disease* 95(6): 778.
- ROBLES-HERNÁNDEZ, L., A.C. González-Franco, E.M. Gill-Langarica, L. Pérez-Moreno y J.C. López-Díaz. 2010. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección. *Tecnociencia Chihuahua* 4(2): 72-86.
- ROITT, I. M. and J.D. Peter. 2003. Inmunología. Editorial Médica Panamericana, Madrid España, 560 p.
- ROJAS, M. R., C. Hagen, W.J. Lucas and R.L. Gilbertson. 2005. Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 43: 361-394.
- SANGER, F., S. Nicklen and A.R. Coulson. 1977. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74(12): 5463-5467.
- TENG, K., H. Chen, J. Lai, Z. Zhang and F. Fang. 2010. Involvement of C4 protein of *Beet severe curly top virus* (family Geminiviridae) in virus movement. *PLoS one* 5(6): e11280.
- VIDHYASEKARAN, P. 2004. *Concise encyclopedia of plant pathology*. Food Products Press.
- YAZDI, H. B., J. Heydarnejad and H. Massumi. 2008. Genome characterization and genetic diversity of beet curly top Iran virus: a geminivirus with a novel nonanucleotide. *Virus genes* 36(3): 539-545.
- ZITTER, T.A. 2001. El ápice rizado. Compendio de plagas y enfermedades del tomate. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 35-36 p.
- ZÚÑIGA-VEGA, C. y P. Ramírez. 2002. Los Geminivirus, patógenos de importancia mundial. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 64: 25-33. 

Este artículo es citado así:

Robles-Hernández, L., L. C. Chavira-Sáenz, M. T. Sáenz-Gutiérrez y A. C. González-Franco. 2014. Técnicas serológicas y moleculares utilizadas para la identificación y caracterización de *Beet curly top virus*. *TECNOCENCIA Chihuahua* 8(1): 7-16.

## Resumen curricular del autor y coautores

**LORETO ROBLES HERNÁNDEZ:** Título de Ingeniero Fruticultor (1992) y grado de Maestro en Ciencias de la Productividad Frutícola (1998) por la Universidad Autónoma de Chihuahua y grado de Doctor en Fitopatología (2004) por la Universidad de Idaho, USA. Es profesor investigador en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Realiza investigación en el estudio de enfermedades de cultivos hortícolas. Imparte los cursos de Fitopatología, Microbiología, Control Biológico y Fisiología y Tecnología de Poscosecha. Ha realizado varios proyectos de investigación con financiamiento externo. Ha dirigido y concluido varias tesis de maestría y licenciatura. Ha publicado varios capítulos de libros, artículos científicos y resúmenes en memorias de congresos nacionales e internacionales. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (S.N.I.), cuenta con el nombramiento de Perfil Deseable por la SEP-PROMEP y tiene dos primeros lugares por la presentación de los mejores trabajos de investigación, otorgados por la Sociedad Mexicana de Fitopatología y la Asociación Mexicana de Microbiología, respectivamente. Es responsable del área de diagnóstico de enfermedades de plantas en el laboratorio de Microbiología Aplicada, Fitopatología y Fisiología de Poscosecha en La Facultad de Ciencias Agrotecnológicas.

**ANA CECILIA GONZÁLEZ FRANCO:** Título de Químico Bacteriólogo Parasitólogo en 1992 y grado de Maestro en Ciencias de la Productividad Frutícola en 1995 por la Universidad Autónoma de Chihuahua. Obtuvo su Doctorado en Microbiología, Biología Molecular y Bioquímica (2004) en la Universidad de Idaho, USA. Es profesor investigador en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Realiza investigación en el Control Biológico de Enfermedades y en la Interacción-Microorganismo-Planta. Imparte las cátedras de Interacción-Microorganismo-Planta, Bioquímica, Química y Biotecnología. Ha realizado varios proyectos de investigación con financiamiento externo. Ha dirigido y concluido varias tesis de maestría y licenciatura. Ha publicado varios artículos científicos y resúmenes en memorias de congresos nacionales e internacionales. Cuenta con el nombramiento de Perfil Deseable por la SEP-PROMEP y tiene dos primeros lugares por la presentación de los mejores trabajos de investigación, otorgados por la Sociedad Mexicana de Fitopatología y la Asociación Mexicana de Microbiología, respectivamente.

**LUIS CARLOS CHAVIRA SÁENZ:** Título de Químico Bacteriólogo Parasitólogo en el 2008 con mención especial por la Universidad Autónoma de Chihuahua. Realizó su tesis para obtener el título de licenciatura titulada "Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano *Lippia berlandieri* en bacterias patógenas del tracto respiratorio superior. Publicación del abstract "Antimicrobial Effect of Mexican Oregano (*Lippia berlandieri*) Essential Oil Against Upper Respiratory-Tract Pathogenic Bacteria" en la American Society For Microbiology. Ha participado en Jornadas de investigación en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Actualmente cursa la Maestría en Ciencias de la Productividad Frutícola, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua con el tema de investigación titulado, Identificación y caracterización del Beet curly top virus en cultivos hortícola de interés económico para el estado de Chihuahua.

**MARÍA TERESA SÁENZ GUTIÉRREZ.** Es profesora investigadora de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Obtuvo su maestría y licenciatura en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Actualmente conduce su investigación sobre Manejo Integrado de Plagas, y Estudios de Efectividad Biológica de Insecticidas. Imparte las materias de Entomología, Manejo Integrado de Plagas y Uso y Manejo de Insecticidas. Asesora estudiantes tanto de la licenciatura en Ingeniero en Producción y Comercialización Hortícola como en la Maestría en Ciencias de la Productividad Frutícola. Es responsable del Laboratorio de Entomología y Manejo Integrado de Plagas de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Campus Cuauhtémoc.

# Las proteínas DING, una familia con intrigantes funciones celulares

## DING proteins, a family with intriguing cellular functions

LIGIA BRITO-ARGÁEZ<sup>1</sup>, MARTHA CHÍ-POOT<sup>1</sup>, RITA UC-KU<sup>1</sup>, JOSÉ AARÓN TAMAYO-SANSORES<sup>1</sup>,  
DIANELI MADERA-PIÑA<sup>1</sup>, IGNACIO ISLAS-FLORES<sup>1,2</sup>

Recibido: Enero 16, 2014

Aceptado: Febrero 2, 2014

### Resumen

La familia de las proteínas DING recibe este nombre porque en especies filogenéticamente distantes, dichos aminoácidos están altamente conservados en el extremo N-terminal. Sus integrantes tienen un peso molecular ~40 kDa, están relacionadas con el metabolismo del fosfato, son secretadas y en su mayoría poseen actividad enzimática de fosfatasa. Inicialmente se creyó que las proteínas DING eran exclusivas de *Pseudomonas* sp., pero ahora se sabe que están distribuidas en los diferentes reinos biológicos. El descubrimiento de esta familia se fundamentó en la secuenciación de aminoácidos debido a que, con excepción de *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa* y algunos otros procariontes, los genes que las codifican no han sido encontrados en las bases de genes de los eucariontes cuyos genomas han sido ya secuenciados. Las proteínas DING tienen funciones biológicas controversiales y por ello están siendo objeto de intensa investigación. En células animales se les ha asociado con la aparición de enfermedades como el cáncer de mama y la caquexia, pero también con la protección contra la arterioesclerosis y la litiasis. En vegetales, algunas proteínas DING muestran propiedades citotóxicas sobre células tumorales o de inhibición de la replicación del virus VIH-1. La evidencia biológica muestra que el mecanismo de acción de las proteínas DING puede ser variado y el resultado contrastante. Dada la potencial aplicación terapéutica de estas proteínas, en esta revisión se describen los hallazgos que se han realizado en esta familia debido a que previamente a su aplicación es necesario entender los mecanismos que regulan sus funciones.

**Palabras clave:** *Hypericum perforatum*, *Pseudomonas* sp., proteínas DING, anticancerígenos.

### Abstract

The DING family of proteins called because in phylogenetically distant species, these amino acids are highly conserved in the N-terminal. The members have a molecular weight of ~40 kDa, are related to phosphate metabolism, are secreted and have mostly phosphatase enzymatic activity. Initially it was believed that DING proteins were unique to *Pseudomonas* sp., but is now known they are distributed in different biological kingdoms. The discovery of this family was based on the sequencing of amino acids because, with the exception of *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa* and some other prokaryotes, the genes that encode them have not been found on the basis of genes of eukaryotes whose genomes have already been sequenced. The DING proteins have controversial biological functions and are therefore the subject of intense research. In animal cells they have been associated with the occurrence of diseases such as breast cancer and cachexia, but also to protection against atherosclerosis and gallstones. In plants, DING proteins exhibit some cytotoxic properties on tumor cells or on inhibiting the replication of HIV-1 virus. Biological evidence shows that the mechanism of action of the DING proteins can be varied and with contrasting results. Given the potential therapeutic application of these proteins, in this review, we described the findings that have been made in this family, since before its exploitation it is necessary to understand the mechanisms that regulate their functions.

**Keywords:** *Hypericum perforatum*; *Pseudomonas* sp., DING proteins, anticancer drugs.

<sup>1</sup> Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas. Calle 43 No. 130, colonia Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, México. 97200.

<sup>2</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: islasign@cicy.mx.

## Introducción

**L**as proteínas DING reciben este nombre debido a que se ha determinado que aún en especies filogenéticamente distantes, los aminoácidos, ácido aspártico (D), isoleucina (I), asparagina (N) y glicina (G), están altamente conservados en el extremo N-terminal de esta familia de proteínas (Berna *et al.*, 2008).

Las proteínas DING tienen un peso molecular promedio de 40 kDa, son secretadas y están relacionadas con el metabolismo del fosfato dado que lo unen con alta afinidad (Berna *et al.*, 2008; Darbinian *et al.*, 2009). Inicialmente se creyó que las proteínas DING eran exclusivas de *Pseudomonas* sp., pero evidencias posteriores han confirmado su existencia en los diferentes reinos biológicos (Lewis y Crowther, 2005; Berna *et al.*, 2009b; Bernier, 2013). En eucariontes, el descubrimiento y descripción de esta familia se fundamentó en la secuenciación directa de aminoácidos a partir de péptidos aislados o directamente de las proteínas de interés, debido a que, con excepción de *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* y algunos otros procariontes, los genes que las codifican no han sido encontrados en las bases de secuencias de genes de los organismos eucariontes cuyos genomas han sido ya secuenciados (Berna *et al.*, 2009b). Hasta la fecha, las únicas proteínas DING secuenciadas en su totalidad a nivel de aminoácidos son la proteína humana de unión a fosfatos (HPBP, por sus siglas en inglés) y pfluDING de *Pseudomonas fluorescens* (Ahn *et al.*, 2007; Diemer *et al.*, 2008).

Las proteínas DING han sido asociadas con diferentes actividades enzimáticas, siendo la más prominente la de fosfatasa (Darbinian *et al.*, 2009). La función de esta familia de proteínas es motivo de controversia y por ello están siendo objeto de intensa investigación. En células animales se les asocia con la aparición de enfermedades como la artritis reumatoide (Hain *et al.*, 1996), el cáncer de mama (Lamartiniere *et al.*, 1995) y la caquexia (Todorov *et al.*, 2007), pero también hay evidencias de que las proteínas DING participan en la protección

contra la arterioesclerosis (Morales *et al.*, 2006) y la litiasis (Kumar *et al.*, 2004). En vegetales se han descrito algunas proteínas DING con propiedades terapéuticas; por ejemplo, una proteína DING de 28 kDa aislada de *Helianthus tuberosum* fue citotóxica para células tumorales (Bookland *et al.*, 2012) y un polipéptido de 263 aminoácidos (denominado p27<sup>SJ</sup>), aislado de la planta *Hypericum perforatum* inhibió la replicación del HIV-1 en células infectadas con el mismo (Perera *et al.*, 2008); cabe mencionar que p27<sup>SJ</sup> es un fragmento de degradación de p38<sup>SJ</sup>, el cual fue obtenido posteriormente (Amini *et al.*, 2009). En general, se conoce muy poco sobre las proteínas DING, pero la evidencia sugiere que los mecanismos de acción pueden ser variados y que el resultado puede ser totalmente contrastante, dado que en ciertos tipos celulares puede desencadenar enfermedad y en otros actuar como agente preventivo del desorden (Berna *et al.*, 2009a; Bernier, 2013). En nuestro grupo hemos estado trabajando con una fracción proteica de chile habanero que contiene proteínas DING y mantenemos un interés particular en las posibilidades terapéuticas y agroecológicas de dicha fracción; es por ello, que en este trabajo de revisión se describen los hallazgos que han llevado a la descripción de esta interesante familia de proteínas. Es necesario entender los mecanismos que regulan las funciones biológicas de la familia de proteínas DING para poder aprovechar su enorme potencial, tanto a nivel terapéutico como agroecológico.

## Origen de las proteínas DING

Las proteínas DING son una familia descubierta en la década de 1990 e inicialmente se creyó que eran exclusivas del reino

procarionte, particularmente de *Pseudomonas* sp. (Lewis y Crowther, 2005), y que su detección en organismos eucariontes, específicamente en plantas, era producto de contaminación, dada la coexistencia comensal o simbiótica entre dichos organismos (Lewis y Crowther, 2005). En la actualidad, esa hipótesis ha sido descartada, de tal forma que los hallazgos experimentales sustentan la ubicuidad de las proteínas DING en los diferentes reinos (Di Maro *et al.*, 2008; Berna *et al.*, 2009b; Bernier, 2013).

En procariontes se ha determinado que tanto las proteínas DING como los genes que las codifican están representados en cinco especies de *Pseudomonas* sp. y que incluyen *P. brassicacearum*, *P. extramaustralis* (Bernier, 2013), y las ya bien caracterizadas *Pseudomonas fluorescens* SBW-4 y *P. aeruginosa* PA14 (Lewis y Crowther, 2005; Ball *et al.*, 2012). Hallazgos alternos han mostrado la existencia de proteínas DING en otros procariontes como *Thermus thermophilus* (Pantazaki *et al.*, 2008), *Bacillus mojaviensis* (Haddar *et al.*, 2009), *Streptomyces mirabilis* (Yang *et al.*, 2012) y *Sulfolobus solfataricus* (Di Maro *et al.*, 2008). En contraste, el descubrimiento y descripción de las proteínas DING eucariontas se fundamentó en la secuenciación parcial de los aminoácidos del extremo N-terminal de las proteínas aisladas y a partir de la alta conservación de la secuencia D[I/V]NGGG es que se les asignó su nombre (Berna *et al.*, 2009b; Figura 1). En lo que respecta a los genes que codifican a las proteínas DING en eucariontes, éstos han sido difíciles de amplificar por PCR, ya sea a partir del DNA genómico o de DNA complementario (Lewis y Crowther, 2005; Berna *et al.*, 2009b). La búsqueda de los genes que codifican a estas proteínas en los genomas eucariontes ya secuenciados ha rendido escasos resultados, y sólo unos pocos fragmentos de cDNA o DNA han sido registrados en las bases públicas de genes (Darbinian-Sarkisian *et al.*, 2009; Bernier, 2013). La ausencia de las secuencias génicas para estas proteínas en las bases de genes parece estar asociada con la depuración de las

secuencias, dado que dichos genes al parecer tienen altos contenidos de los nucleótidos G y C o se encuentran en regiones que contienen altos porcentajes de G y C, y por ello se pudieron haber descartado como ADN silente (Sachdeva y Simm, 2011). El alto contenido de G y C de las secuencias de ADN codificantes de las proteínas DING, también puede ser uno de los factores que dificultan su amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de los DNAs o cDNAs aislados de los diversos organismos de interés. Esta hipótesis ha encontrado sustento en el hecho de que recientemente, a partir del mRNA de las células CD4, se consiguió amplificar el cDNA codificante de la proteína X-DING-CD4 mediante PCR, gracias a una estrategia novedosa de anillamiento ultra rápido de DNA desnaturalizado en cadenas lineales de poliacrilamida (Sachdeva y Simm, 2011).

**Figura 1.** Esquematización de los diferentes reinos donde se ha descrito la presencia de proteínas DING. La barra intermedia representa la secuencia de aminoácidos conservados en las proteínas DING, tanto de procariontes como de eucariontes. La secuencia de aminoácidos D[I/V]NGGG en el extremo amino terminal de la proteína y la región de unión a fosfatos localizada entre los dos dominios globulares. Se cree que cercano al extremo carboxilo (CO) se encuentra(n) el(os) aminoácido(s) responsables de la capacidad para inhibir la replicación del virus VIH-1, agente causal del síndrome de la inmunodeficiencia humana.



Se ha descrito la secuenciación parcial de 52 proteínas de la familia DING; 20 son de origen animal, 11 se han obtenido de plantas, 16 provienen de procariontes, cuatro de hongos y una de algas (Berna *et al.*, 2008; Darbinian *et al.*, 2009; Bernier, 2013). La primera proteína DING que se describió se obtuvo de lipopartículas del plasma humano, y actualmente



se le conoce como HPBP (por sus siglas en inglés; Human Phosphate Binding Protein), además de que es la única proteína cuya secuencia de aminoácidos se ha obtenido en su totalidad (Diemer *et al.*, 2008).

Hasta la fecha, se han obtenido secuencias parciales de aminoácidos para proteínas DING a partir de 11 especies de plantas (Cuadro 1); no obstante, la primera secuencia de una proteína DING de vegetales se obtuvo en un estudio proteómico de la pared celular del frijol francés (Robertson *et al.*, 1997); sin embargo, como en ese entonces la superfamilia de las proteínas DING aún no se conocía, la proteína secuenciada en frijol no pudo ser relacionada con ninguna clase de proteínas. Posteriormente, éstas fueron redescubiertas en plantas en un estudio sobre las proteínas parecidas a la germina (GLPs, por sus siglas en inglés Germin Like Proteins). En ese estudio, el gen de la germina AtGER3 de *Arabidopsis thaliana* fue sobreexpresado en plantas de tabaco; la proteína heteróloga de 23 kDa fue copurificada de manera estable con una proteína de 40 kDa. La secuenciación de los primeros 28 aminoácidos del extremo amino terminal y de varios péptidos internos, mostró claramente que la proteína de 40 kDa pertenecía a la superfamilia de las proteínas DING (Perera *et al.*, 2008). Hasta el momento ninguna de las proteínas DING aisladas de plantas ha sido secuenciada completamente; esto se debe a que todas se han aislado como productos de proteólisis (péptidos). La proteólisis parece ser producto de un proceso autoproteolítico, dado que en la secuencia de la proteína HPBP sólo se ha encontrado un péptido blanco para la proteasa Xa, un factor de coagulación (Morales *et al.*, 2006). No obstante, y contrario a lo que se pudiera esperar, aún como fragmentos peptídicos, las proteínas DING muestran una actividad biológica importante.

En procariontes, las proteínas DING tienen un peso molecular de 40 kDa y hasta la fecha no se conocen precursores proteicos de mayor peso molecular que les den origen. En

contraste, en eucariontes, i.e., plantas, mediante inmunoblots y electroforesis desnaturante se ha determinado que las proteínas DING provienen de precursores de mayor peso molecular, y que su desnaturalización por calor resulta en un polipéptido de 40 kDa (Perera *et al.*, 2008).

**Cuadro 1.** Especies de plantas donde se ha detectado la presencia de proteínas DING. Modificado de Bernier (2013).

Especie	Origen de Proteína, DNA o cDNA	Actividad enzimática o función conocida	Referencia
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Fragmentos de DNA	No determinada	Bernier (2013)
<i>Brassica rapa</i>	Proteína de yemas florales	$\beta$ -esterasa	Zhang <i>et al.</i> (2010)
<i>Brassica oleracea</i>	Proteína de Inflorescencia	Parte del complejo de ribonucleoproteínas	Samaha <i>et al.</i> (2010)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Proteína extraída de suspensiones celulares	Proteína de pared celular	Robertson <i>et al.</i> (1997)
<i>Nicotiana tabacum</i>	Proteína de hojas	Ligando de la proteína parecida a germina	Perera <i>et al.</i> (2008)
<i>Ipomoea batatas</i>	Proteína de retoños	No determinada	Bernier (2013)
<i>Solanum tuberosum</i>	Proteína de tubérculo	No determinada	Bernier (2013)
<i>Triticum aestivum</i>	Proteína de Hojas	No determinada	Aviram y Rosenblat (2004)
<i>Hypericum perforatum</i>	Proteína extraída de callos celulares	Fosfatasa	Darbinian <i>et al.</i> (2009)
<i>Helianthus tuberosum</i>	Proteína de secreción de tubérculo	Toxicidad para células tumorales	Griffaut <i>et al.</i> (2007)
<i>Sesbania grandiflora</i>	Proteína de flor	Inhibidor de $\alpha$ -glucosidasa	Laladhas <i>et al.</i> (2010)
<i>Capsicum chinense</i>	Proteína de semilla	Fosfatasa	Datos no publicados

## Estructura de las proteínas DING y características de su dominio de unión de fosfatos

Sólo dos estructuras de proteínas DING han sido resueltas a nivel de cristalografía, la proteína PfluDING (Ahn *et al.*, 2007; Moniot *et al.*, 2007; Liebschner *et al.*, 2009) y la proteína HPBP (Morales *et al.*, 2006). Dada la alta conservación encontrada mediante la superposición del arreglo estructural y de la

secuencia de aminoácidos de ambas proteínas, en la actualidad se acepta que la estructura de las proteínas DING se ha conservado a través del proceso evolutivo (Berna *et al.*, 2009b). Las proteínas DING tienen una estructura de pliegue alargado compuesta de dos dominios globulares adyacentes, entre los cuales se forma un pliegue en forma de canal. Cada dominio está formado por un núcleo central de aminoácidos en arreglos laminares de tipo  $\beta$ , dicho arreglo es flanqueado a su vez por arreglos de aminoácidos en  $\alpha$ -hélice. Entre ambos arreglos hay establecido un enlace disulfuro, el cual en la proteína HPBP puede involucrar a las cisteínas C113-C158 o a C306-C359. Ambos dominios están interconectados por dos arreglos  $\beta$ -laminares antiparalelos que actúan como una bisagra. Los dos dominios forman una hendidura profunda en cuyo interior, con una elevada afinidad se asocia una molécula de fosfato. A dicha disposición estructural también se le conoce como «atrapamoscas de Venus» o «trampa de Venus». Es de resaltar que este arreglo estructural está presente en la familia de proteínas PstS (Felder *et al.*, 1999), así como en las seis que unen solutos (SBP, por sus siglas en inglés Solute Binding Proteins; Felder *et al.*, 1999).

Los análisis de la superposición estructural entre PfluDING y HPBP revelaron que las estructuras son tan parecidas que únicamente se pudieron detectar diferencias de 0.65 Å, en la comparación de 366 de sus carbonos alfa ( $C\alpha$ ) y que cuando ambas se comparan con la estructura parcialmente dilucidada de PstS de *Escherichia coli*, ambas mantienen diferencias de sólo 1.88 Å en 276 de sus carbonos  $\alpha$ . De hecho, las mayores diferencias entre las proteínas DING y PstS es la presencia de cuatro asas que sobresalen de los dominios globulares de las proteínas DING y los dos puentes disulfuro, los cuales están ausentes en PstS (Berna *et al.*, 2009b).

El análisis estructural reveló que en las proteínas DING el sitio de unión al fosfato se encuentra entre los dos dominios globulares, específicamente en la hendidura que se forma

entre ambos dominios. En dicha región se secuestra o captura un fosfato inorgánico, ya sea en forma libre o unido a moléculas organofosfatadas; la asociación de dicho ión induce importantes cambios conformacionales en la estructura de la proteína, pero aún se desconoce el significado biológico de tales cambios (Berna *et al.*, 2009a; Bernier, 2013). En la hendidura, el fosfato se encuentra estrechamente unido a la proteína a través de 12 puentes de hidrógeno establecidos con ocho residuos de aminoácidos, localizados en ambos lados de la hendidura. Los enlaces de hidrógeno más cortos (2.43 Å) involucran al átomo de oxígeno del fosfato [ $PO_4$ ] y al carboxilato de una cadena lateral del ácido aspártico (Wang *et al.*, 1997; Liebschner *et al.*, 2009). Los enlaces son de baja energía y son los únicos aceptores de hidrógeno en la hendidura de las proteínas DING. Aunque aún no se ha establecido de manera definitiva, se hipotetiza que el ácido aspártico 62 podría desempeñar una función clave en la especificidad de la unión del fosfato, puesto que sólo aceptaría especies protonadas de fosfato (Luecke y Quioco, 1990; Liebschner *et al.*, 2009). Con respecto a su afinidad por el ligando, HPBP une al fosfato con una afinidad nanomolar (Morales *et al.*, 2006), mientras que PfluDING tiene una afinidad en el rango micromolar (Scott y Wu, 2005) y PstS tiene afinidades de entre 0.34 y 1 micromolar (Berna *et al.*, 2009a). Esta diferencia de afinidades apoya la hipótesis de que las proteínas DING, como proteínas extracelulares, transfieren el fosfato a las proteínas PstS, dado que estas últimas están unidas a la célula (Berna *et al.*, 2009a).

El estudio particular de la mecánica de movimiento del dominio «atrapamoscas de Venus», mostró que remover el fosfato de tal sitio no es una tarea fácil, pero que, si por mutagénesis se ocasionan cambios en los aminoácidos involucrados en la unión del fosfato (Wang *et al.*, 1994; Berna *et al.*, 2009b), entonces se puede obtener el dominio en su conformación abierta. En contraste, mientras el ligando se encuentra unido, la estructura

adopta una conformación cerrada (Felder *et al.*, 1999). Tal cambio conformacional indica que la modificación en la conformación abierta-cerrada es un aspecto común en la función bioquímica de las proteínas DING. La expresión heteróloga de una forma truncada de PfluDING (carente del carboxilo terminal) en la que el sitio de unión a fosfato (flytrap) está totalmente abierto, mostró que la proteína resultante tiene importante actividad biológica, debido a que estimula la proliferación de fibroblastos humanos, y que tal actividad se potencia cuando el sitio de unión a fosfato (flytrap) se encuentra abierto (Ahn *et al.*, 2007).

### Actividades catalíticas de las proteínas DING

Con base en la homología de secuencia y la similitud de función, se sabe que en procariontes las proteínas DING forman parte de la superfamilia de proteínas que unen fosfato, y que incluye a: (i) las proteínas membranales o periplásmicas conocidas como PstS y que funcionan en coordinación con transportadores ABC, (ii) algunas fosfatasa alcalinas de bajo peso molecular solamente descritas en *Pseudomonas* y, (iii) las «verdaderas» proteínas DING, las cuales su extremo N-terminal inicia con la secuencia de aminoácidos DING y que originalmente se pensó estaban restringidas a *Pseudomonas* sp. (Berna *et al.*, 2008; Bernier, 2013). Las proteínas PstS y las fosfatasas alcalinas de bajo peso molecular son exclusivas de los organismos procariontes (Bernier, 2013), mientras que las proteínas DING bacterianas son una familia distinta, puesto que mantienen un parecido más estrecho con las proteínas DING purificadas de eucariontes.

Las proteínas DING en eucariontes han sido asociadas a diferentes funciones catalíticas (Darbinian *et al.*, 2009), la mayoría, si no es que todas ellas, de tipo hidrolítico, i.e. fosfatasas, fosfodiesterasas y nucleotidasas, proteasas y cutinasas (Tan y Worobec, 1993; Pantazaki *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2007; Bernier, 2013). En los procariontes existen evidencias que sugieren

que esta familia de proteínas tienen otras posibles funciones. En *Thermus thermophilus* se aisló una proteína DING, la cual posee actividades asociadas de fosfatasa alcalina, ATPasa y nucleasa (Pantazaki *et al.*, 2008). En *Sulfolobus solfataricus* se aisló una enzima tipo DING que posee actividad de poly-(ADP ribosa) polimerasa (Di Maro *et al.*, 2008).

Se ha especulado que algunas de las actividades observadas en dichas proteínas son el resultado de una actividad de esterasa no específica (Berna *et al.*, 2009b). No obstante tal diversidad de funciones enzimáticas descritas en las proteínas DING, la habilidad para unir y transportar fosfato es la característica común que comparten entre todas ellas (Liebschener *et al.*, 2009). Tal característica puede ser el resultado de la perfecta conservación del sitio de unión de fosfato, tal como ha sido revelado por los estudios de cristalografía (Bernier, 2013). La sorprendente diversidad de actividades enzimáticas observadas en las proteínas DING no tienen un precedente; sin embargo, esta característica puede ser explicada como el resultado de la formación de varios homo y hetero-oligómeros de las proteínas DING con otras proteínas, de esta forma, las proteínas DING podrían estar actuando como moléculas efectoras y reguladoras de las interacciones con otras enzimas. Esta propuesta se sustenta en la observación experimental que mostró que la paraoxonasa del plasma sanguíneo es estabilizada por HPBP (Rochu *et al.*, 2007; Bernier, 2013). Adicionalmente, las proteínas DING de eucariontes frecuentemente se encuentran como isoformas de diferente tamaño (Berna *et al.*, 2009a). Cada isoforma podría poseer actividades enzimáticas intrínsecas o modular las actividades de proteínas oligoméricas, tal como ocurre con las «microproteínas», las cuales actúan como supresores dominantes negativos de la función de complejos proteicos mayores o de factores de transcripción (Seo *et al.*, 2011; Staudt y Wenkel, 2011).

## Importancia fisiológica de las proteínas DING y contradicciones acerca de su función

La presencia de las proteínas DING en humanos se asocia con el desarrollo de enfermedades como la artritis reumatoide, el cáncer de mama y la caquexia asociada al cáncer (Renault *et al.*, 2006; Berna *et al.*, 2009a); sin embargo, muy poca correlación se ha visto entre las propiedades catalíticas de las proteínas DING y la inducción de la enfermedad, debido a que el inicio de estas enfermedades es el resultado de varios desórdenes fisiológicos que resultan en complejas interacciones multifactoriales (Berna *et al.*, 2009a; Bernier, 2013). En contraste, se ha demostrado que la presencia de las proteínas DING protege a los humanos contra la arteriosclerosis, debido a que la proteína HPBP estabiliza a la proteína PON1, la cual es la protectora primaria contra la arteriosclerosis (Morales *et al.*, 2006; Bernier, 2013). En el desorden conocido como nefrolitiasis, la proteína DING, inhibidora de la adhesión a calcio (CAI, por sus siglas en inglés), se une de manera importante a los cristales de oxalato de calcio monohidratado, y con ello evita su adhesión a las paredes del epitelio de riñón y facilita su excreción en la orina (Kumar *et al.*, 2004).

En el caso de las proteínas DING descritas en plantas, recientemente se observó que los tubérculos heridos de *Helianthus tuberosum* excretan una proteína de 28 kDa con un amino terminal, relacionado a las proteínas DING y a la fosfatasa alcalina de *Pseudomonas* sp. Esta proteína se asocia estrechamente con una proteína de 18 kDa, la cual mostró actividad de superóxido dismutasa. En conjunto, ambas proteínas mostraron actividad citotóxica contra células tumorales de origen animal (Griffaut *et al.*, 2007).

El ejemplo más importante donde se ha demostrado el potencial terapéutico de las proteínas DING, se obtuvo con un fragmento de 263 aminoácidos denominado p27<sup>SJ</sup> aislado a

partir de *Hypericum perforatum*, también conocida como hierba de San Juan (Darbinian-Sarkissian *et al.*, 2006). Dicho polipéptido inhibió la expresión génica, así como la replicación de células infectadas con HIV-1, células de glioblastoma y glioma (Henderson y Calame, 1997). La inhibición de la replicación se registró después de que p27<sup>SJ</sup> interactuó con el factor de transcripción C/EBP $\beta$ , y lo mantuvo en el citoplasma celular, previniendo de esta forma la activación de los genes nucleares blanco de su regulación (Darbinian-Sarkissian *et al.*, 2006).

En pacientes de glioma, se ha visto que C/EBP $\beta$  está desregulado. La inhibición de C/EBP $\beta$  es consistente con las propiedades antiproliferativas de p27<sup>SJ</sup> observadas en las células del glioblastoma. Las proteínas C/EBP $\beta$  se requieren para la replicación del HIV-1 en macrófagos (Henderson y Calame, 1997). Por lo tanto, y con base en la inhibición del crecimiento de las células cancerígenas, así como de las células infectadas con el virus del HIV-1, se puede concluir que la proteína p27<sup>SJ</sup> tiene un potencial terapéutico muy interesante para el tratamiento del HIV-1, particularmente en las primeras etapas de infección de este virus.

El modelado de la interacción entre la forma truncada p27<sup>SJ</sup> y C/EBP $\beta$ , mostró que el sitio de interacción entre ambas proteínas ocurre en el sitio de unión de fosfatos, lo que sugiere que la capacidad para modular la actividad transcripcional de estas proteínas está asociada con su capacidad de unión a fosfato (Darbinian-Sarkissian *et al.*, 2006). La secuenciación de aminoácidos de p27<sup>SJ</sup> reveló que el polipéptido se deriva de la proteína CHP-10, la cual tiene una masa molecular de 39 kDa y un extremo amino terminal idéntico a las proteínas DING (Khalili y Sarkissian, 2003). A partir de la secuencia de aminoácidos, se diseñaron iniciadores de DNA con la intención de clonar el cDNA que codifica a la proteína completa. La clona más grande codifica un polipéptido de 27 kDa truncado en el extremo carboxilo terminal.

En otro estudio, la expresión heteróloga de una versión truncada de la proteína p27<sup>SJ</sup> presentó actividad de fosfatasa y ésta abate el nivel de fosforilación de la ERK1/2. En consecuencia, Erk1/2 pierde capacidad para fosforilar sustratos ubicados corriente abajo en su ruta de transducción de señales; STAT3, CREB y la ciclina A se afectan de forma dramática. La modificación de las actividades catalíticas y/o regulatorias de dichas proteínas impacta de forma directa el ciclo celular, reduciendo la división celular (Darbinian *et al.*, 2009). En eucariontes, la proteína p27<sup>SJ</sup> es la segunda caracterizada en la familia DING; su interacción con los factores de transcripción y su efecto sobre el ciclo celular, son los mecanismos mediante los cuales inhibe el crecimiento de ciertos tipos de células tumorales y abate la replicación viral (Darbinian *et al.*, 2009). Sin embargo, es importante caracterizar bioquímicamente las actividades catalíticas y los mecanismos que regulan las funciones biológicas de otras proteínas DING.

En mamíferos es bien conocido que la ingesta frecuente de etanol causa muerte neuronal a través del estrés oxidativo y que tal evento produce serios daños físicos, cognitivos e intelectuales (Watts *et al.*, 2005). Es por ello que es necesario encontrar alternativas naturales que activen los mecanismos de defensa celulares que prevengan la oxidación de los componentes fundamentales de la célula. Es bien conocido que en los sistemas vegetales existe una amplia batería de compuestos, tanto del metabolismo primario como secundario, i.e., flavonoides, fenoles, glutatión, etc., mismos que pueden actuar en la prevención de los fenómenos de oxidación celular. En este sentido, Amini *et al.* (2009) describieron que una proteína DINGG denominada p38<sup>SJ</sup>, obtenida de *Hypericum perforatum* protegió a las células neuronales contra el daño oxidativo causado por el abuso del alcohol, de tal forma que las proteínas DING podrían considerarse como una potencial alternativa para prevenir/reducir el daño celular causado por la producción celular excesiva de especies reactivas de oxígeno.

Durante varios años, nuestro grupo ha estado interesado en identificar y estudiar proteínas de origen vegetal con actividad biológica, y que puedan ser la base para el desarrollo de antimicrobianos naturales o de agentes con propiedades antitumorales y anticancerígenas (Islas-Flores *et al.*, 2005; Brito-Argáez *et al.*, 2009; Moguel-Salazar *et al.*, 2011). A partir de nuestro interés y del trabajo desarrollado en *Capsicum chinense* Jacq., aislamos una fracción proteica denominada G10P1.7.57 que contiene una proteína DING. La secuencia de aminoácidos para algunos de los péptidos de esta proteína ha sido determinada, y creemos que la caracterización bioquímica y molecular de la misma permitirá obtener información acerca de los mecanismos de regulación y de sus propiedades catalíticas. Además, esta información es importante para entender a las proteínas DING en su actividad antimicrobiana en *C. chinense*.

## Perspectiva sobre las aplicaciones biotecnológicas potenciales de las proteínas DING

Los reportes recientes revelan la importancia biológica y el potencial biotecnológico de la familia de proteínas DING, pero debido al escaso conocimiento que aún se tiene sobre ellas, es que su estudio resulta de gran relevancia científica. Por ejemplo, en el mundo hay decesos frecuentes debido a desórdenes relacionados con el cáncer (Ferlay *et al.*, 2013), y aunque la tasa es variable y dependiente de factores tanto genéticos (Belenky *et al.*, 2003) como ambientales (Bray *et al.*, 2013), i.e., la localización geográfica de las ciudades, los grupos étnicos, la edad, las actividades industriales de las áreas y la alimentación, entre otras. Es claro también que la cura para tal desorden no radica en encontrar o diseñar un medicamento alopático único, porque en la aparición de los diferentes tipos de cáncer no parece haber un elemento común que actúe como gatillo y que a través de él se originen las células malignas. Además, los resultados obtenidos con las estrategias de cura

de tipo químico (quimioterapia) o radiológica (radioterapia), en muchas ocasiones tienen más efectos colaterales adversos en contraste con el beneficio. Por otra parte, el uso de compuestos naturales como agentes preventivos contra la aparición de cáncer es una práctica ampliamente extendida, usualmente por factores culturales (i.e., los asiáticos consumen altas cantidades de soya, la cual contiene altas concentraciones de isoflavonoides, compuestos que se ha visto inhiben la aparición de cáncer). La genisteína, uno de los isoflavonoides más abundantes en soya, se conoce que es inhibidor de las cinasas de tirosina, proteínas involucradas en la regulación de las rutas de señalización que transducen las señales mitogénicas mediadas por los factores de crecimiento (Yu *et al.*, 2013). Si bien las terapias preventivas atenúan la posibilidad de la aparición de cáncer, no hay garantía de que dicho desorden no aparecerá, de tal forma que la búsqueda de procedimientos alternos o complementarios para inhibir el desarrollo de la enfermedad son totalmente válidos.

Ciertos tipos de cáncer se presentan como consecuencia de infecciones virales (i.e., leucemias, y osteosarcomas), por lo que es deseable encontrar estrategias que prevengan la infección viral y en caso de no ser posible, entonces de implementar estrategias para contener la replicación viral. En este sentido, las proteínas DING representan una alternativa biotecnológica interesante, particularmente la proteína de origen vegetal denominada como p27<sup>SJ</sup>, dado que se ha demostrado su habilidad para interactuar físicamente o funcionalmente con varias proteínas regulatorias, incluyendo C/EBP $\beta$  y la RNA polimerasa II, y con ello modular la expresión de los genes virales y celulares (Perera *et al.*, 2008). Mediante construcciones moleculares que incluían la secuencia parcial de cDNA de p27<sup>SJ</sup> y su sobreexpresión en células animales, se encontró que p27<sup>SJ</sup> o p38<sup>SJ</sup> modifican la señalización y la proliferación celular a través de la hipofosforilación de la cinasa ERK1/2 (Darbinian *et al.*, 2009; Bookland *et al.*, 2012). Estudios en la línea celular maligna

U-87MG (glioma humano) demostraron la habilidad de p27<sup>SJ</sup> para inhibir la síntesis de la ciclina A a través de la modulación de ERK1/2 y, por lo tanto, inhibir la progresión del ciclo celular en la fase S y G2 (Darbinian *et al.*, 2009; Bookland *et al.*, 2012).

Los gliomas malignos son tumores cerebrales altamente agresivos con una pobre prognosis dado que son altamente invasivos, frecuentemente incurables y resistentes a la quimioterapia y la radioterapia (Bookland *et al.*, 2012). Por lo tanto, se requiere de nuevas terapias cuyo blanco sean las rutas involucradas en el crecimiento y sobrevivencia de las células tumorales, con el fin de tratar esta clase de tumores cerebrales. Estudios previos (Darbinian *et al.*, 2009) revelaron que los receptores del factor de crecimiento epidérmico y las cinasas reguladas por factores extracelulares (ERKs), las cuales están involucradas en la inducción de la proliferación celular están activadas en los tipos de glioma más agresivos (i.e. glioblastoma multiforma o GBM); de hecho, GBMs con niveles aumentados de actividad de ERK, exhiben fenotipos más agresivos que otros con actividades moderadas de ERKs, resaltando con ello la importancia de ERKs y su actividad de cinasa en el desarrollo y progresión de esa clase de tumores (Bookland *et al.*, 2012). La evaluación del efecto de p38<sup>SJ</sup> en el crecimiento de las líneas celulares malignas de glioma T98G y U-87MG, mostró que p38<sup>SJ</sup>, a través de su actividad de fosfatasa, afectó el estado de fosforilación de varias cinasas importantes en la modulación de las rutas del crecimiento celular y la proliferación, y que con ello redujo la viabilidad del glioma y detuvo la progresión del ciclo celular en G0/G1. La inhibición del crecimiento resultó de la disminución de la actividad de proteínas clave del ciclo celular, incluyendo a la ciclina E, Cdc2 y E2F-1. Esos resultados sugieren que p38<sup>SJ</sup> puede considerarse como un potencial candidato para el desarrollo de un agente terapéutico para el tratamiento directo de los gliomas malignos, o como un radiosensibilizador previo a la aplicación de la radioterapia (Bookland *et al.*, 2012).

En el caso de las infecciones con el virus HIV-1, agente causal del síndrome de la inmunodeficiencia humana, el tratamiento de esta infección viral se realiza mediante la combinación de terapia anti-retroviral (cART, por sus siglas en inglés), medicamentos que inhiben la entrada del virus a nuevas células o que inhiben la retrotranscripción del genoma viral, impidiendo así su integración al genoma del hospedante, o medicamentos que impiden la maduración de las proteínas virales (Suh *et al.*, 2013). El tratamiento en conjunto es efectivo en reducir la carga viral, pero no consigue la erradicación total del virus, por lo que la posibilidad de mutación viral y la adquisición de resistencia al tratamiento continúan siendo una preocupación y un reto de salud (Colgrove y Japour, 1999; Shafer *et al.*, 2008; Domingo y Vidal, 2011; Suh *et al.*, 2013). Es en este sentido que las proteínas DING podrían ser empleadas como una estrategia complementaria de curación debido a su capacidad para actuar como reguladores de la transcripción en humanos (Suh *et al.*, 2013) y en particular como proteínas que inhiben la replicación del VIH-1 a través del secuestro de los factores de transcripción esenciales para la retrotranscripción viral. Se están realizando esfuerzos sustanciales para el desarrollo de p27<sup>SJ</sup> y p38<sup>SJ</sup> recombinantes para destinarlos al combate del VIH-1 principalmente, pero las proteínas resultantes, ya sea truncadas o en forma de péptidos, podrían también ser activos contra los glioblastomas y otros tipos de tumores (Bookland *et al.*, 2012).

Por último, la comparación estructural *in silico* de las proteínas DING de procariontes PA14DING y pfluDING, mostró que ambas tienen un 74% de identidad a nivel de secuencia primaria de aminoácidos y que, sin embargo, a nivel de estructura terciaria sólo se pueden detectar unas pocas diferencias a nivel de tres asas externas, denominadas a, b y c, respectivamente. Tales diferencias son en solo 5, 6 y 15 aminoácidos, de acuerdo al orden mencionado para las asas. Esas pequeñas diferencias de aminoácidos parecen ser

fundamentales para la regulación de la actividad inhibitoria de la transcripción del VIH-1, de tal forma que es posible sugerir que esas pequeñas regiones de péptidos podrían ser utilizadas como farmacóforos dirigidos al tratamiento de la infección por VIH-1 o de tumores, y que debido a su pequeño tamaño, tales péptidos podrían tener una mejor cinética de absorción y de estabilidad, dado que serían poco susceptibles a la degradación por proteasas (Suh *et al.*, 2013).

En lo que respecta a la proteína DING obtenida a partir de chile habanero (*C. chinense*), esta también ha mostrado actividad de fosfatasa y de manera interesante tiene actividad citotóxica contra microorganismos bacterianos, fúngicos y líneas humanas de tipo tumoral, pero aún falta explorar su selectividad y su potencia (datos no mostrados). Si bien estos hallazgos pueden definirse como preliminares, también permiten ver que *C. chinense* podría ser una fuente aún no explorada para la obtención de esta familia de proteínas, cuya posibilidad de aplicación más clara es el área médica, pero que podría tener aristas importantes orientadas a la protección agrícola, un área a la que poca atención se ha prestado. Es claro que las plantas también son blanco de agentes fitopatógenos, i.e., virus, bacterias, hongos, etc., mismos que las diezman, ya sea de forma simultánea o separada.

Se conoce que durante el proceso infeccioso los patógenos desarrollan estrategias generales de colonización que pueden ser comunes, tanto en la infección de células animales como vegetales, i.e., la inserción de virus de DNA o retrovirus en el genoma, la colonización fúngica y la infección bacteriana (Haldar *et al.*, 2006). Bajo esta perspectiva, las proteínas DING también podrían ser utilizadas para el combate de dichos fitopatógenos. Es por ello que en el grupo de trabajo, además de estudiar las propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antitumorales de la proteína DING, también hemos estado intentando clonar el cDNA que en chile habanero codifica a la proteína DING de esta especie. Si bien, los resultados de la

clonación no han sido los esperados, sí creemos que la expresión en sistemas heterólogos, i.e., levadura, células de insecto o bacteria, del cDNA que codifica a la proteína DING será benéfica, dado que permitirá obtenerla en mayor cantidad con el objetivo de realizar los estudios pertinentes que permitan demostrar su potencial como biocidas agrícolas. Es claro que la clonación y la expresión heteróloga de la proteína DING de chile habanero o de cualquier planta es un reto intelectual y técnico, pero que la expresión heteróloga de este tipo de proteínas, por su potencial médico y biotecnológico, representa una posibilidad estratégica de explotación que no debe dejarse de lado.


## Agradecimientos

Se agradece a CONACYT por el financiamiento al proyecto Núm. CB 2010/157135 y del cual este trabajo forma parte.

## Literatura citada

- AHN, S., S. Moniot, M. Elias, E. Chabriere, D. Kim, K. Scott. 2007. Structure-function relationships in bacterial DING protein. *FEBS Letters* 581: 3455-3460.
- AMINI, S., N. Merabova, K. Khalili, N. Darbinian. 2009. P38S<sub>J</sub>, a novel DINGG protein protects neuronal cells from alcohol induced injury and death. *Journal of Cellular Physiology* 221: 499-504.
- AVIRAM, M., M. Rosenblat. 2004. Paraoxonase 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radical Biology and Medicine* 37:1304-1316.
- BALL, G., V. Viarre, S. Garvis, R. Voulhoux, A. Filloux. 2012. Type II-dependent secretion of a *Pseudomonas aeruginosa* DING protein. *Research in Microbiology* 163: 457-469.
- BELENKY, M., J. Prasain, H. Kim, S. Barnes. 2003. DING a genistein target in human breast cancer: a protein without a gene. *Journal of Nutrition* 133: 2497S-2501S.
- BERNA, A., F. Bernier, E. Chabriere, M. Elias, K. Scott, A. Suh. 2009a. For whom the bell tolls? DING proteins in health and disease. *Cellular and Molecular Life Sciences* 66: 2205-2218.
- BERNA, A., F. Bernier, E. Chabriere, T. Perera, K. Scott. 2008. DING proteins: novel members of a prokaryotic phosphate-binding protein superfamily which extends into the eukaryotic kingdom. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 40: 170-175.
- BERNA, A., K. Scott, E. Chabriere, F. Bernier. 2009b. The DING family of proteins: ubiquitous in eukaryotes, but where are the genes? *BioEssays* 31: 570-580.
- BERNIER, F. 2013. DING proteins: numerous functions, elusive genes, a potential for health. *Cellular and Molecular Life Sciences* 70: 3045-3056.
- BOOKLAND, M., N. Darbinian, M. Weaver, S. Amini, K. Khalili. 2012. Growth inhibition of malignant glioblastoma by DING protein. *Journal of Neuro-oncology* 107: 247-256.
- BUSH, D., H. Fritz, C. Knight, J. Mount, K. Scott. 1998. A hirudin-sensitive, growth-related proteinase from human fibroblast. *Journal of Biological Chemistry* 379: 225-229.
- BRAY, F., J. S. Ren, E. Masuyer, J. Ferlay. 2013. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *International Journal of Cancer* 132: 1133-1145.
- BRITO-ARGÁEZ, L., F. Moguel-Salazar, F. Zamudio, T. González-Estrada, and I. Islas-Flores. 2009. Characterization of a *Capsicum chinense* seed peptide fraction with broad antibacterial activity. *Asian Journal of Biochemistry* 4(3): 77-87.
- BOOKLAND, M. J., N. Darbinian, M. Weaver, S. Amini, K. Khalili. 2012. Growth inhibition of Malignant glioblastoma by DING protein. *Journal of Neuro-oncology* 107: 247-256.
- CHEN, Z., C. F. Franco, R. P. Baptista, J. M. Cabral, A. V. Coelho, C. J. Rodrigues, E. P. Melo. 2007. Purification and identification of cutinases from *Colletotrichum kahawae* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 73: 1306-1313.
- COLGROVE, R., A. Japour. 1999. A combinatorial ledge: reverse transcriptase fidelity, total body viral burden, and the implications of multiple-drug HIV therapy for the evolution of antiviral resistance. *Antiviral Research* 41: 45-56.
- DARBINIAN, N., M. Czernik, A. Darbinian, M. Elias, E. Chabriere, S. Bonasu, K. Khalili, and S. Amini. 2009. Evidence for phosphatase activity of p27<sup>S<sub>J</sub></sup> and its impact on the cell cycle. *Journal of Cellular Biochemistry* 107: 400-407.
- DARBINIAN-SARKISSIAN, N. A. Darbinian, J. Otte, S. Radhakrishnan, B. E. Sawaya, A. Arzumanyan, G. Chispitsyna, Y. Popov, J. Rappaport, S. Amini, K. Khalili. 2006. P27<sup>S<sub>J</sub></sup>, a novel protein in St John's Wort, that suppresses expression of HIV-1 genome. *Gene Therapy* 13: 288-295.
- DI MARO, A., A. De Maio, S. Castellano, A. Parente, B. Farina, M. R. Faraone-Menella. 2008. The ADP-ribosylating thermozyyme from *Sulfolobus solfataricus* is a DING protein. *Journal of Biological Chemistry* 390: 27-30.
- DIEMER, H., M. Elias, F. Renault, D. Rochu, C. Contreras-Martel, C. Schaeffer, A. Van Dorsselaer, E. Chabriere. 2008. Tandem use of X-ray crystallography and mass spectrometry to obtain ab initio the complete and exact amino acids sequence of HPBP, a human 38-kDa apolipoprotein. *Protein Structure Function Bioinformatics* 71: 1708-1720.
- DOMINGO, P., F. Vidal. 2011. Combination antiretroviral therapy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 12: 995-998.
- FELDER, C. B., R. C. Gaul, A. Y. Lee, H. P. Merkle, W. Sadee. 1999. The venus flytrap of periplasmic binding proteins: an ancient protein module present in multiple drug receptors. *AAPS PharmSci* 1: E2.
- FERLAY, J., I. Soerjomataram, M. Ervik, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, M. D. Parkin, D. Forman, F. Bray. 2013. GLOBOCAN 2012 v1.0, cancer incidence and mortality worldwide: IARC cancerbase No. 11 (internet). Lyon, France: *International Agency for Research on Cancer*. Available from <http://globocan.iarc.fr>
- GRIFFAUT, B., E. Debiton, J. C. Madelmont, J. C. Mauriziz, G. Ledoigt. 2007. Stressed *Jerusalem artichoke* tubers (*Helianthus tuberosus* L.) excrete a protein fraction with specific cytotoxicity on plant and animal tumour cell. *Biochimica et Biophysica Acta* 1170: 1324-1330.
- HADDAR, A., A. Bougateg, R. Agrebi, A. Sellami-Kamoun, M. Nasri. 2009. A novel surfactant-stable alkaline serine-protease from a newly isolated *Bacillus mojavensis* A21. Purification and characterization. *Process Biochemistry* 44: 29-35.



- HAIN, N. A., B. Stuhlmüller, G. R. Hahn, J. R. Kalden, R. Deutzmann, G. R. Burnester. 1996. Biochemical characterization and microsequencing of a 205-kDa synovial protein stimulatory for T cells and reactive with rheumatoid factor containing sera. *Journal of Immunology* 157: 1773-17780.
- HALDAR, K., S. Kamoun, N. L. Hiller, S. Bhattacharje, C. Van Ooij. 2006. Common infection strategies of pathogenic eukaryotes. *Nature Reviews Microbiology* 4: 922-931.
- HENDERSON, A.J., K. L. Calame. 1997. CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) sites are required for HIV-1 replication in primary macrophages but not CD4(+) T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94: 8714-8719.
- ISLAS-FLORES, I., Y. Minero García, y C. James. 2005. Proteínas contra las infecciones de las plantas. *Ciencia* 56: 64-74.
- KHALILI, K., N. Sarkissian. 2003. Antiproliferative protein from *Hypericum perforatum* and nucleic acids encoding the same. US patent 60/376,996.
- KUMAR, V., S. Yu, G. Farrell, F. G. Toback, J. C. Lieske. 2004. Renal epithelial cells constitutively produce a protein that blocks adhesion of crystals to their surface. *American Journal of Physiology* 287: F373-F383.
- LALADHAS, K. P., V. T. Cheriyan, V. T. Puliappadamba, S. V. Bava, R. G. Unnithan, P. L. Vijayammal, R. J. Anto. 2010. A novel protein fraction from *Sesbania grandiflora* shows potential anticancer and chemopreventive efficacy, *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 14: 636-646.
- LAMARTINIÈRE, C. A., J. B. Moore, N. M. Brown, R. Thompson, M. J. Hardin, S. Barnes, 1995. Genistein suppresses mammary cancer in rats. *Carcinogenesis* 16: 2833-2840.
- LEWIS, P. A., and D. Crowther. 2005. DING proteins are from *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology* 252: 215-222.
- LIEBSHNER, D., M. Elias, S. Moniot, B. Fournier, K. Scott, C. Jelsch, C. Leconte, E. Chabriere. 2009. Elucidation of the phosphate binding mode of DING proteins revealed by subangstrom X-ray crystallography. *Journal of the American Chemical Society* 131: 7879-7886.
- LUECKE, H., F. A. Quijcho. 1990. High specificity of a phosphate transport protein determined by hydrogen bonds. *Nature* 347: 402-406.
- MOGUEL-SALAZAR, F., L. Brito-Argáez, M. Díaz-Brito, and I. Islas-Flores. 2011. A review of a promising therapeutic and agronomical alternative: antimicrobial peptides from *Capsicum* sp. *African Journal of Biotechnology* 10(8): 19918-19928.
- MONIOT, S., M. Elias, D. Kim, K. Scott, E. Chabriere. 2007. Crystallization, diffraction data collection and preliminary crystallographic analysis of DING protein from *Pseudomonas fluorescens*. *Acta Crystallographica F* 63: 590-592.
- MORALES, R., A. Berna, P. Carpentier, C. Contreras-Martel, F. Renault, M. Nicodeme, M. L. Chesne-Seck, F. Bernier, J. Dupuy, C. Schaeffer, H. Diemer, A. Van-Dorsselaer, J. C. Fontecilla-Camps, P. Masson, P. Rochu, E. Chabriere. 2006. Serendipitous discovery and X-ray structure of a human phosphate binding apolipoprotein. *Structure* 14: 601-609.
- PANTAZAKI, A. A., G. P. Tsolkas, D. A. Kyriakidis. 2008. A DING Phosphatase in *Thermus thermophilus*. *Amino acids* 34: 437-448.
- PERERA, T., A. Berna, K. Scott, C. Lemaitre-Guillier, F. Bernier. 2008. Proteins related to St. John's Wort p27<sup>SJ</sup>, a suppressor of HIV-1 expression, are ubiquitous in plants. *Phytochemistry* 69: 865-872.
- RENAULT, F., E. Chabriere, J.P. Andrieu, B. Dublet, P. Masson, D. Rochu. 2006. Tandem purification of two HDL-associated partner proteins in human plasma, paraoxonase (PON1) and phosphate binding protein (HPBP) using hydroxyapatite chromatography. *Journal of Chromatography B* 836: 15-21.
- ROBERTSON, D., G. P. Mitchell, J. S. Gilroy, C. Gerrish, G. P. Bolwell, A. R. Slabas, 1997. Differential extraction and protein sequencing reveals major differences in patterns of primary cell wall proteins from plants. *Journal of Biological Chemistry* 272: 15841-15848.
- ROCHU, D., F. Renault, C. Clery-Barraud, E. Chabriere, P. Masson. 2007. Stability of highly purified human paraoxonase (PON1): association with human phosphate binding protein (HPBP) is essential for preserving its active conformation(s). *Biochimica et Biophysica Acta* 1774:874-883.
- SACHDEVA, R., M. Simm. 2011. Application of linear polyacrylamide coprecipitation of denaturated templates for PCR amplifications of ultra-rapidly reannealing DNA. *Biotechniques* 50: 217-219.
- SAMAHA, H., V. Delorme, F. Pontvianne, R. Cooke, F. Delalande, A. Van Dorsselaer, M. Echeverria, J. Saez-Vasquez. 2010. Identification of protein factors and U3 snoRNAs from *Brassica oleracea* RNP complex involved in the processing of pre-rRNA. *Plant Journal* 61: 383-398.
- SCOTT, K., L. Wu. 2005. Functional properties of a recombinant bacterial DING protein: comparison with homologous human protein. *Biochimica et Biophysica Acta* 1744: 234-244.
- SEO, P. J., S. G. Hong Kim, C. M. Park. 2011. Competitive inhibition of transcription factors by small interfering peptides. *Trends in Plant Sciences* 16: 541-549.
- SHAFER, R. W., J. M. Schapiro. 2008. Drug Resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. *AIDS Review* 10: 67-84.
- STAUDT, A. C., S. Wenkel. 2011. Regulation of protein function by "microProteins". *EMBO Reports* 12: 35-42.
- SUH, A., V. Le Douce, O. Rohr, C. Schwartz, and K. Scott. 2013. *Pseudomonas* DING proteins as human transcriptional regulators and HIV-1 antagonists. *Virology Journal* 10: 234-242.
- TAN, A. S., E. A. Worobec. 1993. Isolation and characterization of two immunochemically distinct alkaline phosphatases from *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiology Letters* 106: 281-286.
- TODOROV, W. K., S. M. Wyke, M. J. Tisdale. 2007. Identification and characterization of a membrane receptor for proteolysis-inducing factor on skeletal muscle. *Cancer Research* 67: 11419-11427.
- WANG, Z., A. Choudhary, P.S. Ledvina, F. A. Quijcho. 1994. Fine tuning the specificity of the periplasmic phosphate transport receptor. Site-directed mutagenesis, ligand binding, and crystallographic studies. *Journal of Biological Chemistry* 269: 25091-25094.
- WANG, Z., H. Luecke, N. Yao, F. A. Quijcho. 1997. A low energy short hydrogen bond in very high resolution structures of protein receptor-phosphate complexes. *Natural Structural and Molecular Biology* 4:519-522.
- WATTS, L. T., M. L. Rathinam, S. Schenker, and G. I. Henderson. 2005. Astrocytes protect neurons from ethanol-induced oxidative stress and apoptotic death. *Journal of Neuroscience Research* 80: 655-666.
- YANG, J., B. Xie, Q. Yang. 2012. Purification and characterization of a nitroreductase from the soil bacterium *Streptomyces mirabilis*. *Process Biochemistry* 47: 720-724.
- YU, S., H. Huang, A. Liuk, W. H. Wang, K. B. Javasundera, W.A. Tao, C.B. Post, R.L. Geahlen. 2013. SyK inhibits the activity of protein kinase A by phosphorylating tyrosine 330 of the catalytic subunit. *Journal of Biological Chemistry* 288(15): 10870-10881.
- ZHANG, S. L., L. G. Zhang, M.K. Zhang, M. X. Hui. 2010. Sequence analysis of beta-esterase isoenzymes related to fertility change-over in TsCMS7311 of chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. pekinensis). *African Journal Biotechnology* 9: 8833-8836. 

Este artículo es citado así:

Brito-Argáez, L., M. Chí-Poot, R. Uc-Ku, J. A. Tamayo-Sansores, D. Madera-Piña, I. Islas-Flores. 2014. Las proteínas DING, una familia con intrigantes funciones celulares. *TECNOCENCIA Chihuahua* 8(1): 17-29.

## Resumen curricular del autor y coautores

**LIGIA GUADALUPE BRITO ARGÁEZ.** Terminó su licenciatura en 1997, en 1999 le fue otorgado el título de Químico Biólogo Bromatólogo por la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). Realizó su posgrado en el Instituto Tecnológico de Mérida (ITM), donde obtuvo el grado de Maestra en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología. Desde 1998 labora en el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) y posee la categoría de Técnico Académico Titular C. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde el 2009 (candidato 2009-2012; Nivel 1 2013-2015). Su área de especialización es la Bioquímica de plantas y la interacción con patógenos. Ha co-dirigido 6 tesis de licenciatura. Es autora principal o co-autora de 14 publicaciones en revistas arbitradas, 1 libro, 2 capítulos de libro, 1 revista de divulgación, ha participado en 56 trabajos presentados en congresos nacionales e internacionales y ha participado en 7 proyectos de investigación financiados por fuentes externas.

**MARTHA CHÍ POOT.** Egresó en 2012 de la carrera en Ingeniería en Industrias Alimentarias, impartida en el Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, Campeche (ITESCAM). Actualmente realiza su trabajo de tesis de Licenciatura en el Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. (CICY), en las instalaciones de la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas.

**RITA RAMONA UC KU.** Egresó en 2013 de la carrera de Ingeniería Bioquímica que se imparte en el Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, Campeche (ITESCAM). Actualmente se encuentra realizando su trabajo de tesis de Licenciatura en el Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., en la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas.

**JOSÉ AARÓN TAMAYO SANSORES.** Terminó su Licenciatura en 2012, año en el que le fue otorgado el título de ingeniero Bioquímico por el Instituto Tecnológico de Mérida. Actualmente cursa sus estudios de Maestría en el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), en la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas (UBMMP). Realizó dos estancias de iniciación a la investigación en el 2013, en los periodos febrero-junio y agosto-diciembre del mismo año. En el año 2011 fue co-autor de un artículo científico titulado Caracterización preliminar de la Polifenoloxidasasa en el Gel de Sábila (*Aloe barbadensis* Mill).

**DIANELI DE JESÚS MADERA PIÑA.** Egresada en 2010 de la Licenciatura en Ingeniería Bioquímica con Especialidad en Biotecnología e impartida por el Instituto Tecnológico de Mérida. Se graduó como ingeniero bioquímico en el 2011. De febrero de 2012 a enero de 2013 laboró en la planta congeladora MSCBJ SEAFOOD'S S.A DE C.V., en el área de control de calidad. Durante este periodo se logró ante COFEPRIS la certificación de la planta para la exportación de "Camarón Congelado" a países de la Comunidad Europea. Actualmente es estudiante de la Maestría en Ciencias Biológicas que oferta el Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., opción Bioquímica y Biología Molecular de Plantas.

**IGNACIO RODRIGO ISLAS FLORES.** Licenciado en Biología en 1988 por la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Estudio la Maestría en Biotecnología Vegetal en el Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., en colaboración con el Instituto Tecnológico de Mérida, se graduó en 1994. Realizó sus estudios de Doctorado en Ciencias y Biotecnología de Plantas en el Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., se graduó en 1998. Labora desde 1994 en el Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., donde actualmente es investigador titular C. Es autor principal o co-autor en 26 artículos de investigación publicados en revistas internacionales con arbitraje estricto. Es autor principal o coautor de cinco capítulos publicados en libros de circulación internacional. Es autor de 10 artículos de divulgación publicados en revistas nacionales y de tres artículos publicados en revistas indizadas por el CONACYT. Pertenece al SNI, nivel I de 2002-2017. Ha dirigido 12 tesis de Licenciatura, 6 tesis de Maestría, 3 de Doctorado. Ha sido responsable técnico de 6 proyectos de investigación y participante en tres. Ha presentado trabajos en 105 congresos, tanto nacionales como internacionales.

# Aspectos relevantes sobre la bioquímica y la fisiología del hierro en plantas

## Relevant aspects of the biochemistry and physiology of iron in plant

JAIME MIGUEL ORTEGA-MALDONADO<sup>1</sup>, DÁMARIS LEOPOLDINA OJEDA-BARRIOS<sup>1,2</sup>, JAIME JAVIER MARTÍNEZ-TÉLLEZ<sup>1</sup>, ADRIANA HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ<sup>1</sup>, TERESITA DE JESÚS RUIZ-ANCHONDO<sup>1</sup>, Y DALILA JACQUELINE ESCUDERO-ALMANZA<sup>1</sup>

*Recibido: Diciembre 13, 2012*

*Aceptado: Abril 30, 2013*

### Resumen

La presencia de suelos calcáreos provoca la deficiencia de Hierro (Fe) en las plantas, por consecuencia, se provoca un mal funcionamiento de la planta, ya que la fotosíntesis requiere del Fe para sintetizar los foto-elaborados; también, la deficiencia de Fe modifica la arquitectura física de la hoja y se observa un mesófilo con estructura irregular, provocando que la apertura de estomas no sea eficiente, evitando así la asimilación de CO<sub>2</sub> y una falta de aprovechamiento de la humedad absorbida por la planta. La deficiencia de Fe inducida es un gran problema que afecta el rendimiento y la calidad de diversos cultivos. Las plantas han evolucionado estrategias multifacéticas, como la actividad quelato reductasa, la extrusión de protones y proteínas especializadas de almacenamiento, a fin de movilizar el Fe del ambiente y distribuirlo a través de la planta. Varias cuestiones relativas a la homeostasis del Fe en las plantas son actualmente estudiadas intensamente debido a su papel fundamental en la productividad de las plantas. La activación de las reacciones de absorción del Fe requiere una adaptación general del metabolismo primario porque estas actividades necesitan el constante suministro de sustratos energéticos. En los suelos calcáreos puede haber suficiente Fe pero no está disponible para las raíces. El presente escrito pone a consideración aspectos relevantes sobre la bioquímica y fisiología de las plantas.

**Palabras clave:** deficiencia de hierro, adquisición de hierro, clorosis férrica, cloroplastos.

### Abstract

The presence of calcareous soils cause iron (Fe) deficiency in plants, consequently malfunctioning of the plant is raised, since photosynthesis requires Fe to complete the process. Fe deficiency also modifies the physical architecture of the leaf, Fe deficiency also alters the physical architecture of the leaf and a mesophilic with irregular structure is observed, causing that the opening of the stomata not to be efficient, thus avoiding the absorption of CO<sub>2</sub> and a lack of assimilation of the moisture absorbed by the plant. Induced Iron deficiency is a major problem affecting the yield and quality of crops. Plants have evolved multifaceted strategies, as reductase activity, proton extrusion, and specialized storage proteins, to mobilize Fe from the environment and distribute it throughout the plant. Several issues related to Fe homeostasis in plants are currently intensively studied because of the role of Fe in plant productivity. Activation of Fe absorption reactions requires an overall adaption of primary metabolism because these activities need a constant supply of energy substrates supplied through photosynthesis.. Iron may be sufficient in calcareous soils but is not available to the roots. This paper discusses relevant aspects of the biochemistry and physiology of iron in plants.

**Keywords:** iron deficiency, iron acquisition, iron chlorosis, chloroplasts.

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Ciencias Agrotecnológicas. Ciudad Universitaria S/N Campus #1. Chihuahua, Chih., México, 31310. Tel. (614) 439-1844.

<sup>2</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: dojeda@uach.mx.

## Introducción

El hierro (Fe) es un elemento químico perteneciente a los elementos de transición. Es absorbido por las raíces como  $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+3}$  (Álvarez *et al.*, 2006); cuando el Fe es deficiente, la producción de clorofila es reducida (Valeska, 2003), que resulta en los síntomas característicos de clorosis de estrés férrico (Halvin *et al.*, 2005). Comparado con otros cationes, la concentración de solución de  $\text{Fe}^{+3}$  es muy baja. El Fe es un componente estructural de moléculas de porfirina; citocromos, hemos, hematina, ferrocromo y lehemoglobina. Estas sustancias están involucradas en las reacciones de reducción - oxidación en respiración y fotosíntesis (Vigani, 2012).

La deficiencia de Fe altera la morfología y fisiología de las hojas, consistentes en una disminución del número de células por unidad de superficie y desorganización en la estructura del cloroplasto, sin afectar el crecimiento de las hojas. Cuando el estrés es severo, disminuye drásticamente la actividad fotosintética, se detiene la división en los meristemos y se inhibe la producción de primordios foliares en los ápices del brote y con ello el crecimiento foliar (Zavala *et al.*, 2011). De acuerdo a lo anteriormente expuesto, se considera relevante analizar algunos de los procesos bioquímicos y fisiológicos en los que interviene el Fe.

## Propiedades químicas del Fe

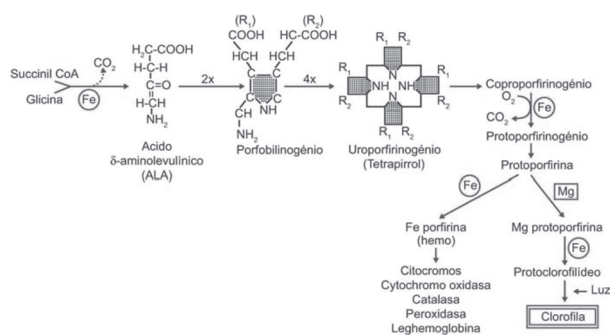
El hierro es un elemento químico de símbolo Fe, de número atómico 26 situado en el grupo 8, periodo 4 de la tabla periódica de los elementos; tiene una masa atómica de 55.6 unidades de masa atómica. Este metal de transición es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, representando un 5%; entre los metales, sólo el aluminio es más abundante.

El Fe se presenta en dos estados de oxidación: el  $\text{Fe}^{+3}$  ( $\text{Ar}3d^5$ ) o férrico y el  $\text{Fe}^{+2}$  ( $\text{Ar}3d^6$ ) o ferroso. En presencia de  $\text{O}_2$  el  $\text{Fe}^{+2}$  es oxidado rápidamente a  $\text{Fe}^{+3}$ , el cual es poco soluble en agua y en donde precipita como óxidos de Fe. Por lo tanto, en nuestra atmósfera, rica en  $\text{O}_2$ , la forma termodinámicamente más estable del Fe es también la de más difícil acceso para los organismos (Álvarez *et al.*, 2006).

## Importancia fisiológica del Fe en plantas

De acuerdo con Abadía *et al.* (2002), el Fe es un elemento vital para el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que es esencial para el buen funcionamiento de múltiples procesos metabólicos y enzimáticos, tales como los relacionados con el transporte de oxígeno y electrones, la fijación de nitrógeno, síntesis del ADN, la biosíntesis de clorofila (Figura 1) y hormonas, además de su participación en la fotosíntesis y de ser constituyente de hemoproteínas (citocromos, catalasa y peroxidasa).

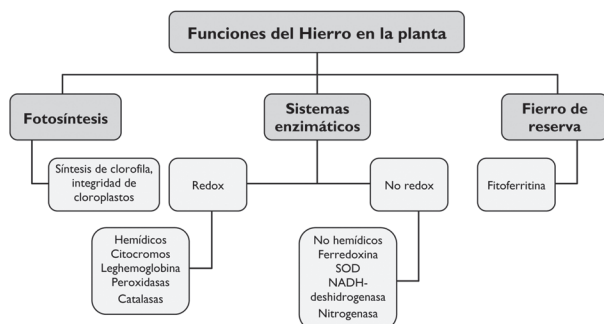
Figura 1. Biosíntesis de clorofila (Marschner, 2012).



Una de las razones principales de la importancia del Fe es su participación activa en la síntesis del material genético de las células, el denominado ADN, según explican los investigadores. En concreto, se sabe que una enzima esencial conocida como ribonucleótido reductasa (abreviadamente RNR) necesita Fe

para llevar a cabo su función, que consiste en la síntesis de los «ladrillos» que forman el ADN, los llamados dNTPs (Sanvisens *et al.*, 2011). Además, el Fe está implicado en diversos procesos enzimáticos (Figura 2).

Figura 2. Funciones del Fe en la planta (Álvarez *et al.*, 2006).



### Absorción y disponibilidad del Fe

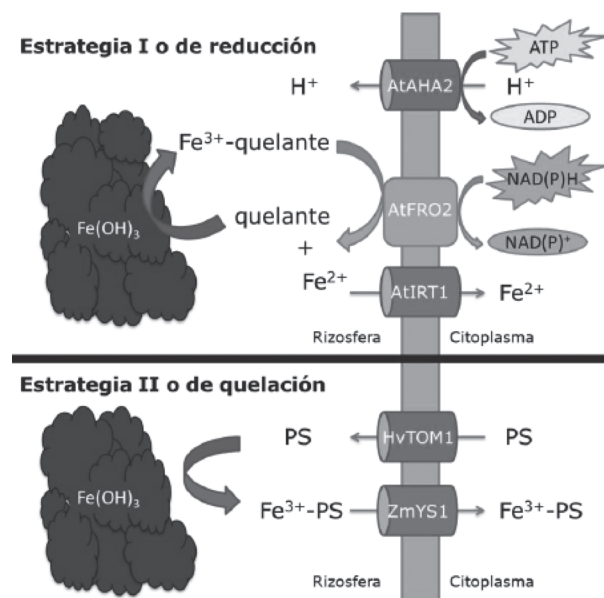
Comparado con otros cationes, la concentración de solución de  $Fe^{+3}$  es muy baja. En suelos bien drenados y oxidados, la solución de  $Fe^{+2}$  es menor que la de  $Fe^{+3}$ . El  $Fe^{+2}$  soluble se incrementa significativamente cuando el suelo se vuelve anegado. Sobre el nivel de pH normal del suelo, la solución total del Fe no es suficiente para satisfacer los requerimientos de Fe en la planta, incluso en suelos ácidos, donde las deficiencias de Fe ocurren con menos frecuencia que en suelos calcáreos y con pH alto (Halvin *et al.*, 2005).

La disponibilidad de Fe en las plantas es primeramente a través de fracciones minerales y orgánicas en suelos. Los minerales del Fe se disuelven para sostener los niveles de Fe en la solución en el suelo. La presencia de cationes como  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $K^{+}$  y  $Na^{+}$  en suelos alcalinos y  $Al^{+3}$  en suelos ácidos, inhiben la absorción de Fe (Fernández *et al.*, 2008).

El Fe está presente en todos los suelos (Razeto y Valdés, 2006), sin embargo, el Fe disponible para las plantas es extremadamente bajo debido a la escasa solubilidad de los óxidos férricos ( $Fe^{+3}$ ) en condiciones aeróbicas (Zavala *et al.*, 2011), lo que origina una disminución significativa del rendimiento y calidad de las cosechas (Fernández *et al.*, 2008).

**Adquisición de Fe por la raíz.** Las plantas se pueden clasificar en dos grandes grupos en función de su mecanismo de adquisición de Fe por la raíz. La estrategia I, o reductora, incorpora el Fe en forma de  $Fe(II)$ , mientras que la estrategia II, o quelante, adquiere el Fe en forma de quelato de  $Fe(III)$  (Figura 3) (Abadía *et al.*, 2011).

Figura 3. Mecanismos de adquisición de Fe por la planta (Abadía *et al.*, 2011).



Las plantas pertenecientes a la estrategia I, dicotiledóneas y monocotiledoneas no gramíneas, necesitan reducir el Fe antes de su adquisición. El mecanismo de adquisición consta de al menos tres componentes principales: una reductasa férrica de membrana perteneciente a la familia FRO (Ferric Reductase Oxidase) (Robinson *et al.*, 1999), un transportador específico de Fe perteneciente a la familia ZIP (ZNT-IRT) como proteínas de transportadores de metales AtIRT1 (Eide *et al.*, 1996; Fox y Guerinot, 1998) y una  $H^{+}$ -ATPasa que disminuye el pH de la rizosfera (Santi y Schmidt, 2009).

Las plantas pertenecientes a la estrategia II son las gramíneas. Las raíces de estas plantas sintetizan y excretan compuestos de bajo peso molecular, llamados fitosideróforos

(PS), que son péptidos de aminoácidos no proteogénicos derivados del ácido mugineico. Estos fitosideróforos son excretados por transportes específicos (HvTOM1, transporter of mugineic acid family phytosiderophores 1) y debido a su alta afinidad por el Fe lo solubilizan de forma muy eficaz por quelación, produciendo complejos Fe (III)-fitosideróforo que son introducidos al interior de la raíz a través de un transportador específico situado en la membrana plasmática (ZmYS1; Yellow Stripe), sin que exista reducción previa (Von Wiren *et al.*, 1994; Curie *et al.*, 2001). Una vez dentro de la planta, se produce la liberación de Fe y el fitosideróforo se degrada o se excreta al exterior.

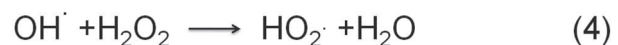
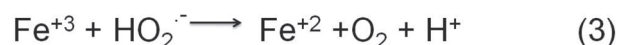
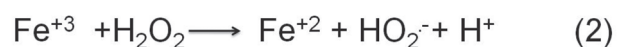
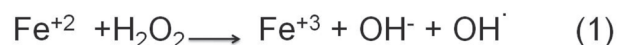
### Bioquímica del Fe en la planta

El Fe es un componente estructural de moléculas de porfirina; citocromos, hemos, hematina, ferrocromo y lehemoglobina. Estas sustancias están involucradas en las reacciones de óxido-reducción implicadas en la respiración y en la fotosíntesis (Vigani, 2012). El 75% de células de Fe es asociado con los cloroplastos, y más de un 90% del Fe presente en las hojas se asocia con lipoproteínas de las membranas del cloroplasto y de la mitocondria (Zavala *et al.*, 2011).

Como regla, Fe (II) es tomado de forma preferente comparado con Fe (III), pero esto también depende en las especies de las plantas. En el transporte de larga distancia del xilema, existe un predominio de complejos de Fe (III). El Fe como elemento de transición es caracterizado por la facilidad relativa por el cual pueda cambiar su estado de oxidación. La alta afinidad del Fe por varias ligaduras, ácidos orgánicos o fosfato inorgánico hace poco probable que el Fe se encuentre en su estado iónico ( $Fe^{+3}$  o  $Fe^{+2}$ ) durante su transporte dentro de la planta. Sin embargo, el Fe, al no estar unido y en solución, se presenta en forma catiónica ( $Fe^{+3}$  o  $Fe^{+2}$ ) pudiendo participar en otro tipo de procesos como la reacción de Fenton (Figura 4) en la cual se cataliza el peróxido de hidrógeno con metales de transición, generalmente Fe, dando como resultado la generación de radicales altamente reactivos del oxhidrilo ( $OH\cdot$ ), el radical

$OH\cdot$  es altamente oxidante, por lo cual se ha estudiado su participación en mecanismos biológicos de degradación no enzimáticos. En la reacción Fenton estos radicales son principalmente responsables por la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados de lípidos de membrana. El Fe debe estar incorporado a proteínas hemos y no hemos que permiten llevar a cabo de manera controlada las reacciones reversibles de oxidación-reducción. A continuación se muestran constituyentes que contienen Fe en los sistemas redox (Abadía *et al.*, 2011).

Figura 4. Reacción Fenton (Valko *et al.*, 2005).



**Proteínas hemo.** Las proteínas hemo, más conocidas son los citocromos, contienen un complejo hemo de hierro-porfirina como un grupo prostético. Los citocromos son constituyentes de los sistemas redox en los cloroplastos y en la mitocondria, y también son un componente en la cadena redox donde actúa la nitrato reductasa. Hay evidencia que pequeñas cantidades de leghemoglobina están también presentes en las raíces (Capece *et al.*, 2006).

La catalasa y las peroxidasas también pertenecen a las proteínas hemo, por lo que, en condiciones de deficiencia de Fe, la actividad de ambos tipos de enzimas declinan. Este es particularmente el caso de actividad catalasa en hojas, la actividad de esta enzima es, por lo tanto, un indicador del estatus nutricional de Fe en plantas. Por otro lado, la catalasa juega un papel importante en asociación con el superóxido dismutasa, así como en la fotorespiración y la vía del glicolato. Por otro lado, la peroxidasa ascorbato juega un importante papel en la detoxificación de  $H_2O_2$  en los

cloroplastos. Las peroxididasas son particularmente abundantes en paredes celulares de la epidermis y requeridas para la biosíntesis de substratos (Apel *et al.*, 2004)

En raíces con deficiencia de Fe, la actividad de las peroxididasas y los compuestos fenólicos acumulados en la rizodermis, declinan. Los compuestos fenólicos se liberan a tasas más altas de las raíces con deficiencia de Fe comparadas con plantas con suficiencia de Fe (Apel *et al.*, 2004; Marschner *et al.*, 2012).

*Proteínas fierro-sulfúricas.* Las proteínas fierro-sulfúricas son aquellas que contienen Fe como un componente metálico del grupo prostético, en estas proteínas no hemos, el Fe es coordinado con el grupo tiol de la cisteína o con sulfuro inorgánico, o bien, con ambos. Dentro de las proteínas fierro-sulfúricas la más conocida es la ferredoxina, que actúa como un emisor de electrones en un gran número de procesos metabólicos. En hojas con deficiencia de Fe, el contenido de ferredoxina es disminuido en un grado similar al de la disminución del contenido de clorofila, y la caída en el nivel de ferredoxina es asociada con una actividad más baja de nitrato reductasa (Kawano y Muto, 2000; Maldonado-Torres *et al.*, 2006).

La superóxido dismutasas desintoxica los radicales anión superóxido libres por la formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y pueden contener cobre (Cu), Zinc (Zn), Manganese (Mn) o hierro (Fe) como componentes metálicos. En cloroplastos FeSOD es la típica isoenzima de SOD, pero también se puede encontrar en la mitocondria y en las peroxisomas en el citoplasma (Kawano y Muto, 2000; Marschner *et al.*, 2012).

La aconitasa es otro ejemplo de proteína fierro-sulfúrica que cataliza la isomeración de citrato para el isocitrato en el ciclo de los ácidos tricarbónicos. En plantas con deficiencia de Fe se observa que la actividad de la aconitasa es baja y las reacciones en el ciclo de los ácidos tricarbónicos son perturbadas (Frishman y Hentze, 1996). En las raíces de plantas de tomate, la deficiencia de Fe causa un

incremento en el contenido de ácidos orgánicos, lo que se correlaciona estrechamente con una mejora de oscura fijación del CO<sub>2</sub> y la excreción neta del H<sup>+</sup>. Las relaciones causales entre la actividad inferior de la acotinasas y la acumulación de ácidos orgánicos en las raíces de plantas con deficiencia de Fe son aún una cuestión de controversia (Paredes y Espinoza, 2010).

La riboflavina también se acumula en gran parte de especies de plantas dicotiledóneas como consecuencia de las alteraciones en el metabolismo de las purinas debido a la discapacidad de la xantina oxidasa, otra enzima con grupos fierro-sulfúricos como grupo prostético (Hille, 2006).

*Otras enzimas que requieren de Fe.* Existe un número menor de enzimas caracterizadas en las cuales el Fe actúa, ya sea como componente metálico, en reacciones redox o como un elemento que une la enzima y al sustrato. Para la biosíntesis del etileno, la metionina es el principal precursor, catalizado por Fe (II). El etileno es bastante inferior en células deficientes de Fe. Las liposigenasas son enzimas que contienen un átomo de Fe por molécula, y catalizan la peroxidación de ácido linólico y linolénico. En las hojas de plantas con deficiencia de Fe, la actividad lipoxigenasa y contenido de clorofila son positiva y estrechamente correlacionadas, indicando la posibilidad de una asociación cerrada de la enzima con membranas tilacoidales (Hille, 2006).

*Desarrollo de cloroplastos y fotosíntesis.* Como regla, la deficiencia de Fe tiene menos efectos en el crecimiento de hojas, menor número de células por unidad de área, o un menor número de cloroplastos por célula y menor contenido de proteína por cloroplasto. Los sitios de síntesis de proteínas disminuyen en las células de las hojas con deficiencia de Fe. En las membranas de los ticaloides hay alrededor de 20 átomos de Fe involucrados directamente en la cadena de transporte de electrones por cada unidad de FS (foto-sistema)

III y FS (foto-sistema) I (Terry y Abadia, 1986). Este alto requerimiento de Fe para la integridad estructural y funcional de las membranas tilacoidales, y del requerimiento adicional de Fe para la ferredoxina y la biosíntesis de clorofila, explican la alta sensibilidad de cloroplastos, en particular de los tilacoides, a la deficiencia de Fe. El reabastecimiento de Fe en hojas cloróticas aumenta la función de FS I. Los componentes individuales de FS I, P 700, citocromos, y proteínas aumentan de manera similar, indicando que el Fe se involucra en la regulación del desarrollo de FS I y ensamblando las sub-unidades en las membranas tilacoidales. Si la deficiencia de Fe llega a ser más severa, la actividad de FS II también disminuye drásticamente y es mucho más difícil de restaurar (Morales *et al.*, 1991). En contraste con la discapacidad de transporte de electrones fotosintéticos, la actividad respiratoria en hojas con deficiencia de Fe no es afectada, ya que la oxidación terminal por citocromo oxidasa en la mitocondria es catalizada por cobre y no por Fe.

En hojas con deficiencia de Fe, los contenidos de clorofila y de  $\beta$ -carotenos declinan al mismo nivel en donde ciertos xantófilos puedan incluso aumentar. Las hojas con deficiencia de Fe son caracterizadas por bajos contenidos de almidón y azúcares. Un factor adicional contribuyente al bajo contenido de carbohidratos es la regeneración retardada de ribulosa bifosfato. En las hojas de todas las especies de plantas el mayor síntoma de deficiencia de Fe es la inhibición del desarrollo de los cloroplastos. Sin embargo, para las raíces, los cambios morfológicos y fisiológicos provocados por la deficiencia Fe dependen de la especie de la planta. Tanto en dicotiledóneas como en monocotiledóneas, con la excepción de los pastos (especies gramináceas), la deficiencia de Fe es asociada con la inhibición de la elongación en la raíz, aumento en el diámetro de zonas apicales de raíces y formación abundante de pelo en la raíz (Römheld y Marchner, 1990). Por otro lado, las raíces proteiformes en dicotiledóneas son caracterizadas particularmente por su alta capacidad de reducir Fe (III) y excretar protones.

En especies gramíneas, estos cambios morfológicos y fisiológicos de deficiencia de Fe inducida están ausentes. En su lugar, las raíces liberan fitosideróforos (FS) como quelantes para Fe (III). La nicotianamina (NA) no es sólo un precursor de la biosíntesis de FS, sino también un fuerte quelante de Fe (III) (Fernández *et al.*, 2008; Marschner, 2012).

La absorción de la luz, el foto-sistema II, la eficiencia de carboxilación y la RuBisCO (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa) tienden a reducirse conforme a la deficiencia de Fe. Los resultados de menores tasas fotosintéticas de hojas gravemente fierrocloróticas resultan en aberturas inferiores de los estomas y, por lo tanto, en la tasa de transpiración. Sin embargo, la reducción en la tasa fotosintética es para superar la reducción concomitante de la tasa de transpiración, resultando en una reducida eficiencia del uso del agua en comparación con las hojas verdes (Fernández *et al.*, 2008).

Los citocromos que contienen Fe en los cloroplastos funcionan en los procesos de reducción fotosintética donde la ferredoxina, una proteína Fe-S, es un electrón aceptor. Las ferredoxinas son el primer compuesto estable de la cadena de transporte fotosintético. La reducción de  $O_2$  al  $H_2O$  durante la respiración es también una función común de los compuestos férricos (Vigani, 2012). El Fe es un constituyente de la nitrogenasa, la enzima esencial para la fijación de  $N_2$  por microorganismos de fijación de nitrógeno. El Fe puede también ser capaz de sustitución parcial por Mo involucrado en  $NO^3$ -reductasa en soya (Halvin *et al.*, 2005).

## Deficiencia de Fe

La deficiencia de Fe es por lo general observada en pH altos y suelos calcáreos en regiones áridas, pero también pueden ocurrir en suelos ácidos con bajas concentraciones de Fe total (Valko *et al.*, 2005). El pH de suelos calcáreos varía desde 7.3 a 8.5, coincidiendo con la mayor incidencia de deficiencia de Fe y más baja solubilidad de Fe en el suelo (Maldonado-Torres *et al.*, 2006).



Los suelos pesados en condiciones de alta humedad y de naturaleza calcárea, así como en climas frescos impiden la absorción de Fe por las plantas (Fernández *et al.*, 2009). La clorosis férrica se asocia principalmente con el crecimiento de plantas en alto pH, los suelos calcáreos y a la presencia de altas concentraciones de bicarbonato que pueden inhibir los mecanismos de captación de Fe (El-Jendoubi *et al.*, 2012).

La clorosis férrica es un problema que afecta a diferentes especies dentro de los frutales que se desarrollan en la zona central y norte del país, afectando directamente a los árboles de duraznos (Lee *et al.*, 1998). El área en que se presenta el problema corresponde a suelos de naturaleza calcárea en todo el perfil o en alguna profundidad del mismo (Yanguas *et al.*, 1997; Zavala *et al.*, 2011). Cuando el estrés es severo, disminuye drásticamente la actividad fotosintética, se detiene la división en los meristemas y se inhibe la producción de primordios foliares en los ápices del brote, y con ello el crecimiento foliar (Zavala *et al.*, 2011). A nivel estructural, se hace evidente la inadecuada formación de las membranas de los tilacoides. El descenso en la concentración de clorofila está asociado con la disminución de proteínas, ya que ambas se unen mediante un enlace no covalente para formar un complejo pigmento-proteínico que constituye la membrana de los tilacoides (Vigani, 2012). Se observó que en hojas hierro-cloróticas, el haz vascular parecía ser desorganizado y heterogéneo en tamaño y forma, por lo que es probable que la deficiencia de Fe también podría afectar a la hidráulica de la hoja (Fernández *et al.*, 2008).

El crecimiento de las plantas con baja disponibilidad de Fe tiene importancia económica, dado que disminuye de manera significativa el rendimiento y calidad de las cosechas (Fernández *et al.*, 2008), aunado a que las medidas correctivas que llevan a cabo los agricultores para prevenir o controlar la clorosis por deficiencia de Fe repercute en los costos de producción (Zavala *et al.*, 2011).

En diversas investigaciones relativas a parámetros fisiológicos en hojas hierro-deficientes, se menciona que aún es escasa la información referente a los cambios que ocurren tanto en la estructura interna como en la superficie de las hojas afectadas por estrés abiótico (El-Jendoubi *et al.*, 2012). Dichos cambios pueden ser típicos de cada especie de cultivo; en hojas deficientes en Fe en los cloroplastos, los tilacoides se apilan de manera desordenada, con escaso desarrollo del grana; además, se afecta el grosor de los parénquimas de empalizada y esponjoso por cambios en las dimensiones de las células (Eichert *et al.*, 2009). En hojas de pera y durazno hierro-deficientes, no se muestran cambios aparentes en cuanto al grosor, pero disminuyen el tamaño y el peso de materia fresca y el diámetro de los poros estomatales, sin afectar la densidad estomatal (Zavala *et al.*, 2011).

La escasa relación que existe entre la clorosis férrica y la concentración de Fe total en las hojas es un hecho comprobado en diversas especies frutales (Díaz *et al.*, 2009), al punto que muchos laboratorios de análisis foliar no incluyen este nutriente en los trabajos rutinarios de diagnóstico (Jiménez *et al.*, 2009). Los síntomas de deficiencia de Fe son fácilmente reconocibles en las hojas, pero el diagnóstico se puede realizar cuando la planta ya ha sufrido los efectos negativos de la carencia (Razeto y Valdez, 2006).

Por otra parte, el análisis de clorofila en las hojas se ha postulado como una herramienta de diagnóstico para la deficiencia de Fe, pero el nivel de clorofila también se afecta por otros elementos minerales, lo cual, en cierta medida, restringe su empleo (Neaman y Espinoza, 2012).

El problema con este nutriente ha llevado a postular al análisis de Fe activo o Fe soluble ( $Fe^{++}$ ) en la hoja como un indicador del nivel de abastecimiento de Fe en la planta. Sin embargo, este análisis es complicado y con resultados variables, debido principalmente al hecho de emplear tejido fresco. No obstante, se encontró gran sensibilidad en el análisis de Fe activo para detectar diferencias de sintomatología carencial


de Fe en diversas especies frutales, por lo que se sugiere establecer análisis de flor y pedúnculo, ya que estos se pueden realizar al inicio de la temporada, pudiendo establecer una corrección antes de que se manifieste en verano (Valdés, 2004). Por otra parte, se encontró una alta relación entre la concentración de clorofila y la de Fe soluble en la hoja de duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch.), tanto en tejido fresco como en tejido seco (Razeto y Valdez, 2006).

## Conclusiones

Las plantas han evolucionado estrategias multifacéticas, como la actividad quelato reductasa, la extrusión de protones, proteínas especializadas de almacenamiento, a fin de movilizar el Fe del ambiente y distribuirlo a través de la planta. Existen varias cuestiones relativas a la homeostasis del Fe en las plantas que son estudiadas, debido al papel fundamental en la productividad de las plantas. Después de revisar aspectos relevantes en la bioquímica y fisiología del Fe en las plantas, se puede concluir que el Fe es un elemento multifacético, ya que se puede encontrar en solución en forma iónica, estructuralmente se encuentra presente en diversas proteínas y participa como catalizador o activador en diversas reacciones enzimáticas, además de ser un catión divalente, lo cual lo hace participe en reacciones de REDOX. Por otro lado, regula el funcionamiento de múltiples procesos metabólicos relacionados con el transporte de oxígeno y electrones, la fijación de nitrógeno, síntesis del ADN y la biosíntesis de clorofila, entre otros, por lo cual en las plantas es vital para un óptimo crecimiento y desarrollo.

## Literatura Citada

- ABADÍA, J., S. Vázquez, R. Rellán-Álvarez, H. El-Jendoubi, A. Abadía, A. Álvarez-Fernández, and A.F. López-Millán. 2011. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 471-482
- ABADÍA, J., A. López, A. Rombolá, and A. Abadía. 2002. Organic acids and Fe deficiency: a review. *Plant Soil* 241: 75-86.
- ÁLVAREZ, A., S. García, and J. Lucena. 2006. Evaluations of synthetic iron (III)-Chelates (EDDHA/Fe<sup>3+</sup>, EDDHMA/Fe<sup>3+</sup> and the novel EDDHSA/Fe<sup>3+</sup>) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy* 22: 119-130.
- APEL, K., and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.
- CAPECE, L., M.A. Martí, A. Crespo, F. Doctorovich, and D.A. Estrin. 2006. Heme Protein Oxygen affinity regulation exerted by proximal effects. *Journal of the American Chemical Society* 128: 12455-12461.
- CURIE, C., Z. Panaviene, C. Loulergue, S. L. Dellaporta, J. F. Briat, and E. L. Walker. 2001. Maize yellow stripel encodes a membrane protein directly involved in Fe (III) uptake. *Nature* 409: 346-349.
- DÍAZ, I., M. Campillo, M. Cantos, and J. Torrent. 2009. Iron deficiency symptoms in grapevine as affected by the iron oxide and carbonate contents of model substrates. *Plant and Soil* 322:293-302.
- EIDE, D., M. Broderius, J. Fett, and M. L. Guerinot. 1996. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 5624-5628.
- EICHERT, T., J. Peguero, E. Gil, A. Heredia, and V. Fernandez. 2009. Effects of iron chlorosis and iron resupply on leaf xylem architecture, water relations, gas exchange and stomatal performance of field-grown peach (*Prunus persica*). *Physiologia Plantarum* 138: 48-59.
- EL-JENDOUBI, H., E. Igartua, J. Abadía, and A. Abadía. 2012. Prognosis of iron chlorosis in pear (*Pyrus communis* L.) and peach (*Prunus persica* L. Batsch) trees using bud, flower and leaf mineral concentration. *Plant Soil* 354:121-139.
- FRISHMAN, D., and M.W. Hentze. 1996. Conservation of aconitase residues revealed by multiple sequence analysis. *European Journal of Biochemistry* 239: 197-200
- FERNÁNDEZ, V., I. Orera, J. Abadía, and A. Abadía. 2009. Foliar iron-fertilization of fruit trees: present knowledge and future perspective: a review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 84 (1):1-6.
- FERNÁNDEZ, V., T. Eichert, V. Del Río, G. López, J. Heredia, A. Abadía, A. Heredia, and J. Abadía. 2008. Leaf structural changes associated with iron deficiency chlorosis in field-grown pear and peach: Physiological implications. *Plant and Soil* 311:161-172.
- FOX, T.C., and M.L. Guerinot. 1998. Molecular biology of cation transport in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 669-696.
- HALVIN, J., S. Tisdale, J. Beaton, and W. Nelson. 2005. Soil Fertility and Fertilizers: An introduction to nutrient management. Pearson. United States of America. 56 p.
- HILLE, R. 2006. Structure and Function of Xanthine Oxidoreductase. *European Journal of Inorganic Chemistry* 10:1905-2095.
- JIMÉNEZ, S., F. Morales, A. Abadía, J. Abadía, M. Moreno, and Y. Gogorcena. 2009. Elemental 2-D mapping and changes in leaf iron and chlorophyll in response to iron re-supply in iron-deficient GF 677 peach-almond hybrid. *Plant and Soil* 315:93-106.
- KAWANO, T., and S. Muto. 2000. Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. *Journal of Experimental Botany* 51: 685-693
- LEE, V., M. Beltrán, J. Lerma, and L. Licón. 1998. Aplicación de ácido sulfúrico en el riego corrige la clorosis férrica de los cultivos en suelos calcáreos. *Terra Latinoamericana* 16 (2): 149-161.
- MALDONADO-TORRES, R., J. Etcheverez-Barra, G. Alcántar-González, J. Rodríguez-Alcázar, and M.T. Colinas-León. 2006. Morphological changes in leaves of Mexican lime affected by iron chlorosis. *Journal of Plant Nutrition* 20: 615-628.
- MARSCHNER, 2012. Mineral Nutrition of Higher Plants. Elsevier Ltd. 645 p.
- MORALES, V. M., A. Backman, and M. Bagdasarian. 1991. A series of wide-host-range low-copy-number vectors that allow direct screening for recombinants. *Gene* 97: 39-47.
- NEAMAN, A., and G. Espinoza. 2012. Advances in diagnosis of iron deficiency in avocado. *Journal of Plant Nutrition* 33: 38-45.
- PAREDES-MENDOZA, M., y D. Espinosa-Victoria. 2010. Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: Una revisión crítica. *Terra Latinoamericana* 28 (1): 61-70.

- RAZETO, B., and G. Valdez. 2006. Análisis de Hierro soluble en tejidos para diagnosticar el déficit de Hierro en nectarino: Tissue soluble iron deficiency in nectarin. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas; Agricultura Técnica, Santiago, Chile. 79-84 p.
- RÖMHELD, V., and H. Marschner. 1990. Genotypical differences among graminaceous species in release of phytosiderophores and uptake of iron phytosiderophores. *Plant and Soil* 123: 147-153.
- ROBINSON, N.J., C.M. Procter, E.L. Connolly, and M.L. Gueriot. 1999. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature* 397: 694-697.
- SANTI, S., and W. Schmidt. 2009. Dissecting iron deficiency-induced proton extrusion in arabidopsis roots. *New Phytologist* 183: 1072-1084.
- SANVISENS, N., M.C. Bañó, M. Huang, and S. Puig. 2011. Regulation of ribonucleotide reductase in response to iron deficiency. *Molecular Cell* 44 (5): 759-69.
- TERRY, N., and J. Abadia. 1986. Function of iron in chloroplasts. *Journal of Plant Nutrition* 9: 609-646.
- VALDÉS, G. 2004. Diagnóstico de la clorosis férrica en duraznero mediante el análisis de hierro en distintos tejidos; Facultad de ciencias agronómicas; Escuela de Agronomía; Santiago, Chile. 109 p.
- VALESKA, J. 2003. «Clorosis Férrica» y su relación con el nivel de clorofila y Hierro en diferentes órganos en palto (*persea americana mill.*). Facultad de ciencias agronómicas; Escuela de agronomía; Santiago, Chile. 3-22p.
- VALKO, M., H. Morris, and M. Cronin. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* 12(10): 1161-1208.
- VIGANI, G. 2012. Discovering the role of mitochondria in the iron deficiency-induced metabolic responses of plants. *Journal of Plant Physiology* 169(1): 11-14.
- VON, W.N., S. Mori, H. Marschner, and V. Romheld. 1994. Iron inefficiency in maize mutant *ys1* (*Zea mays* L. cv Yellow-Stripe) is caused by defect in uptake of iron phytosiderophores. *Plant Physiology* 106: 71-77.
- YANGUAS, R., M. Campillo, and J. Torrent. 1997. Predicción de la incidencia de la clorosis férrica en melocotonero cultivado en suelos calcáreos; *Agrochimica*; Córdoba, España. 3-4 p.
- ZAVALA, F., R. Maldonado, M. Sandoval, M. Álvarez, M. Colinas, y P. Ramírez. 2011. Cambios morfológicos y fisiológicos en hojas de frijol tolerante y susceptible a deficiencia de hierro. *Terra Latinoamericana* 29(3): 161-172. 

Este artículo es citado así:

Ortega-Maldonado, J. M., D. L. Ojeda-Barríos, J. J. Martínez-Téllez, A. Hernández-Rodríguez, T. J. Ruiz-Anchondo, y D. J. Escudero-Almanza. 2014. Aspectos relevantes sobre la bioquímica y la fisiología del hierro en plantas. *Tecnociencia Chihuahua* 8(1): 30-38.

## Resumen curricular del autor y coautores

**JAIME MIGUEL ORTEGA MALDONADO.** Egresado de la carrera de Ingeniero Fruticultor de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas-UACH. Actualmente es becario CONACYT para realizar estudios de Maestría en Ciencias de la Productividad Frutícola de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas en la Universidad Autónoma de Chihuahua.

**DÁMARIS LEOPOLDINA OJEDA BARRIOS.** Maestra-Investigadora de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Obtuvo su doctorado y maestría en la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", su licenciatura en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Actualmente conduce investigaciones sobre desórdenes nutricionales en frutales caducifolios. Imparte los cursos de Nutrición Vegetal, Fisiología Vegetal y Anatomía Vegetal. Asesora de estudiantes de posgrado y licenciatura. Ha participado como ponente en congresos científicos nacionales e internacionales, y en publicaciones de artículos científicos y de divulgación como autora y coautora. Es responsable del área de Fisiología y Nutrición Vegetal con énfasis en Frutales Caducifolios en los cultivos de manzano y nogal pecanero, en el Laboratorio de Bioquímica Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas-UACH.

**JAIME JAVIER MARTÍNEZ TÉLLEZ.** Profesor Investigador de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Los estudios de Licenciatura los llevó a cabo en la Universidad Autónoma de Chihuahua, la maestría y doctorado los realizó en la Universidad de Bordeaux II Francia. Es asesor de estudiantes de posgrado y licenciatura. Actualmente lleva a cabo proyectos de investigación en patología en diferentes cultivos, con énfasis en agricultura orgánica.

**OFELIA ADRIANA HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ.** Maestra-Investigadora de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Cursó la licenciatura en la Facultad de Fruticultura de la UACH, otorgándosele en 1985 el título de Ingeniero Fruticultor. Realizó estudios de posgrado en la misma Facultad, obteniendo en el año de 1994 el grado de Maestro en Ciencias de la Productividad Frutícola. Posee el Doctorado in Philosophia, con Área mayor en Manejo de Recursos Naturales, grado conferido en 2008 por la Facultad de Zootecnia y Ecología de la UACH. Se desempeña como maestra de tiempo completo en la UACH desde 1986. Ha sido responsable de varios proyectos de investigación en proceso y concluidos a nivel licenciatura. Ha participado como ponente en congresos científicos nacionales e internacionales, y en publicaciones de artículos científicos y de divulgación como autora y coautora.

**TERESITA DE JESÚS RUIZ ANCHONDO.** Maestra-Investigadora de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Obtuvo su Doctorado en Ciencia de Materiales por el Centro de Investigación en Materiales Avanzados S. C. La maestría en Ciencias de la Productividad Frutícola en la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas y la licenciatura en Ingeniería Química Industrial en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Ha participado como ponente en congresos científicos nacionales e internacionales, y en publicaciones de artículos científicos y de divulgación como autora y coautora. Asesora de estudiantes de posgrado y licenciatura. Ha conducido y concluido proyectos de Investigación con financiamiento externo para transferencia de tecnología. Trabaja directamente con los sistemas Producto Durazno y Vid. Dirige el laboratorio de Biotecnología, especializado en el área de cultivo de tejidos de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas-UACH.

**DALILA JAQUELINE ESCUDERO-ALMANZA.** Egresada de la carrera de Químico Bacteriólogo Parasitólogo en la Facultad de Ciencias Químicas en 2009. Cursó sus estudios de posgrado en la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas obteniendo el grado de Maestro en Ciencias de la Productividad Frutícola en el año 2011. Actualmente se desempeña como catedrática en la Facultad de Ingeniería en la UACH.

# Servicios ambientales de árboles: énfasis en la industria del nogal pecanero

Environmental services of trees: emphasis on pecan industry \*

J.G. MEXAL<sup>1,2</sup> Y E. HERRERA<sup>1</sup>

Recibido: Agosto 12, 2013

Aceptado: Febrero 26, 2014

## Resumen

El nogal (*Carya illinoensis* [Wangenh] K. Koch) es un cultivo económicamente importante, tanto en el norte de México como en el sur de EUA. Sin embargo, el valor de los huertos de nogal se extiende más allá del valor de la cosecha de la nuez. Las huertas de nogal proporcionan servicios ambientales de importancia; algunos de ellos tienen un valor económico que puede ser estimado, mientras que en otros, su valor económico es difícil de cuantificar. Las ramas resultantes de la poda, y la cáscara de la nuez, tienen un valor potencial como bio-combustibles, o bien pueden ser utilizadas como medio o suelo artificial (molida o en composta). Sin embargo, la valoración más importante de las huertas nogaleras está asociada con productos en los que es más difícil asignar un valor económico específico. Estos incluyen: a) mejoría de los suelos, al incorporar la biomasa resultante de hojas, rúeznos y ramas; b) fijación del carbono de la atmósfera y la producción de oxígeno a través de la fotosíntesis; c) atrapar y eliminar polvo y contaminantes; d) mejoría en los microclimas y, d) algunos beneficios sociológicos. Sin duda, estos factores exceden fácilmente el valor de la nuez cosechada. Lo anterior se discute en términos de un huerto pequeño (1 ha) y de una región que cuenta con más de un millón de árboles de nogal.

**Palabras clave:** *Carya illinoensis*, nogal pecanero, biomasa, fijación de carbono, contaminación, valores sociológicos, microclima, suministrar oxígeno, fotosíntesis.

## Abstract

Walnut (*Carya illinoensis* [Wangenh] K. Koch) is an economically important crop, both in northern Mexico and southern U.S. However, the value of walnut orchards extends beyond the harvest walnut for profit. Walnut orchards provide important environmental services; some of them have an economic profit that can be estimated, while others, their economic value is hard to quantify. The resulting pruning branches, and the shell of the nut, have a potential value as bio-fuels, or can be used as a means or artificial soil (ground or compost). But, the most important valuation of walnut orchards is associated to products that are more difficult to allocate a specific economic profit. These include: a) improvement of soils, incorporating the resulting biomass of leaves, husk and branches; b) fixing of carbon from the atmosphere and the production of oxygen by photosynthesis; c) trap and remove dust and pollutants; d) improvement in microclimate and, d) some sociological benefits. Undoubtedly, these factors easily exceed the value of the harvested walnut. This is discussed in terms of a small orchard (1 ha) and a region with over a million walnut trees.

**Keywords:** *Carya illinoensis*, pecan, biomass, carbon sequestration, pollution, sociological values, microclimate, produced oxygen, photosynthesis.

<sup>1</sup> Universidad Estatal de Nuevo México. Departamento de Ciencias Ambientales y de Plantas. Las Cruces, NM, EUA. 88003.

<sup>2</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: jmexal@ad.nmsu.edu.

\* Traducción realizada por el Dr. Julio César López Díaz.

## Introducción

La industria del nogal pecanero bajo riego de la región del oeste (Arizona, Nuevo México y oeste de Texas, en E.U.A., y Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León y Sonora, en México) ha crecido tremendamente desde que los nogales se introdujeron a principios del siglo XX (1900's). México tiene más de 96,000 hectáreas, con una producción anual valorada en más de \$500 millones (SAGARPA, 2011). Se estima que existen 21,000 hectáreas de nogales en el sur de Nuevo México y oeste de Texas, y el valor de la industria en Nuevo México alcanzó \$110 millones en 2012, por debajo de los \$187 millones obtenidos en 2010 (NMDA, 2010).

La tendencia a la alza en la producción de Nuevo México (Figura 1) es debido a la edad relativamente joven de muchos nogales en el sur de este estado, lo cual indica que la producción probablemente seguirá aumentando en los próximos años. Esto es probablemente cierto para toda la región del oeste, aumentando considerablemente la importancia de esta región en la industria de la nuez pecanera.

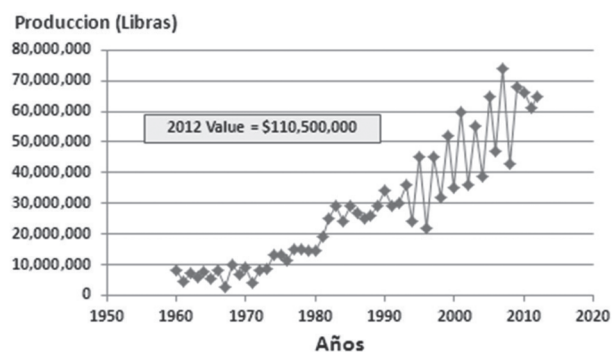
Mientras que el valor económico de la industria del nogal puede medirse fácilmente a través de los ingresos que provienen de sus productos (ejemplo: nueces, leña para combustible, composta para horticultura), hay otros beneficios menos evidentes hacia la comunidad. Estos beneficios, o servicios ambientales, han sido definidos por numerosos autores, pero quizás la definición más útil proviene de la Agencia de Protección Ambiental de E.U.A. (Patterson y Coelho, 2009):

*«Productos provenientes de funciones o procesos ecológicos que directa o indirectamente contribuyen al bienestar social o tienen el potencial para hacerlo en el futuro. Algunos productos pueden ser comprados y vendidos, pero la mayoría no son comercializados».*

Hartman *et al.* (2000) identificaron muchos de los servicios ambientales proporcionados por los árboles a una comunidad, y estos son:

- |  |   |
|--|---|
| • Fijación del carbono                       | • Suministrar oxígeno                     |
| • Atrapar contaminantes (ej. polvo)          | • Reducir la contaminación por ruido      |
| • Alterar el microclima                      | • Mejorar la estética                     |
| • Mejorar los espacios urbanos al aire libre | • Transformar el carácter de la comunidad |

**Figura 1.** Producción anual de nuez pecanera en Nuevo México, E.U.A. (Dawson, 1983; NMDA, 2010).



Obviamente, la oportunidad de proveer ingresos no se incluyó. Muchos de estos beneficios son difíciles de cuantificar y aún más difícil es asignar un valor económico. Por lo tanto, los valores no son medibles, ya que no tienen una unidad de medida común. El objetivo de este artículo es discutir los valores potenciales no cuantificables de la industria del nogal pecanero con relación a los valores medibles.

## Supuestos

La región de Nuevo México/oeste de Texas tiene más de 21,000 hectáreas de huertas con más de 2.5 millones de árboles. Los cálculos aquí presentados estimarán los valores de un árbol, una hectárea (100 árboles) y 1 millón de nogales adultos (por lo menos de 15 años de edad) con características basadas sobre la cosecha destructiva de cuatro árboles (Cuadro 1)

(Kraimer *et al.*, 2001). No obstante que el tamaño de la muestra de árboles adultos en este estudio es pequeño, la distribución de la biomasa es comparable a lo reportado por Smith y Wood (2006) para nogales y por DeJong y Grossman (1997) para árboles de durazno.

**Cuadro 1.** Distribución de la biomasa de nogales adultos (Kraimer *et al.*, 2001; Smith y Wood, 2006) y producción anual estimada de biomasa con base en una producción anual estimada de 23.6 ton/ha/año (236 kg/árbol/año de biomasa).

Referencia	Tronco	Ramas	Hojas	Rueznos	Nueces	Raíces	Total
	kg/árbol						
Kraimer <i>et al.</i>	263	541	64	10	28	362	1268
Smith y Wood		406	45	--	--	167	614
% del total	63.3-66.1		5.0-7.3	0.8	2.2	27.2-28.5	
kg/árbol/año	≈ 31	≈ 57	64	10	28	≈ 46	≈ 236

Así, la huerta modelo de nogal con 100 árboles adultos/ha produce 23,600 kg de biomasa/ha/año con una producción anual de nuez de 2,800 kg/ha/año. Sin embargo, el rendimiento promedio para las huertas de Nuevo México es 1,900 kg/ha, mientras que el promedio oficial para México es de 1,420 kg/ha. Para propósitos de este artículo, usaremos el promedio de Nuevo México y asumiremos que no existe producción bienal (alterna). Estas estimaciones serán utilizadas para nuestra huerta «objetivo» cuando no se dispone de ninguna otra información o para estimar la producción objetivo.

## Servicios Ambientales (medibles)

**Hojas y rueznos.** Además de las almendras (nueces sin cáscara), existen otras fuentes potenciales de productos comercializables obtenidas de las huertas nogaleras. Durante la cosecha, las nueces se separan de las hojas y rueznos secos, lo cual asciende a 74 kg/árbol ó 7,400 kg/ha/año. Comprensiblemente, esta

biomasa podría ser cosechada, molida o composteada para luego ser vendida. Sin embargo, este material orgánico tiene más valor potencial cuando se deja en la huerta y es reciclado ahí mismo. Los beneficios de la mejora de la calidad del suelo al dejar la materia orgánica *in situ* son calculables, pero aún no han sido definidos.

**Cáscaras de nuez.** En el año 2012, Nuevo México produjo casi 30 millones de kilogramos de nuez encarcelada (NMDA). Con un porcentaje promedio de almendra del 55%, alrededor de 13,500,000 kg de cáscara se producen cada año. La huerta modelo produce 855 kg/ha de cáscara a partir de 1,900 kg/ha de nuez. Esta biomasa podría utilizarse como biocombustible para una planta de energía pequeña. El valor anual adicional sería de casi \$10/ton ó \$315,000. Alternativamente, el material podría utilizarse en la industria hortícola como composta o como medio para macetas. Por lo general, este uso tiene un valor más alto que como biocombustible. A un precio de \$50/m<sup>3</sup> como medio para macetas, las cáscaras de nuez tendrían un valor de más de \$1.8 millones de dólares, suponiendo 500 kg/m<sup>3</sup>.

**Podas de la huerta.** Cada dos o tres años, las ramas superiores de las huertas adultas son podadas para reducir la altura de los árboles y mejorar la penetración de la luz hacia la parte inferior de la copa. El árbol de la huerta modelo produce 57 kg de madera de ramas/árbol/año ó 6,800 kg/ha/año. Las huertas se podan solamente en dos lados, generalmente en la dirección de norte a sur. Kallestad *et al.* (2009) estimaron que la poda podría generar hasta 4,000 kg/ha/año, o aproximadamente 80,000 toneladas en la región de Nuevo México/oeste de Texas. A un precio de \$10/ton de biocombustible, el valor de las podas sería más de \$800,000/año, proveyendo combustible a razón de 2 ton/hora para la generación de energía en una planta de biocombustible de 4 MW.

Convertir las cáscaras y las podas de la huerta en productos comercializables podría aumentar los ingresos brutos de los productores

de nuez de la región hasta \$3 millones/año. Esto es menos del 3% de los ingresos de los nogales en el año 2010, pero a medida que los recursos se vuelven limitantes (ej. agua) o más caros (ej. fertilizante), un 3% adicional podría resultar atractivo.

## Servicios ambientales (no-medibles)

Los ocho valores no-medibles identificados por Hartman *et al.* (2000) pueden ser agrupados en cinco categorías generales: fijación del carbono, liberación de oxígeno, control de la contaminación, alteración del microclima y mejora de la belleza.

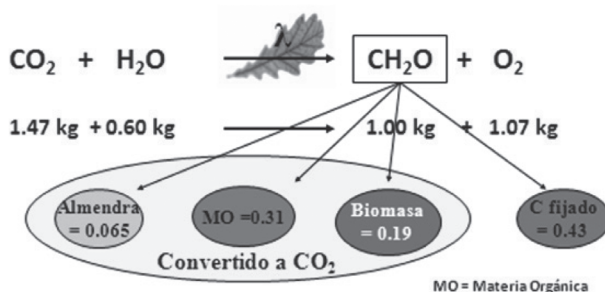
**Fijación del carbono:** Las nogaleras pueden servir como almacenes de dióxido de carbono, a pesar de que gran parte del carbono fijado es consumido finalmente como almendras de la nuez, biocombustibles o descomposición. Las plantas extraen el dióxido de carbono de la atmósfera y lo convierten en carbohidratos mediante la reacción fotosintética presentada en la Figura 2. Así, por cada unidad de carbohidrato creado por el árbol de nogal, casi 1.5 unidades de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) se extraen de la atmósfera. Gran parte del bióxido de carbono fijado será respirado hacia la atmósfera, ya sea como nueces consumidas, materia descompuesta (rueznos, hojas) en la huerta o la quema de biocombustibles. Sin embargo, el 43% del  $\text{CO}_2$  fijado permanecerá en el árbol. Si utilizamos el árbol modelo, aproximadamente 100 kg de biomasa permanecería fijo o el equivalente a 12,000 kg/ha. El  $\text{CO}_2$  fijado por los nogales fue generado por la quema de combustibles, incluyendo a los automóviles. Aproximadamente, un automóvil genera 3.1 kg de  $\text{CO}_2$ /L de gasolina (19.65 lb de  $\text{CO}_2$ /gal) (US EPA, 2013). Así, las 315,000 toneladas de  $\text{CO}_2$  capturadas equivalen a 55,700 vehículos recorriendo 12,000 millas (19,000 km)/año, a razón de 25 millas/galón.

**Liberación de oxígeno:** Además de extraer  $\text{CO}_2$  de la atmósfera, el proceso de fotosíntesis también genera más de 1 kg de Oxígeno ( $\text{O}_2$ ) por cada 1 kg de  $\text{CO}_2$  fijado (Figura 2). En

consecuencia, remover 315,000 toneladas de  $\text{CO}_2$ /año fijado en la madera de los nogales libera alrededor de 230,000 toneladas de  $\text{O}_2$ . Este oxígeno se utiliza por los seres humanos en el aire que respiramos. Cada ser humano necesita alrededor de 180 kg de  $\text{O}_2$ /año para sobrevivir. Las huertas de nogal de Nuevo México-oeste de Texas proporcionan oxígeno suficiente para 1.5 millones de personas en la región de Nuevo México-Texas-Chihuahua. Obviamente, esta cifra sería mucho mayor si los nogales del norte de México formaran parte de este cálculo.

Figura 2. Reacción fotosintética básica y distribución relativa del carbono fijado.

### Reacción Fotosintética Básica



**Control de la contaminación:** Los árboles son excelentes cortinas que atrapan polvo y otros contaminantes (McPherson *et al.*, 1997). Una hectárea de árboles atrapa más de 500 kg de contaminantes, incluyendo más de 100 kg de ozono ( $\text{O}_3$ ) y partículas. Nowak (1994) estimó que los árboles en el área de Chicago, Illinois habían extraído hasta 500 toneladas de  $\text{O}_3$ , 300 toneladas de partículas y 100 toneladas de óxidos de nitrógeno y azufre cada mes durante la temporada de crecimiento. Según un estudio realizado en California, cada hectárea de árboles valía más de \$5,400 en créditos por reducción de emisiones. Así, los nogales de Nuevo México/oeste de Texas atrapan casi 10,500 toneladas de contaminantes valorados en más de \$100 millones de dólares.

Otra forma de contaminación menos evidente es la contaminación por ruido. Los árboles y arbustos plantados entre las casas y fuentes de ruido (carreteras) pueden reducir el nivel de ruido en casi 10 decibeles (Miller, 1988). Una reducción de 10 decibeles (dBA) es una reducción de 10 veces en ruido, análoga a la escala de Richter para terremotos.

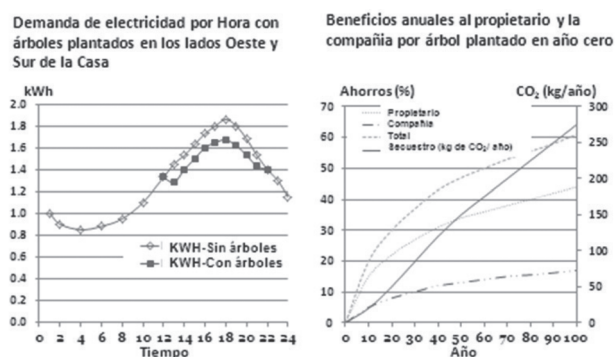
**Alteración benéfica del microclima:** Los árboles son componentes importantes de un paisaje residencial, especialmente en climas calientes y secos como los del suroeste. El nogal se adapta idealmente como un árbol de paisaje en esta región. Es uno de los últimos árboles en brotar durante la primavera (fines de marzo a principios de abril) y uno de los últimos en defoliarse en el otoño (mediados de noviembre). Por lo tanto, proporciona sombra para una residencia desde mayo hasta la mitad del mes de noviembre y permite que el sol caliente la casa cuando el aire acondicionado no es necesario.

Además de proporcionar sombra, los árboles pueden servir como barreras contra el viento y el sonido para los propietarios de viviendas y el ganado. Una barrera rompevientos de árboles y arbustos puede disminuir la velocidad del viento en el lado de sotavento de 40% a 80% en comparación con el lado de barlovento (McPherson y Rowntree, 1993).

Los beneficios obtenidos por la sombra, la reducción del viento y la disminución de costos por refrigeración pueden ser sustanciales, independientemente de la especie del árbol o la ubicación (Simpson, 2002). McPherson y Rowntree (1993) determinaron el beneficio de los árboles de paisaje en diferentes ambientes. Cada árbol de 7.5 m de altura plantado cerca de una casa disminuyó los costos de refrigeración de esa casa tanto como \$30/año. Además, los árboles proporcionan el mayor beneficio en la tarde, cuando los costos de energía tienden a ser más altos (Figura 3). Estos árboles benefician al propietario de la vivienda al reducir los costos por energía, a la compañía de energía al reducir la necesidad de capacidad

al medio ambiente al reducir la huella de carbono producidos por ambos: la compañía y el propietario. Durante la vida de un árbol, más de 250 kg de CO<sub>2</sub> son removidos de la atmósfera cada año.

**Figura 3.** Reducción en la demanda de energía y beneficios anuales de plantaciones urbanas de árboles (Donovan y Butry, 2009).



Por desgracia, con la reciente sequía en el sur de E.U.A, la cubierta de árboles ha disminuido en los últimos 5 a 10 años (Nowak y Greenfield, 2012). Así, la capacidad para proporcionar sombra, refrigeración y extracción de CO<sub>2</sub> ha sido disminuida. El sur de E.U.A. ha perdido un promedio de 6.8 m<sup>2</sup>/habitante/año de cubierta arbórea durante el periodo de estudio. La parte norte de los E.U.A. ha perdido sólo 0.6 m<sup>2</sup>/habitante/año de cubierta arbórea y solamente una ciudad en los E.U.A. (Syracuse, NY) mostró un aumento en la cubierta arbórea. Los propietarios de viviendas y los administradores de las ciudades necesitan ser conscientes de los beneficios generales que proporcionan los árboles hacia las comunidades.

**Mejora de la belleza hogareña:** la belleza intrínseca de los árboles en el paisaje de una casa o comunidad es difícil de cuantificar. Sin embargo, una estimación razonable es que los árboles aumentan el valor de una casa hasta 20%. Así, una casa con valor de \$100,000 y 25 años de antigüedad tendría un valor adicional de \$20,000 dólares debido al paisaje de árboles (Martin *et al.*, 1989).



**Valor sociológico:** En los últimos años ha sido cada vez mayor el interés por entender el papel de los árboles de zonas urbanas en la generación de beneficios sociológicos para una comunidad. Los árboles, tal vez es obvio, mejoran la conciencia ambiental de los niños en la comunidad (Wolf, 2007). Sin embargo, los árboles tienen un mayor impacto en la salud y el bienestar de los miembros de la comunidad. Los árboles urbanos disminuyen la delincuencia en los barrios (Donovan y Prestemon, 2012), aumentan el peso al nacer (Donovan *et al.*, 2011), disminuyen la incidencia de asma infantil (Pilat *et al.*, 2012) e incluso disminuyen la mortalidad de adultos (Donovan *et al.*, 2013). Estos estudios señalan que los servicios ambientales proporcionados por los árboles son mucho más importantes que muchos de los otros beneficios descritos en este documento. Sin embargo, un valor económico tendría todavía que ser asignado a los valores sociológicos.

**Cuadro 2.** Resumen de beneficios del nogal en la región del oeste, donde CC es créditos de carbono y CRE es créditos por reducción de emisiones.

Producto	Valor medible	Valor no medible	Valor combinado
	Una hectárea (100 árboles adultos)		1 millón de árboles
Nueces	\$5,238 <sup>1</sup>	--	\$52,380,000
Cáscaras	\$9-90	--	\$900,000
Podas de ramas	\$40	--	\$400,000
Hojas y ruznos	--	Calidad del suelo	¿Calculable?
Secuestro de Carbono	\$416 (CC)	42,000 millas ó 3.5 vehículos	\$3,467,00 ó 55,700 vehículos
Liberación de Oxígeno	--	60,000 personas	1,270,000 personas
Control de contaminación	--	\$5,400 (CRE)	\$113,400,000 (CRE)
Modificación del clima	--	\$30/árbol	??
Estética	--	20% del valor de la casa	??
Valores Sociológicos	--	\$\$\$\$	\$\$\$\$
<b>Beneficios Totales</b>	<b>\$5,744</b>	<b>Inestimable</b>	<b>&gt;&gt; \$170,547,000</b>

<sup>1</sup> Basado en \$110 millones generados por 21,000 hectáreas en Nuevo México en el año 2010 (NMDA, 2010).


<sup>2</sup> Nowak (1994).

## Comentarios finales

Los nogales, y los árboles en general, son extremadamente valiosos no sólo para los productores de la región del oeste, sino también para la ciudadanía en general. Mientras que la industria de la nuez es económicamente importante para la región, con un valor anual superior a los \$700 millones de dólares (E.U.A y México), los servicios ambientales prestados por los árboles bien exceden el valor económico (Cuadro 2). Los árboles proporcionan oxígeno, secuestran carbono y amortiguan nuestro entorno personal contra el viento, la lluvia y el sol, y proporcionan beneficios cuantificables para la salud. Además, las huertas de nogal son una gran atracción para los visitantes y residentes por igual.

## Referencias

- DAWSON, G.R. 1983. New Mexico agriculture: A profile. *New Mexico State University Cooperative Extension Service Circ.* (NMSU, CES) 506, 76 p.
- DEJONG, T.M., y Y.L. Grossman. 1994. A supply and demand approach to modeling annual reproductive and vegetative growth of deciduous fruit trees. *HortScience* 29:1435-1442.
- DONOVAN, G.H., y D.T. Butry. 2009. The value of shade: Estimating the effect of urban trees on summertime electricity use. *Energy and Buildings* 41:662-668.
- DONOVAN, G.H., D.T. Butry, Y.L. Michael, J.P. Prestemon, A.M. Liebhold, D. Gatzliolis, y M.Y. Mao. 2013. The relationship between trees and human health. Evidence from the spread of the Emerald Ash Borer. *Am. J. Prev. Med.* 44:139-145.
- DONOVAN, G.H., Y.L. Michael, D.T. Butry, A.D. Sullivan, y J.M. Chase. 2011. Urban trees and the risk of poor birth outcomes. *Health & Place* 17:390-393.
- DONOVAN, G.H., y J.P. Prestemon. 2012. The Effect of Trees on Crime in Portland, Oregon. *Environment and Behavior* 44:3-30.
- HARTMAN, J.R., T.P. Pirone, y M.A. Sall. 2000. Pirone's Tree Maintenance. 7<sup>th</sup> ed. *Oxford Univ. Press*, N.Y., 545 p.
- HERRERA, A.E. 2008. Manejo de Huertas de Nogal. UACH.
- KALLESTAD, J.C., J.G. Mexal, y T.W. Sallis. 2008. Mesilla Valley pecan orchard pruning residues: Biomass estimates and value-added opportunities. *New Mexico State University Agriculture Experiment Station Res. Rep.* 764, 22 p.
- KRAIMER, R.A., W. C. Lindemann, y E. A. Herrera. 2001. Distribution of <sup>15</sup>N Labeled Fertilizer Applied to Pecan; A Case Study. *HortScience* 36:308-312.
- MARTIN, C.W., R.C. Maggio, y D.N. Appel. 1989. The contributory value of trees to residential property in the Austin, Texas metropolitan area. *J. Arboriculture* 15:72-76.
- McPHERSON, E.G., y R.A. Rowntree. 1993. Energy conservation potential of urban tree planting. *J. Arboriculture* 19:321-331.
- McPHERSON, E.G., D. Nowak, G. Heisler, S. Grimmond, C. Souch, R. Grant, y R. Rowntree. 1997. Quantifying urban forest structure, function, and value: the Chicago Urban Forest Climate Project. *Urban Ecosystems* 1:46-61.

- MILLER, R.W. 1988. Urban Forestry. Planning and Managing Urban Greenspaces. *Prentice Hall, Englewood Cliffs*, N.J. 404 p.
- NMDA. 2010. 2010 New Mexico Agricultural Statistics. *USDA National Agriculture Statistics Service in cooperation with New Mexico Department of Agriculture*, 70 p.
- NOWAK, D. J. 1994. Air pollution removal by Chicago's urban forest. In *Chicago's Urban Forest Ecosystem: Results of the Chicago Urban Forest Climate Project* (E. G. McPherson, D. J. Nowak, and R. A. Rowntree, eds), pp. 63–82. General Technical Report No. NE-186, *U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station*, Radnor, PA.
- NOWAK, D.J., y E.J. Greenfield. 2012. Tree and impervious cover change in U.S. cities. *Urban Forestry and Urban Greening* 11:21-30.
- PATTERSON, T.M., y D.L. Coelho. 2009. Ecosystem services: Foundations, opportunities, and challenges for the forest products sector. *Forest Ecology and Management* 257: 1637–1646.
- PILAT, M.A., A. McFarland, A. Snelgrove, K. Collins, T.M. Waliczek, y J. Zajicek. 2012. The effect of tree cover and vegetation on incidence of childhood asthma in metropolitan statistical areas of Texas. *HortTechnology* 22:631-637.
- SAGARPA, 2011. Comité Mexicano del sistema producto nuez, A.C. Cierre estadístico 2011. *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*.
- SIMPSON, J.R. 2002. Improved estimates of tree-shade effects on residential energy use. *Energy and Buildings* 34:1067-1076.
- US EPA, 2013. Clean Energy. <http://www.epa.gov/cleanenergy/energy-resources/refs.html>. (May 30, 2013).
- WOLF, K.L. 2007. Trees and youth in the city: Research on urban forest stewardship and positive youth development, p. 1-8. In: *Sustaining America's Forests: Proceedings of the Society of American Foresters National Convention*. Bethesda MD: *Society of American Foresters*. 

Este artículo es citado así:

Mexal, J.G. y E. Herrera. 2014. Servicios ambientales de árboles: énfasis en la industria del nogal pecanero. *TECNOCENCIA Chihuahua* 8(1): 39-45.

## Resumen curricular del autor y coautores

**JOHN G. MEXAL.** He completed his Ph.D. in 1974, graduating from Colorado State University with a degree in tree physiology. He received his B.S. and M.S. degrees from the University of New Mexico. Following completion of his doctoral degree, he worked as a research scientist for Weyerhaeuser Co. in Arkansas. He joined the Horticulture Department of New Mexico State University in 1983 as Head of the Department. He was named Distinguished Achievement Professor in 2012, and Distinguished Achievement Professor Emeritus when he retired in 2014. His areas of expertise are tree physiology, reforestation, and nursery production. He has taught courses in plant science, arboriculture, nursery production and research methods. He has supervised 11 M.S. and 6 Ph.D. students and attracted over \$2 million in grants. He has published over 200 manuscripts, including 96 refereed journal articles.

**ESTEBAN HERRERA AGUIRRE.** He graduated in 1962 as an agronomist in the College of Agriculture "Hermanos Escobar" in Ciudad Juarez, Mexico. He completed his Master of Science from the State University of Las Cruces, New Mexico, and his Ph.D. at the North Carolina State University. From 1962 to 1970 he worked as an entomologist in several states of the Mexican Republic. He has given numerous lectures and courses on pecan in every state in the United States and Mexico where pecan is grown, and in Argentina, Australia, Egypt, Venezuela and South Africa. He is the author of 5 books to the Academy of Sciences of the State of New Mexico. He is the author of 40 articles published in scientific journals, 116 publications for Extension Service State University Las Cruces, 95 articles published in memory congress of conferences held in Mexico and the United States, and 185 papers published in international agricultural journals. He worked in 1978-2005 as a research professor at the State University Las Cruces, NM where he is currently Professor Emeritus. He currently teaches counseling in pecan orchards in Mexico and the United States, and assists in the annual conferences in pecan Jimenez and Delicias, Chihuahua, and Saltillo, Coahuila.

# Comportamiento en vibraciones longitudinales y transversales de vigas de madera antigua de *Picea abies*

## Longitudinal and transversal vibrations behavior of old *Picea abies* wood beams

JAVIER RAMÓN SOTOMAYOR-CASTELLANOS<sup>1,2</sup>

Recibido: Noviembre 28, 2013

Aceptado: Marzo 24, 2014

### Resumen

El objetivo fue evaluar el comportamiento dinámico de la madera de *Picea abies*. Se realizaron pruebas de vibraciones longitudinales y transversales en cinco vigas con una antigüedad de cien años. Se propone un protocolo experimental para evaluar la resistencia mecánica y la capacidad de amortiguamiento de vibraciones mecánicas de las vigas empleando pruebas no destructivas. Se calcularon el módulo de elasticidad y el coeficiente de amortiguamiento correspondientes a las direcciones longitudinal, radial y tangencial de la madera. Los resultados indicaron una relación de anisotropía de los módulos de elasticidad del orden de  $E_T \approx E_L > E_R$ , con coeficientes de variación aceptables en experimentación de la madera. Igualmente, los coeficientes de amortiguamiento mostraron una anisotropía de:  $\tan \delta_T > \tan \delta_R > \tan \delta_L$ . Se concluyó que las vigas antiguas tienen propiedades mecánicas similares a las de madera recientemente cortada. Los parámetros determinados pueden servir como referencia para el análisis estructural de elementos de madera presentes en edificaciones antiguas. Sin embargo, es necesario considerar las condiciones de cada caso de estudio en particular.

**Palabras clave:** frecuencia, módulo de elasticidad, coeficiente de amortiguamiento, anisotropía, ensayos no destructivos.

### Abstract

The objective was to evaluate the dynamic behavior of *Picea abies* wood. Longitudinal and transversal vibrations tests were performed in five wood beams with an antiquity of one hundred years. An experimental protocol is proposed to evaluate the mechanical strength and the damping capacity of the mechanical vibrations of beams using nondestructive methods. The modulus of elasticity and the damping coefficient corresponding to the longitudinal, radial and tangential directions of the wood were calculated. The results showed an anisotropy ratio of the moduli of elasticity in the order of  $E_T \approx E_L > E_R$ , with acceptable variation coefficients in experimental wood. Similarly, the damping coefficients showed anisotropy of:  $\tan \delta_T > \tan \delta_R > \tan \delta_L$ . It was concluded that the old wood beams have similar mechanical properties to those of recently cut wood. The determined parameters can serve as a reference for the structural analysis of wooden elements present in old buildings. Nonetheless, it is necessary to consider the conditions of each case study in particular.

**Keywords:** frequency, modulus of elasticity, damping coefficient, anisotropy, non destructive testing.

<sup>1</sup> Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera. Ciudad Universitaria, Edificio D. Morelia, Michoacán, México. 50030. Tel. (443) 364-2857.

<sup>2</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: madera999@yahoo.com.

## Introducción

**M**éxico cuenta con una generosa hacienda cultural, constituida entre otras expresiones, por edificios y monumentos históricos. El mantenimiento y la renovación de las estructuras de madera que se integran en este patrimonio necesitan su evaluación estructural, la cual debe estar basada en los principios de mínima intrusión, de reversibilidad y en un método científico.

La industria contemporánea de la construcción con madera diseña estructuras siguiendo criterios de servicio y de fiabilidad estructural recomendados por reglamentos y normas propuestos por instituciones académicas y empresariales. Antiguamente, las estructuras de madera fueron edificadas en función de la disponibilidad de la materia prima y aplicando criterios empíricos (Steiner y Arnold, 2009), de tal forma, que es usual encontrar armazones antiguas con características constructivas particulares, lo que implica consideraciones especiales para su valoración. Entre otras estrategias, el restaurador precisa de adaptar los criterios de normas de clasificación contemporáneas en la evaluación del estado de deterioro de la madera, así como emplear métodos de carácter no destructivo y experimentos *in-situ* para determinar características mecánicas de los miembros estructurales.

En la actualidad, la evaluación de estructuras de madera debe seguir los principios para su preservación propuestos por el Consejo Internacional de Monumentos y Sitios (ICOMOS, 1999), así como respetar las recomendaciones para el análisis, conservación y restauración estructural del patrimonio arquitectural, establecidas por el Comité Científico Internacional para el Análisis y Restauración de Estructuras del Patrimonio Arquitectural (ISCARSAH, 2005).

Este análisis requiere de datos experimentales estimados en elementos estructurales que formen parte de estructuras de madera en servicio. En este caso de estudio, se trata de vigas de madera con dimensiones y características tecnológicas reales de empleo de madera antigua.

El módulo de elasticidad es uno de los parámetros necesarios para el diagnóstico estructural empleando el método del elemento finito (Cointe *et al.*, 2007), las técnicas basadas en el enfoque de los estados límite (Dietsch, 2010) y en el enfoque de análisis probabilístico (Köhler *et al.*, 2007). Para el caso de diseño sísmico, es igualmente deseable contar con datos del módulo de elasticidad evaluado en condiciones dinámicas, por ejemplo, en vibraciones transversales (Saporiti-Machado y Palma, 2011).

La capacidad de una edificación o estructura de madera para amortiguar vibraciones en caso de eventos tales como sismos o movimientos excepcionales está dada por el amortiguamiento estructural, existente principalmente entre las conexiones de los elementos constitutivos de la edificación. Sin embargo, para fines de análisis estructural, es necesario contar con parámetros de la capacidad de disipación de energía de los elementos estructurales. Por ejemplo, el coeficiente de amortiguamiento del material en cuestión (Chopra, 2011).

El módulo de elasticidad y el coeficiente de amortiguamiento de vigas de madera, son dos características de ingeniería necesarias para el análisis estructural de edificaciones con madera. Estos parámetros dependen de las propiedades de anisotropía del material, motivo por el cual es necesario calcularlos según las direcciones longitudinal, radial y tangencial del plano leñoso (Dietsch y Köhler, 2010).

La especie *Picea abies* (L.) Karst (Spruce wood en inglés, Picea en español) es una de las más empleadas en estructuras de madera en Europa (Drdácký *et al.*, 2006). Por su parte, la madera del género *Picea* y sus propiedades físico-mecánicas, son reconocidas como referencias en la investigación en Ciencias, Ingeniería y Tecnología de la Madera.

Moshiri *et al.* (2009) empleando pruebas de vibraciones longitudinales, determinan en madera de *P. abies* con densidad de 484 kg/m<sup>3</sup> y un contenido de humedad de 12%, un módulo de elasticidad en vibraciones transversales de 12,615 MPa. Por su parte, Olsson *et al.* (2012) evalúan en la misma especie con densidad de 472 kg/m<sup>3</sup> y un contenido de humedad de 13.6%, un módulo de elasticidad en vibraciones longitudinales de 12,400 MPa.

Respecto a pruebas de flexión transversal dinámica en la dirección tangencial de la madera de *P. abies*, Larsson *et al.* (1998), determinan un módulo de elasticidad de 12,200 MPa para madera con densidad de 400 kg/m<sup>3</sup> y un contenido de humedad de 13.2%. Por su parte, también en pruebas de flexión dinámica, pero en la dirección radial de la madera, Olsson *et al.* (2012) evalúan un módulo de 12,700 MPa para madera de *P. abies* con densidad de 472 kg/m<sup>3</sup> y un contenido de humedad de 13.6%.

Con relación a las características de amortiguamiento de la madera, Placet *et al.* (2007) estudiaron con pruebas de flexión dinámica la madera de *Quercus sessiliflora*, *Fagus sylvatica*, *Populus* sp. y *Picea abies*. Sus valores del coeficiente de amortiguamiento ( $\tan \delta$ ) variaron entre 0.12 y 0.18. Citados por Havimo (2009), valores del coeficiente de amortiguamiento determinado en pruebas de flexión dinámica en la madera de *Ulmus americana* ( $\tan \delta = 0.29$ ) y *Pinus strobus* ( $\tan \delta = 0.19$ ), son presentados por Olsson y Salmén (1997), y por Salmén (1984) para *Picea abies* ( $\tan \delta = 0.17$ ). Igualmente, Placet *et al.* (2007) presentan valores para la madera de *Quercus sessiliflora* ( $\tan \delta = 0.12$ ) y *Fagus sylvatica* ( $\tan \delta = 0.11$ ). Para el caso de pruebas de vibraciones en la

dirección longitudinal de la madera, Olander *et al.* (1990) muestran valores del coeficiente de amortiguamiento para la madera de *P. abies* de  $\tan \delta = 0.09$ .

Estos resultados provienen de experiencias realizadas con vigas de madera con dimensiones de empleo seleccionadas particularmente para pruebas de clasificación. En la literatura, es escasa la información de parámetros determinados a partir de vigas de madera antigua que forman o formaron parte de edificaciones antiguas. Parece pertinente, determinar parámetros de ingeniería que sirvan como referencia en el análisis estructural de edificaciones históricas de madera.

Los autores revisados, trabajan con elementos estructurales o probetas de madera que satisfacen las normas para realizar pruebas en laboratorio. Por ejemplo, la norma ISO 13822 (ISO, 2003) y las normas europeas EN 408 (ECS, 2003) y EN 384 (ECS, 2004), empleadas para la evaluación de las propiedades físicas y mecánicas de elementos estructurales de madera. Estas normas regulan la configuración de los experimentos, pero sobre todo, las dimensiones y las características de las probetas. Esta normalización es específica para ensayos en condiciones estáticas. No existen normas para realizar ensayos dinámicos y de carácter no destructivo en vigas de madera. El método de evaluación aplicado en la práctica, sigue los criterios para la clasificación visual para madera de uso estructural recomendados por la norma EN 318 (ECS, 1997).

En el caso de estudio que se presenta, se propone un protocolo experimental para determinar características mecánicas y de amortiguamiento de vigas de madera antigua, empleando pruebas no destructivas de vibraciones.

Dado que la autenticidad de los edificios históricos debe ser respetada, solo en ocasiones particulares es posible tener acceso a elementos estructurales de madera antigua y tener la oportunidad de realizar pruebas mecánicas en condiciones de laboratorio. En

la presente investigación, se estudia madera que formó parte del techo de la estación ferroviaria *Masaryk (Praha Masarykovo nádraží*, en Checo), de la ciudad de Praga, República Checa. En 2011, el maderamen fue renovado y sus elementos constitutivos fueron removidos de su función original. De esta estructura, con una antigüedad estimada de 100 años, se rescataron para su caracterización mecánica, cinco vigas de madera de *P. abies*. El objetivo de la investigación fue determinar los módulos de elasticidad y los coeficientes de amortiguamiento de vigas de madera de *P. abies*.

## Materiales y métodos

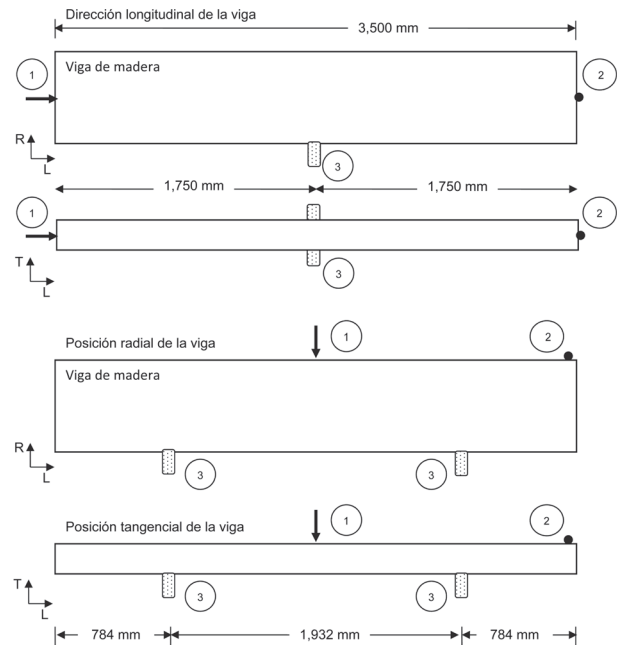
El material experimental consistió en cinco vigas de madera de *P. abies*, con dimensiones de 100 mm de grueso (T), 230 mm de ancho (R) y 3500 mm largo (L) (Figura 1). Una vez desmanteladas de la estructura original, las vigas se limpiaron y se almacenaron durante un año en un almacén con una temperatura promedio de 20 °C y una humedad relativa de 65%. Antes de iniciar las pruebas, se calculó la densidad de la madera con la relación peso/volumen y se midió su contenido de humedad con un aparato *sylvatest®*.

Las pruebas de vibraciones longitudinales, adaptaron el protocolo propuesto por Olsson *et al.* (2012), y las transversales el presentado por Padevit *et al.* (2011). Los experimentos consistieron en medir la frecuencia natural de acuerdo a la configuración de cada tipo de ensayo: vibraciones longitudinales en la dirección longitudinal (L) de las vigas y transversales en las direcciones radial (R) y tangencial (T) del plano leñoso (Figura 1).

En los ensayos para medir las vibraciones en la dirección longitudinal de la madera, las vigas estuvieron colocadas sobre uno de sus cantos, es decir, sobre el grueso de las vigas, en un apoyo elástico y aislante localizado en medio de su portada (L/2) correspondiente al punto nodal del primer modo de vibración. En las pruebas transversales para medir la deflexión en la dirección radial, las vigas estuvieron colocadas igualmente sobre uno de

sus cantos, pero apoyadas sobre dos soportes elásticos y aislantes situados en los puntos nodales del primer modo de vibración (0.224 L). Para las pruebas destinadas a medir la deflexión de las vigas en la dirección tangencial de la madera, las vigas estuvieron colocadas sobre una de sus caras, es decir, sobre su ancho, y apoyadas también sobre dos soportes elásticos y aislantes situados en los puntos nodales del primer modo de vibración (0.224 L) (Figura 1).

**Figura 1.** Pruebas de vibraciones tangenciales. 1) Posición de impacto, 2) Posición del acelerómetro, 3) Punto nodal y posición de soporte. L = Dirección longitudinal; R = Dirección radial; T = Dirección tangencial.

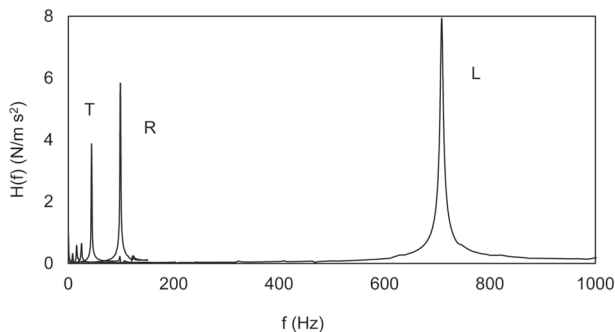


El movimiento de las vigas se inició con un impacto elástico empleando un martillo modelo 8206 (*Brüel & Kjær®*) instrumentado con un sensor de fuerza modelo PCB 208-A04. La aceleración fue registrada con un acelerómetro con una masa de 3 g, tipo 4519-003 (*Brüel & Kjær®*) con un sensor PCB 302-A02.

Las señales temporales de la fuerza de excitación y del movimiento, fueron capturadas con un sistema de tratamiento de datos, modelo 3565-1B (*Hewlett Packard®*), controlado con un

sistema CADA-X (*Leuven Measurement Systems®*). La señal temporal del movimiento fue transformada al dominio de frecuencias usando un algoritmo de la Transformada Rápida de Fourier y la señal de la fuerza de excitación fue convertida en la función respuesta de la frecuencia ( $H(f)$ ). Ambas señales fueron tratadas usando una estación de control de vibraciones modelo Front-end 3560-B-120, con el programa PULSE 14.0 (*Brüel & Kjær®*). La primera frecuencia fue calculada con una precisión de 2 Hz y medida en el diagrama Función Respuesta de la Frecuencia ( $H(f)$ ) versus frecuencias ( $f$ ). A manera de ilustración de las mediciones realizadas, la Figura 2 presenta los diagramas  $H(f)$  vs.  $f$ , de las pruebas longitudinales (L), radiales (R) y tangenciales (T) de la viga 3.

**Figura 2.** Función respuesta de la frecuencia ( $H(f)$ ) y frecuencias naturales ( $f$ ) de la viga 3. L: longitudinal, R: radial y T: tangencial.



En las pruebas longitudinales, el impacto fue aplicado en el centro de la sección transversal en un extremo de la viga. La aceleración fue registrada con el acelerómetro situado igualmente en el centro de la sección en el otro extremo de la viga (Figura 1). Se realizaron cinco impactos y el promedio de los resultados fue utilizado para cálculos posteriores.

El análisis de las pruebas longitudinales, se fundamentó en la ecuación de onda (1) explicada por Meyers (1994):

$$\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} \quad (1)$$

Donde:

$u$  = Desplazamiento desde la posición de equilibrio (m)

$x$  = Coordenada espacial (m)

$c$  = Velocidad de onda (m/s)

$t$  = Tiempo (s)

La solución de la ecuación (1), ha sido sintetizada por Brancheriau y Bailleres (2002) para estudios con madera. El módulo de elasticidad en vibraciones longitudinales fue calculado con la fórmula (2):

$$E_L = 4L^2 f^2 \rho_H \quad (2)$$

Donde:

$E_L$  = Módulo de elasticidad longitudinal (Pa)

$L$  = Longitud de la viga (m)

$f$  = Frecuencia natural (Hz)

$\rho_H$  = Densidad de la madera con un contenido de humedad  $H$  ( $\text{kg/m}^3$ )

En las pruebas radiales y tangenciales, el impacto fue aplicado en medio de la viga. La aceleración fue registrada con el acelerómetro situado cerca de un extremo de la viga (Figura 1). Se realizaron cinco impactos y el promedio de los resultados fue utilizado para cálculos posteriores.

El análisis de las vibraciones transversales se basó en la ecuación de movimiento (3) propuesta por *Stephen Timoshenko* en 1928 (Timoshenko *et al.*, 1994) y empleada por Pers-torper (1993) en el estudio de vigas de madera:

$$E I \frac{\partial^4 y}{\partial x^4} + m_i \frac{\partial^2 y}{\partial t^2} - \left( m_i r^2 + \frac{E I m_i}{K' A G} \right) \frac{\partial^4 y}{\partial x^2 \partial t^2} + \frac{m_i^2 r^2}{K' A G} \frac{\partial^4 y}{\partial t^4} = 0 \quad (3)$$

Donde:

$E$  = Módulo de Elasticidad de la madera (Pa)

$I$  = Momento de inercia de la sección transversal de la viga ( $\text{m}^4$ )

$m_l$  = Masa por unidad de longitud de la viga (kg/m)  
 $A$  = Área de la sección transversal de la viga (m<sup>2</sup>)  
 $G$  = Módulo de Rigidez de la madera (Pa)  
 $y$  = Desplazamiento en la dirección transversal de la viga (m)  
 $x$  = Distancia en la dirección longitudinal de la viga (m)  
 $t$  = Tiempo (s)  
 $K'$  = Factor de forma en cortante (0.833 para vigas prismáticas)  
 $r$  = Radio de giro de la sección transversal de la viga (m<sup>2</sup>)

Con:  $r = \sqrt{I/A}$

En la ecuación (3), el primer término de la izquierda está ligado a la rigidez de la viga, el segundo a la inercia del movimiento, el tercer término representa el efecto de la inercia de rotación de la sección transversal de la viga y el cuarto significa el efecto del esfuerzo cortante interno.

Una solución numérica de la ecuación (3) para el caso de una viga de sección rectangular, apoyada sobre soportes elásticos de tipo simple, como es el caso de estudio, ha sido aplicada en estudios con madera por Chui y Smith (1990) y Machek *et al.* (2001). El módulo de elasticidad transversal se calculó con la fórmula (4):

$$E_{R,T} = \frac{4\pi^2 L_f^4 f^2 \rho_H}{m^4 r^2} \left( 1 + \frac{r^2}{L^2} K \right) \quad (4)$$

Donde:

$E_{R,T}$  = Módulo de elasticidad en las direcciones radial (R) o tangencial (T) (Pa)  
 $L_f$  = Distancia entre apoyos (m)  
 $L$  = Longitud de la viga (m)  
 $f$  = Frecuencia natural (Hz)  
 $\rho_H$  = Densidad de la madera con un contenido de humedad H (kg/m<sup>3</sup>)

$r$  = Radio de rotación de la sección transversal de la viga (m<sup>2</sup>)

$m, K$  = Constantes adimensionales

De la lectura de la gráfica del amortiguamiento de la amplitud de la vibración inducida en cada una de las pruebas (Figura 3), se calculó el decremento de tipo logarítmico (ln) con la fórmula (5) (Raichel, 2006):

$$\delta = \ln \frac{A_n}{A_{n+1}} \quad (5)$$

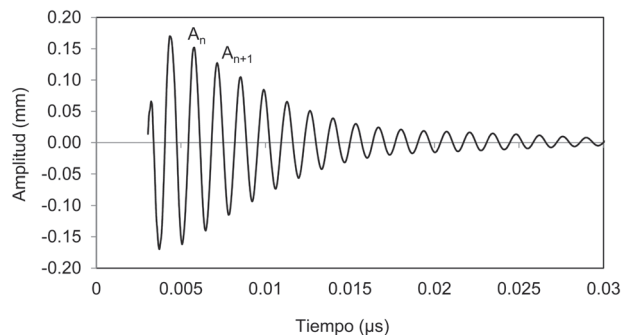
Donde:

$\delta$  = Decremento logarítmico

$A_n$  = Amplitud de la vibración en el ciclo n (m)

$A_{n+1}$  = Amplitud de la vibración en el ciclo n+1 (m)

Figura 3. Amortiguamiento de la amplitud de las vibraciones radiales de la viga 3.



Posteriormente, empleando el decremento logarítmico obtenido con la fórmula (5), el coeficiente de amortiguamiento se calculó con la fórmula (6):

$$\tan \delta = \tan(\delta) \quad (5)$$

Donde:

$\tan \delta$  = Coeficiente de amortiguamiento

$\delta$  = Decremento logarítmico



## Resultados y discusión

La madera de las vigas presentó peculiaridades tecnológicas propias de la madera aserrada de forma artesanal. Su orientación no estaba bien alineada con las direcciones de anisotropía de la madera, de tal forma que las solicitaciones y los parámetros de las vigas definidos no coincidieron necesariamente con las direcciones longitudinal, radial y tangencial. Además, la madera contenía nudos naturales, así como algunas rajaduras ocasionadas por el intemperismo sufrido durante su vida en servicio. Sin embargo, los coeficientes de variación calculados para los diferentes parámetros, son aceptables, y no denotan necesariamente una diferencia importante.

La magnitud de los resultados presentados en los Cuadros 1, 2 y 3, es semejante a la de los autores discutidos en los trabajos anteriores, tanto para los módulos de elasticidad (Larsson *et al.*, 1998; Moshiri *et al.*, 2009; Olsson *et al.*, 2012), cuyos resultados se sitúan en el rango de 12,200 a 12,700 MPa, como para los coeficientes de amortiguamiento (Salmén, 1984; Olander *et al.*, 1990; Olsson y Salmén, 1997; Placet *et al.*, 2007) cuyos resultados varían entre 0.09 y 0.29. Las diferencias entre los resultados de esta investigación y los de los investigadores citados pueden ser explicadas por el efecto de la variabilidad natural de las características mecánicas de la madera, así como por las particularidades en las configuraciones de los métodos de ensayo empleados.

Los valores de la densidad, de la frecuencia, del módulo de elasticidad y del coeficiente de amortiguamiento son diferentes para cada una de las cinco vigas estudiadas. Aún más notorias, son las diferencias según la dirección estudiada: longitudinal, radial y tangencial.

De acuerdo con Brémaud *et al.* (2012), la densidad de la madera así como el ángulo de las microfibrillas en la capa secundaria y los polímeros que componen la pared celular, tienen una influencia en el módulo de elasticidad dinámico y en el coeficiente de amortiguamiento

de la madera. Por su parte, Bodig y Jayne (1982) proponen que los nudos, las bolsas de resina y la presencia de médula, son características que modifican parámetros mecánicos determinados en piezas grandes de madera. Estos argumentos asociados a la variabilidad natural del plano leñoso, pueden explicar la discrepancia en valores entre cada una de las vigas.

**Cuadro 1.** Resultados de las pruebas de vibraciones longitudinales.

Viga	H (%)	$\rho_H$ (kg/m <sup>3</sup> )	$f_L$ (Hz)	$E_L$ (MPa)	$\tan \delta_L$ (%)
1	13.14	448	793	13,796	0.46
2	11.08	414	709	10,185	0.37
3	11.79	449	720	11,390	0.47
4	11.41	366	690	8,531	0.40
5	12.16	433	763	12,350	0.44
$\mu$	11.92	422	735	11,250	0.41
$\sigma$	0.795	34	42	2,014	0.041
CV	0.07	0.08	0.06	0.18	0.10

H = Contenido de humedad;  $\rho_H$  = Densidad;  $f_L$  = frecuencia longitudinal;  $E_L$  = Módulo de elasticidad longitudinal;  $\tan \delta_L$  = Coeficiente de amortiguamiento longitudinal.

**Cuadro 2.** Resultados de las pruebas de vibraciones transversales radiales.

Viga	H (%)	$\rho_H$ (kg/m <sup>3</sup> )	$f_R$ (Hz)	$E_R$ (MPa)	$\tan \delta_R$ (%)
1	13.14	448	99	12,024	0.82
2	11.08	414	90	9,284	0.98
3	11.79	449	90	9,956	0.87
4	11.41	366	91	8,302	0.84
5	12.16	433	97	11,290	0.76
$\mu$	11.92	422	93	10,171	0.85
$\sigma$	0.795	34	4.3	1,500	0.081
CV	0.07	0.08	0.05	0.15	0.09

H = Contenido de humedad;  $\rho_H$  = Densidad;  $f_R$  = frecuencia radial;  $E_R$  = Módulo de elasticidad radial;  $\tan \delta_R$  = Coeficiente de amortiguamiento radial.

**Cuadro 3.** Resultados de las pruebas de vibraciones transversales tangenciales.

Viga	H (%)	$\rho_H$ (kg/m <sup>3</sup> )	$f_T$ (Hz)	$E_T$ (MPa)	$\tan \delta_T$ (%)
1	13.14	448	44	13,431	1.56
2	11.08	414	41	10,524	1.74
3	11.79	449	41	11,412	1.76
4	11.41	366	40	9,079	1.67
5	12.16	433	44	12,710	1.53
$\mu$	11.92	422	42	11,431	1.65
$\sigma$	0.795	34	1.88	1,731	0.104
CV	0.07	0.08	0.04	0.15	0.06

H = Contenido de humedad;  $\rho_H$  = Densidad;  $f_T$  = frecuencia tangencial;  $E_T$  = Módulo de elasticidad tangencial;  $\tan \delta_T$  = Coeficiente de amortiguamiento tangencial.

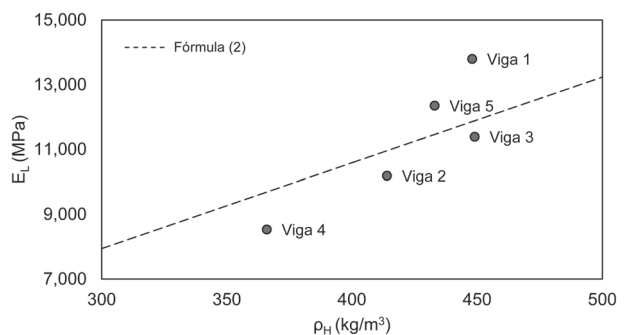
Los módulos de elasticidad presentan una relación de anisotropía del orden de  $E_T \approx E_L > E_R$ , con coeficientes de variación aceptables en experimentación de la madera. Igualmente, los coeficientes de amortiguamiento muestran una anisotropía de:  $\tan \delta_T > \tan \delta_R > \tan \delta_L$ , en una proporción de: 1: 0.52: 0.25, resultados que concuerdan con los de Brémaud *et al.* (2011) y se pueden explicar por la variación en las propiedades de la madera de acuerdo a la dirección en la que se observan. Es decir, las propiedades de anisotropía que le son distintivas a este material.

La fórmula (2) empleada para la determinación del módulo de elasticidad radial, considera el efecto de la inercia de la masa y de la rotación de la sección transversal sobre la deformación de la viga. Sin embargo, la relación largo (dirección L) de la viga en relación a su peralte (dirección R) en la configuración de las pruebas de flexión transversal radial, fue de 16.7. Esta proporción permite, en efecto, y para el caso de las vigas de madera con relaciones mayores a 15, considerar como mínima la participación del esfuerzo cortante en los resultados. Es importante hacer notar que

el módulo de elasticidad de las vigas se calculó a partir de su frecuencia natural de vibración, parámetro que integra el efecto de la masa y de las propiedades relacionadas con su inercia.

La Figura 4 presenta el módulo de elasticidad longitudinal ( $E_L$ ) de las vigas estudiadas en función de la densidad ( $\rho_H$ ) y la recta de predicción de la fórmula (2). La recta teórica fue calculada con el valor promedio de las frecuencias del Cuadro 1 ( $f_L = 735$  Hz). En el mismo contexto, la Figura 5 presenta los módulos de elasticidad tangencial ( $E_T$ ) y radial ( $E_R$ ) en función de la densidad ( $\rho_H$ ) y las rectas de predicción de la fórmula (4). Las rectas fueron calculadas con los valores promedio de las frecuencias de los Cuadros 2 ( $f_R = 93$  Hz) y 3 ( $f_T = 42$  Hz). Los valores experimentales de los módulos de elasticidad fluctúan alrededor de las rectas de predicción y su dispersión puede ser explicada por la variación de la densidad y resistencia entre las vigas lo que resulta en una frecuencia de vibración característica de cada una de ellas.

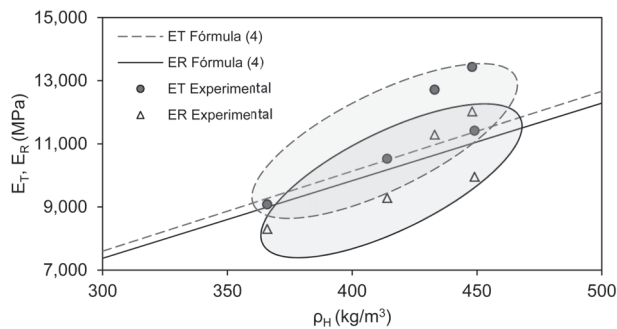
**Figura 4.** Módulo de elasticidad longitudinal ( $E_L$ ) en función de la densidad ( $\rho_H$ ) y recta de predicción de la fórmula (2).



En la Figura 5 se distinguen dos zonas para los valores experimentales de los módulos de elasticidad  $E_T$  y  $E_R$  de las vigas. Estas dos zonas comparten un área común para valores experimentales de las direcciones radial y tangencial y las rectas teóricas de predicción son casi paralelas con coeficientes de determinación  $R^2 = 0.74$  para  $E_T = 43.28 \rho_H - 6831$  y  $R^2 = 0.65$  para  $E_R = 35.22 \rho_H - 4691$ . Si

se pondera la geometría de las vigas y la frecuencia según la dirección de las mediciones, es posible reunir los resultados de las direcciones radial y tangencial en un solo grupo. Este argumento sugiere que en condiciones reales de evaluación y análisis de estructuras de madera, cuando las vigas no están orientadas y/o alineadas con las direcciones de anisotropía de la madera, los módulos de elasticidad pueden ser estimados empleando cualquiera de las dos posiciones de las vigas empleadas en la investigación.

**Figura 5.** Módulos de elasticidad tangencial ( $E_T$ ) y radial ( $E_R$ ) en función de la densidad ( $\rho_H$ ) y rectas de predicción de la fórmula (4).



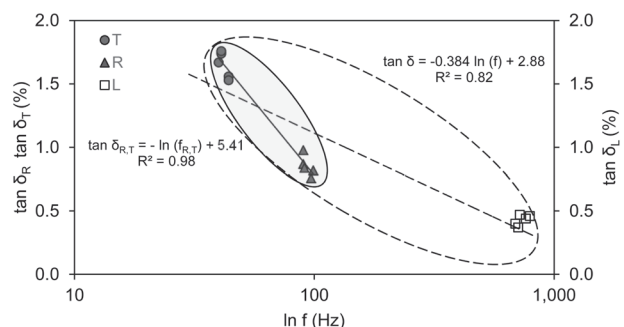
El valor promedio del módulo de elasticidad transversal calculado en la dirección tangencial es 12.39% mayor que el módulo correspondiente a la dirección radial.

Para cada una de las pruebas, la posición relativa de las vigas fue diferente. En el caso de la dirección radial, las vigas estuvieron apoyadas sobre su canto o cara, de tal forma que el peralte o la altura de la viga es mayor en comparación con el caso de los ensayos tangenciales, en los cuales el grueso o canto es la altura de la viga. Esto implica que el cociente entre la longitud de la viga y su peralte, sea mayor en las pruebas para medir parámetros radiales. De aquí que la aparición de deformaciones adicionales ocasionadas por esfuerzos cortantes resulten en módulos de elasticidad aparentemente menores para la sollicitación radial.

El módulo de elasticidad determinado aquí, se refiere a una sollicitación dinámica, lo cual implica una magnitud mayor en comparación a valores determinados con sollicitaciones en condición estática, de acuerdo a los resultados propuestos por Bodig y Jayne (1982) y Pellerin y Ross (2002). Además, las vigas contenían peculiaridades tales como nudos, porciones de médula y no estaban recortadas en las direcciones de anisotropía de la madera. Los valores aquí presentados, ejemplifican parámetros de madera con dimensiones y con calidad que se encuentran habitualmente en edificaciones antiguas.

Los coeficientes de amortiguamiento disminuyen si las frecuencias naturales aumentan, considerando que las magnitudes de éstas varían a su vez de acuerdo a las direcciones en que fueron medidas. La Figura 6 ilustra la anisotropía de los coeficientes de amortiguamiento y presenta las correlaciones con las frecuencias. Se pueden distinguir dos zonas: la primera para las direcciones radial y tangencial, y la segunda para las direcciones radial, tangencial y longitudinal. En ambos casos, los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) son altos. Estos resultados encuentran su utilidad en trabajos de diagnóstico estructural *in-situ*, cuando es difícil medir directamente el amortiguamiento en componentes de madera. Estimar estos parámetros a partir de mediciones de frecuencias, puede ser una solución que, tomando en cuenta las condiciones reales de cada caso de estudio, es de utilidad práctica.

**Figura 6.** Coeficientes de amortiguamiento tangencial ( $\tan \delta_T$ ), radial ( $\tan \delta_R$ ) y longitudinal ( $\tan \delta_L$ ) en función de la frecuencia ( $f$ ).



Es oportuno hacer notar que la muestra estudiada de cinco piezas es pequeña desde el punto de vista estadístico. Dado la singularidad y escasez del material cuando se experimenta con madera extraída de edificaciones históricas, los resultados promedio de cinco vigas pueden ser utilizados como referencia para estudios más amplios, considerando las reservas convenientes para cada caso de estudio en particular.

## Conclusiones

Los módulos de elasticidad y los coeficientes de amortiguamiento calculados en vigas de madera de *P. abies* pueden ser útiles como valores de referencia para análisis y modelado estructural de edificios de madera con valor histórico y cultural.

El protocolo experimental para determinar características mecánicas y de amortiguamiento de vigas de madera antigua, empleando pruebas no destructivas de vibraciones, fue útil para la caracterización mecánica de elementos estructurales de madera. La densidad, los módulos de elasticidad y los coeficientes de amortiguamiento determinados pueden servir como referencia para diagnósticos mecánicos de edificaciones antiguas cuando no sea prudente dismantelar estructuras de madera.

Los módulos de elasticidad y los coeficientes de amortiguamiento de la madera, mostraron propiedades de anisotropía en las direcciones longitudinal, radial y tangencial de las vigas. La magnitud de los coeficientes de variación de los módulos de elasticidad y los coeficientes de amortiguamiento, en las tres direcciones de la madera, se sitúa en un intervalo aceptable y comparable en caracterización mecánica de la madera.

## Literatura citada

- BODIG, J. and B.A. Jayne. 1982. *Mechanics of Wood Composites*. Van Nostrand Reinhold. USA.
- BRANCHERIAU, L. and H. Bailleres. 2002. Natural vibration analysis of clear wooden beams: a theoretical review. *Wood Science and Technology* 36: 347-365.
- BRÉMAUD, I., J. Gril, and B. Thibaut. 2011. Anisotropy of wood vibrational properties: dependence on grain angle and review of literature data. *Wood Science and Technology* 45:735-754.
- BRÉMAUD, I., J. Ruelle, A. Thibaut, and B. Thibaut. 2012. Changes in viscoelastic vibrational properties between compression and normal wood: roles of microfibril angle and of lignin. *Holzforchung* 67(1):75-85.
- COINTE, A., P. Castéra, P. Morlier, and P. Galimard, P. 2007. Diagnosis and monitoring of timber buildings of cultural heritage. *Structural Safety* 29:337-348.
- CHOPRA, A.K. 2011. *Dynamics of Structures*. (Fourth Edition). Prentice-Hall International Series in Civil Engineering and Engineering Mechanics. USA.
- CHUI, Y.H. and I. Smith. 1990. Influence of rotatory inertia, shear deformation and support condition on natural frequencies of wooden beams. *Wood Science and Technology* 24: 233-245.
- DIETSCH, P. and J. Köhler. 2010. *Assessment of Timber Structures*. COST Action E55. Modelling of the Performance of Timber Structures. European Science Foundation. Shaker Verlag. Deutschland.
- DRDÁČKÝ, M.F., M. Kloiber, and M. Kotlínová. 2006. Low invasive diagnostics of historic timber. In: *In-Situ Evaluation of Historic Wood and Masonry Structures*. NSF/MŠMT supported US-Czech project and RILEM Workshop. Prague. Czech Republic.
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 1997. *European Standard EN 318. Structural timber. Grading. Requirements for visual strength grading standards*. Brussels.
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 2003. *European Standard EN 408. Timber structures. Structural timber and glued laminated timber. Determination of some physical and mechanical properties*. European Committee for Standardization. Brussels.
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 2004. *European Standard EN 384. Structural timber—Determination of characteristic values of mechanical properties and density*. European Committee for Standardization. Brussels.
- HAVIMO, M. 2009. A literature-based study on the loss tangent of wood in connection with mechanical pulping. *Wood Science and Technology* 43:627-642.
- INTERNATIONAL COUNCIL ON MONUMENTS AND SITES (ICOMOS). 1999. *Principles for the Preservation of Historic Timber Structures*. Mexico.
- INTERNATIONAL SCIENTIFIC COMMITTEE FOR ANALYSIS AND RESTORATION OF STRUCTURES OF ARCHITECTURAL HERITAGE (ISCARSAH). 2005. *Recommendations for the analysis, conservation and structural restoration of architectural heritage*. Spain.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. 2003. *International Standard ISO 13822: Bases for design of structures - Assessment of existing structures*. Switzerland.
- KÖHLER, J., J.D. Sørensen, and M.H. Faber. 2007. Probabilistic modeling of timber structures. *Structural Safety* 29(4):255-267.
- LARSSON, D., S. Ohlsson, M. Perstorper, and J. Brundin. 1998. Mechanical properties of sawn timber from Norway spruce. *Holz als Roh- und Werkstoff* 56:331-338.
- MACHEK, L., H. Millitz, and R. Sierra-Alvarez. 2001. The use of an acoustic technique to assess wood decay in laboratory soil-bed tests. *Wood Science and Technology* 34:467-472.
- MEYERS, M.A. 1994. *Dynamic Behavior of Materials*. John Wiley & Sons. USA.
- MOSHIRI, F., B. Mobasher, and O.T. Issa. 2009. *Detection of defects in timber using dynamic excitation and vibration analysis*. Thesis No: TD 087/2009. Växjö University. Sweden.

- OLANDER, K., I. Salmen, and M. Htun. 1990. Relation between mechanical properties of pulp fibers and the activation energy of softening as affected by sulfonation. *Nord & Pulp Paper Journal* 5(2): 60-64.
- OLSSON, A.M. and L. Salmén. 1997. The effect of lignin composition on the viscoelastic properties of wood. *Nordic Pulp & Paper Journal* 12(3):140-144.
- OLSSON, A., J. Oscarsson, M. Johansson, and B. Kaällsner. 2012. Prediction of timber bending strength on basis of bending stiffness and material homogeneity assessed from dynamic excitation. *Wood Science and Technology* 46(4): 667-683.
- PADEVIT, P., T. Tesárek, and T. Plachý. 2011. Evolution of mechanical properties of gypsum in time. *International Journal of Mechanics* 1(5): 1-9.
- PELLERIN, R.F. and R.J. Ross. Editors. 2002. *Nondestructive Evaluation of Wood*. Forest Products Society. USA.
- PERSTORPER, M. 1993. Dynamic modal tests of timber evaluation according to the Euler and Timoshenko theories. In: *Proceedings of the 9th International Symposium on Nondestructive Testing of Wood*. Washington State University. USA. pp: 45-54.
- PLACET, V., J. Passard, and P. Perré. 2007. Viscoelastic properties of green wood across the grain measured by harmonic tests in the range 0-95 °C: hardwood vs. softwood and normal vs. reaction wood. *Holzforshung* 61:548-557.
- RAICHEL, D.R. 2006. (Second edition). *The science and applications of acoustics*. Springer, USA.
- SALMÉN, L. 1984. Viscoelastic properties of in situ lignin under water-saturated conditions. *Journal of Materials Science* 19:3090-3096.
- SAPORITI-MACHADO, J. and P. Palma. 2011. Non-destructive evaluation of the bending behavior of in-service pine timber structural elements. *Materials and Structures* 44:901-910.
- STEIGER, R. and M. Arnold. 2009. Strength grading of Norway spruce structural timber: revisiting property relationships used in EN 338 classification system. *Wood Science and Technology* 43:259-278.
- TIMOSHENKO, S., D.H. Young, and W. Weaver. 1994. Reprinted Edition. *Vibration problems in Engineering*. New York: John Wiley. USA. 

---

Este artículo es citado así:

Sotomayor-Castellanos, J. R. 2014. Comportamiento en vibraciones longitudinales y transversales de vigas de madera antigua de *Picea abies*. *TECNOCENCIA Chihuahua* 8(1): 46-56.

## Resumen curricular del autor

**JAVIER RAMÓN SOTOMAYOR CASTELLANOS.** Es Ingeniero en Tecnología de la Madera, egresado de la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en Morelia, Michoacán, México. Estudió la Maestría en Análisis Estructural de Monumentos y Construcciones Históricas en el programa combinado en la Universidad de Minho, Portugal y en la Universidad Técnica Checa en Praga, Republica Checa. Actualmente es Profesor en la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera. Su línea de investigación es la caracterización mecánica de la madera.

# Guía para autores de escritos científicos

## Política editorial

Son bienvenidos manuscritos originales e inéditos de tipo científico, tecnológico o humanístico, los cuales deberán estar escritos con un lenguaje accesible a lectores con formación profesional, atendiendo a los principios de precisión, lógica y claridad. Todo manuscrito recibido es revisado en primera instancia por el Comité de Editores Asociados, para asegurar que cumpla con el formato y contenido establecido por las normas editoriales de *TECNOCENCIA Chihuahua*. Una vez revisado, los editores asociados determinarán su viabilidad para ser publicado; enseguida, se regresa al autor responsable para que incorpore las observaciones y sea editado. Posteriormente, es sometido a un estricto arbitraje bajo el sistema de doble ciego, realizado por dos especialistas en el área del conocimiento.

Para la evaluación de escritos 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 deben presentar: Un análisis detallado de los resultados, así como un desarrollo metodológico original, una manipulación nueva del tema investigado, o ser de gran impacto social. Sólo serán aceptados trabajos basados en encuestas donde se incluyan mediciones, organización, análisis estadístico, prueba de hipótesis e inferencia sobre los datos obtenidos del estudio.

## Lineamientos generales

Se aceptan manuscritos originales e inéditos, producto de la creatividad del o los autores, cuyos resultados de investigación no hayan sido publicados parcial o totalmente (excepto como resumen de algún congreso científico), ni estén en vías de publicarse en otra revista (nacional o internacional) o libro. Para tal fin, el autor y coautores deberán firmar la carta de autoría, donde declaran que su trabajo no ha sido publicado o enviado para su publicación simultáneamente en otra revista; además, en dicho documento señalarán estar de acuerdo en aceptar las normas y procedimientos establecidos por el Consejo Editorial Internacional de la *Revista*

*TECNOCENCIA Chihuahua*, especificando el nombre del investigador a quien se dirigirá toda correspondencia oficial (autor de correspondencia). Se aceptan artículos en español o inglés, sin embargo, tanto el título como el resumen deberán escribirse en ambos idiomas. El contenido puede ser cualquier tema relacionado con algunas de las áreas del conocimiento definidas previamente o que a juicio del Consejo Editorial Internacional pueda ser de interés para la comunidad científica.

El Comité Editorial del área a la que se envíe el manuscrito, revisará que los resultados obtenidos sean de impacto regional, nacional o internacional. Además, prestará atención a la metodología en la que se sustenta la información y que esta sea adecuada y verificable por otros investigadores. No se aceptarán artículos basados en pruebas de rutina, o cuyos resultados experimentales se obtuvieron sin un método estadístico apropiado.

Cuando un artículo presente resultados experimentales con un alcance limitado puede recomendarse su publicación como una Nota Científica. Reconocemos que una mejora de la calidad de la revista es responsabilidad tanto del Consejo Editorial Internacional como de los autores.

## Manuscritos

Se entregarán cuatro copias impresas y una versión electrónica del manuscrito. También podrán remitirse los manuscritos a las direcciones

electrónicas de la revista que fueron mencionadas anteriormente pero la carta de presentación, firmada debidamente por los autores, deberá entregarse personalmente en las oficinas de la Dirección de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Chihuahua; también puede escanearse para su envío por correo electrónico o remitirse por FAX [(614) 439-1823]. Todo manuscrito deberá acompañarse con la carta de autoría firmada por todos los autores, cuyo formato es proporcionado por la revista. En la carta deberá indicarse el orden de coautoría y el nombre del autor de correspondencia con la revista, para facilitar la comunicación con el Editor en Jefe. Esta carta debe incluir datos completos de domicilio, número de fax y dirección electrónica.

### Formato

El manuscrito científico tendrá una extensión máxima de 25 cuartillas, incluyendo figuras y cuadros, sin considerar la página de presentación. Para su escritura se utilizará procesador Word 2003 o posterior, para Windows XP o versión más reciente; todo texto se preparará utilizando la fuente Arial en 12 puntos, escrito a doble espacio y numerando páginas, renglones, cuadros y figuras del documento para facilitar su evaluación. Utilizar un margen izquierdo de 3.0 cm y 2.0 cm para el resto. Se recomienda no utilizar sangría al empezar cada párrafo del manuscrito. Los manuscritos de las diferentes categorías de trabajos que se publican en la revista deberán contener los componentes que a

continuación se indican, empezando cada uno de ellos en página aparte.

- a. Página de presentación.
- b. Resumen en español (con palabras clave en español).
- c. Resumen en inglés, abstract (con palabras en inglés, keywords).
- d. Texto (capítulos y su orden).
- e. Agradecimientos (opcional).
- f. Literatura citada.

**Página de presentación.** No se numera y debe contener: a) Títulos en español e inglés, escritos en mayúsculas y minúsculas, letras negritas y centradas; b) Nombres de los autores en el orden siguiente: Nombres y apellidos de autor y coautores, uniendo con un guión el apellido paterno y materno de cada uno; incluir su afiliación institucional; c) Información completa (incluyendo teléfono, domicilio con el código postal y dirección electrónica), anotando departamento e institución a la que pertenece el autor y coautores; si el autor y coautores pertenecen a la misma institución, no es necesario numerarlos (ver ejemplo mostrado en el cuadro de texto). Como una norma general, el Editor en Jefe se dirigirá solamente al autor de correspondencia mencionado en la carta de autoría y no se proporcionará información alguna a otra persona que lo solicite.

**Cuadro 1.** Ejemplo de una página de presentación de un manuscrito científico que incluye títulos, autores y coautores, así como nombre de institución de adscripción y datos generales para propósitos de comunicación.

## **Análisis de áreas deforestadas en la región centro-norte de la Sierra Madre Occidental de Chihuahua, México**

Deforest analysis areas in the north central region of the Sierra Madre  
Occidental of Chihuahua, Mexico

Carmelo Pinedo-Álvarez<sup>1,3</sup>, Rey Manuel Quintana-Martínez<sup>1</sup>  
y Martín Martínez Salvador<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Periférico Francisco R. Almada, Km 1 de la Carretera Chihuahua-Cauhtémoc. Chihuahua, Chih., México, 31031. Tel. (614) 434-0303.

<sup>3</sup> Campo Experimental La Campana-Madera, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Av. Homero 3744, Fracc. El Vergel. Chihuahua, Chih., México, 31100.

<sup>3</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: cpinedo@uach.mx.

**Título.** Es indicador del contenido del artículo, y si está escrito apropiadamente, facilitará indexarlo. Un buen título es breve (no más de 15 palabras), descriptivo e identifica el tema y propósito del estudio; al escribir el título debe elegirse palabras de gran impacto que revele la importancia del trabajo. Es recomendable evitar el uso de palabras o frases que tienen poco impacto y que no proporcionan información relevante sobre el contenido del estudio; por ejemplo: «*Estudio de . . . ; Influencia de la . . . , Efecto del . . . ; Relación de...*», entre otros.

**Resumen en español.** Al leer un resumen, el investigador puede reconocer el valor del contenido del escrito científico y decidir si lo revisa todo; por lo tanto, el resumen proporciona valiosa información del estudio facilita al lector decidir si lee todo el escrito. En la segunda página se debe incluir un resumen que no exceda 250 palabras. Aquí se indicarán la justificación y objetivos del estudio; una breve descripción de la metodología empleada; una descripción de los resultados más relevantes y presentar datos numéricos importantes (ejemplo: *se observó un incremento de 15 % en el rendimiento con la densidad de 60,000 plantas por ha*), y de ser posible, enfatizar el significado estadístico y escribir la conclusión general del trabajo.

**Palabras clave.** Después del resumen, en punto y aparte, escribir alfabéticamente de 4 a 6 palabras o frases cortas clave diferentes a las del título, que ayuden a indexar y clasificar el trabajo de acuerdo a su contenido. Las palabras se publicarán junto con el resumen. Los nombres de especies biológicas se escriben al principio de esta sección.

**Resumen en inglés (*abstract*).** Debe ser una traducción exacta del resumen en español, para ello es conveniente que los autores busquen la asesoría de profesionales de las ciencias que dominen el idioma inglés.

**Palabras clave en inglés (*keywords*).** Son las mismas palabras indicadas para el resumen en español que deberán ser traducidas al idioma inglés con la asesoría de un científico o técnico experto en la lengua.

**Texto (capítulos y su orden).** Existen diferencias en cuanto al contenido y estructura de cada una de las categorías de escritos científicos, que son

publicados en la revista. Las normas específicas para cada categoría son descritas enseguida, y para aquellos escritos recibidos que no se ajusten a estos formatos, el Consejo Editorial decidirá si pueden enviarse para su revisión al Comité Editorial del área correspondiente.

## 1. Artículo científico

Trabajo completo y original, de carácter científico o tecnológico, cuyos resultados se obtuvieron de investigaciones conducidas por los autores en alguna de las seis áreas del conocimiento citadas inicialmente. El manuscrito científico se divide en los capítulos siguientes:

- Resumen y abstract
- Introducción
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Agradecimientos
- Literatura citada

### Resumen y *abstract*

En una sección previa fueron descritas las normas editoriales para elaborar este elemento del escrito científico.

### Introducción

- a) Es importante resaltar el *tema* que trata la investigación. Se recomienda iniciar esta sección redactando una o dos oraciones de carácter universal, que sirva al investigador como argumento científico al describir su trabajo. A continuación se cita un artículo, cuyo título es: «Olor penetrante y azúcares de cultivares de cebolla de días cortos afectados por nutrición azufrada»; los autores empiezan con las oraciones siguientes:

«El sabor en la cebolla (*Allium cepa*) depende de hasta 80 compuestos azufrados, característicos del género *Allium*, además de varios carbohidratos solubles en agua. La intensidad del sabor es determinada por el genotipo de la variedad de cebolla y el ambiente en que se cultiva».



- b) También debe incluirse la *información previa y publicada* sobre el tema del estudio (*antecedentes*). Para orientar al lector es suficiente incluir referencias bibliográficas relevantes y recientes, en lugar de una revisión extensa de citas a trabajos viejos y de poca importancia sobre el tópico investigado. A continuación se presenta un ejemplo de cómo presentar cronológicamente las citas bibliográficas:

«La existencia de variación genética dentro de los cultivares de cebolla ha sido demostrada para intensidad de sabor y contenido total de azúcares (Darbyshire y Henry, 1979; Bajaj *et al.*, 1980; Randle, 1992b).

- c) *Problema a resolver*. Con una o dos oraciones especificar el problema abordado, justificar la realización del estudio, o bien, enunciar la hipótesis planteada por el investigador y cuya validez será probada por el experimento. Siguiendo con el ejemplo anterior, se presenta una breve descripción del problema estudiado:

«Se requiere un mayor conocimiento sobre características deseables, como el sabor intenso y contenido de carbohidratos solubles de la cebolla, que son afectadas por la interacción cultivar x niveles de fertilización azufrada»

- d) *Definición de los objetivos del estudio*. Aquí se enuncia brevemente hacia donde se dirige la investigación, es decir, se describe la manera o el medio a través del cual se pretende examinar el problema definido o la pregunta planteada por el investigador. Esta parte de la introducción permitirá al lector ver si las conclusiones presentadas por el investigador son congruentes con los objetivos planteados al inicio del trabajo. Ejemplo:

«Los objetivos de esta investigación fueron: **Evaluar cultivares** de cebolla de fotoperiodo corto, caracterizadas por su poco sabor y bajo contenido de carbohidratos solubles en agua, con niveles bajos y altos de azufre y **determinar la asociación** de dichas características con la fertilización».

## Materiales y métodos

Debe responder a las preguntas: ¿Dónde? ¿Cuándo? ¿Cómo se hizo el trabajo? Puede incluir cuadros y figuras. El autor debe proporcionar información concisa, clara y completa, para que las técnicas y/o los procedimientos descritos así como las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo el estudio, puedan ser repetibles por otros investigadores competentes en el área (lugar, ciclo o etapa biológica, manejo del material biológico, condiciones ambientales, etc.).

Si un procedimiento es ampliamente conocido basta con citar a su(s) autor(es); sin embargo, cuando el método seguido ha sido modificado, debe proporcionarse detalles suficientes del mismo así como de un diseño experimental inusual o de los métodos estadísticos aplicados para el análisis de los resultados (arreglo de tratamientos, diseño experimental, tamaño de la unidad experimental, variables de respuesta, proceso de muestreo para obtener los datos, análisis estadístico de los datos, técnica de comparación de medias, etc.). Es recomendable dar una descripción cronológica del experimento y de los pasos de la metodología aplicada.

Al describir los materiales, deben señalarse especificaciones técnicas, cantidades, fuentes y propiedades de los materiales indicando nombre y dirección del fabricante. Para el caso de material biológico, dar información suficiente de las características particulares de los organismos (edad, peso, sexo, etapa fenológica, etc.); es importante también identificar con precisión el género, especie y nombre del cultivar o raza utilizado en el estudio. Si se trata de material no vivo, por ejemplo suelo cultivado, proporcionar los datos taxonómicos para facilitar su identificación.

## Resultados y discusión

Los resultados derivados del estudio se distinguen porque: son presentados en forma de cuadros y figuras, analizados estadísticamente e interpretados, bajo la luz de la hipótesis planteada antes de iniciar la investigación. Es recomendable que el autor incluya un número óptimo de cuadros y figuras de buena calidad, que sean absolutamente necesarios y que sirvan como fundamento para mejorar la comprensión de los resultados y darle soporte a la hipótesis sometida a prueba.

Cada cuadro y figura debe numerarse; su título debe ser claro y descriptivo; los símbolos y abreviaturas incluidos deben ser explicados apropiadamente. Los cuadros y figuras elaborados a partir de los *resultados* deben ser explicativos por sí mismos; los comentarios que se hagan deben resaltar características especiales tales como: Relaciones lineales o no lineales entre variables, una cantidad estadísticamente superior a otra, tendencias, valores óptimos, etc. En síntesis responde a la pregunta ¿qué ocurrió?

En la sección de *discusión* los datos presentados en forma de cuadros y figuras son interpretados enfocando la atención hacia el problema (o pregunta planteada) definido en la introducción, buscando demostrar la validez de la hipótesis elaborada por el investigador. Una buena discusión puede contener:

- a) Principios, asociaciones y generalizaciones basadas en los resultados.
- b) Excepciones, variables correlacionadas o no y definición de aspectos del problema no citados previamente pero que requieren ser investigados.
- c) Énfasis sobre resultados que están de acuerdo con otro trabajo (o lo contradicen).
- d) Implicaciones teóricas o prácticas.

Cuando la discusión se presenta en una sección separada no debe escribirse como una recapitulación de los resultados, pero debe centrarse en explicar el significado de ellos y explicar como proporcionan una solución al problema abordado durante el estudio. Cuando se comparan los resultados del presente estudio con otros trabajos, ya sea que coincidan o estén en desacuerdo con ellos, deben citarse las referencias más pertinentes y recientes.

### Conclusiones

Es aceptable escribir en una sección separada una o varias conclusiones breves, claras y concisas, que se desprenden de los resultados de la investigación y que sean una aportación muy concreta al campo del conocimiento donde se ubica el estudio. No se numeran las conclusiones y al redactarlas debe mantenerse la congruencia con los objetivos del trabajo y el contenido del resumen.

### Agradecimientos

En este apartado, se puede dar el crédito a personas o instituciones que apoyaron, financiaron o contribuyeron de alguna manera a la realización del trabajo. No se debe mencionar el papel de los coautores en este apartado.

### Literatura citada

Incluye la lista de referencias bibliográficas citadas en el manuscrito científico, ordenadas alfabéticamente y elaborada conforme a las reglas siguientes:

1. Es recomendable que las referencias bibliográficas obtenidas sean preferentemente de: *Artículos científicos* de revistas periódicas indexadas, *capítulos o libros y manuscritos en extenso* (4 o más cuartillas) publicados en memorias de congresos científicos.
2. Al escribir una referencia empezar con el apellido paterno (donde sea costumbre agregar enseguida el apellido materno separado por un guión) del autor principal y luego las iniciales de su(s) nombre(s). Enseguida escriba la inicial del nombre del segundo autor y su primer apellido. Continuar así con el tercero y siguientes autores separando sus nombres con una coma y una y entre el penúltimo y último autor.
3. Colocar primero las referencias donde un autor es único y enseguida donde aparece como autor principal. En estos casos el orden de las citas se establece tomando como base el apellido del primer coautor que sea diferente.
4. En las citas donde el(los) autor(es) sea(n) los mismos, se ordenarán cronológicamente; se utilizarán letras en referencias de los mismos autores y que fueron publicadas en el mismo año (2004a, 2004b, 2004c, etc.).
5. Títulos de artículos y de capítulos de libros se escribirán con minúsculas (excepto la primera letra del título y nombres propios). Los títulos de libros llevan mayúsculas en todas las palabras excepto en las preposiciones y artículos gramaticales.

Cada uno de los tipos de referencias bibliográficas y las reglas para citarlas se ilustran con ejemplos enseguida:

### Artículos científicos de revistas periódicas

- Gamiely, S., W. M. Randle, H. A. Mills, and D. A. 1991. Onion plant growth, bulb quality, and water uptake following ammonium and nitrate nutrition. *HortScience* 26(9):1061-1063.
- Randle, W. M. 1992a. Sulfur nutrition affects nonstructural water-soluble carbohydrates in onion germplasm. *HortScience* 27(1):52-55.
- Randle, W. M. 1992b. Onion germplasm interacts with sulfur fertility for plant sulfur utilization and bulb pungency. *Euphytica* 59(2):151-156.

### Capítulos de libros

- Darbyshire, B. and B. T. Steer. 1990. Carbohydrate biochemistry. In: H.D. Rabinowitch and J.L. Brewster (eds.). *Onions and allied crops. Vol. 3. CRC Press, Boca Raton, Fla. p. 1-6*

### Libros

- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1960. Principles and Procedure of Statistics: A Biometrical Approach. McGraw-Hill Book Company Inc. New York. 481 p.

### Memorias de Congresos Científicos

- Mata, R. J., F. Rodríguez y J. L. Pérez. 2005. Evaluación de aditivos fertilizantes: raíz-set LSS (producto comercial) y root N-Hancer (producto experimental) en la producción de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) en Chapingo, México. In: Memoria de artículos en resumen y en extenso, XI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas (SOMECH). 27-29 de septiembre de 2005. Chihuahua, Chih., México. p.134.

### Boletín, informe, publicación especial

- Hoagland, D. R. and D. I. Arnon. 1980. The water culture method for growing plants without soil. Calif. Agr. Exp. Sta. Circ. 347. 50 p.
- Alvarado, J. 1995. Redacción y preparación del artículo científico. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Publicación Especial 2. 150 p.
- US Environmental Protection Agency (USEPA). 1981. Process design manual for land treatment

of municipal wastewater. USEPA Rep. 625/1-77-008 (COE EM1110-1-501). U.S. Gov. Print. Office, Washington, D.C. 60 p.

## 2. Nota científica

Son de menor extensión que un artículo (máximo 10 cuartillas a doble espacio, incluyendo cuadros y figuras). Pueden incluirse:

- Descubrimientos o aportaciones breves, obtenidas de un estudio reciente de carácter local o limitado;
- el producto de modificaciones o mejoramiento de técnicas, procedimientos experimentales, análisis estadísticos, aparato o instrumental (de laboratorio, invernadero o campo);
- informes de casos clínicos de interés especial;
- resultados preliminares, pero importantes y novedosos, de investigaciones en desarrollo, o bien,
- desarrollo y aplicación de modelos originales (matemáticos o de cómputo) y todos aquellos resultados de investigación que a juicio de los editores merezcan ser publicados.

Como en el caso de un artículo extenso, la nota científica debe contener: a) *título* (español e inglés), b) *autor(es)*, c) *institución de adscripción del autor(es)*, d) *resumen* (en español e inglés), e) *palabras clave* (español e inglés). El *texto* de una nota científica contendrá también la misma información señalada para un artículo extenso: f) *introducción*, g) *materiales y métodos*, h) *resultados y discusión* y i) *conclusiones*; sin embargo, su redacción será corrida de principio a final del trabajo; esto no quiere decir que sólo se supriman los subtítulos, sino que se redacte en forma continua y coherente. La nota científica también incluye el inciso k) *bibliografía*.

## 3. Ensayo científico

Manuscrito de carácter científico, filosófico o literario, que contiene una contribución crítica, analítica y solidamente documentada sobre un tema específico y de actualidad. Se caracteriza por ser una aportación novedosa, inédita y expresa la opinión del(os) autor(es) así como conclusiones bien

sustentadas. Su extensión máxima es de 20 cuartillas a doble espacio (incluyendo cuadros y figuras).

La estructura del ensayo contiene los incisos siguientes: a) *Títulos* (español e inglés), b) *autor(es)*, c) *Institución de adscripción*, d) *resumen* (español e inglés), e) *palabras clave* (español e inglés), f) *introducción*, g) *desarrollo del tema*, g) *conclusiones* y h) *bibliografía*. El tópico es analizado y discutido bajo el apartado *Desarrollo del tema*.

#### 4. Revisión bibliográfica

Consiste en el tratamiento y exposición de un tema o tópico relevante y de actualidad. Su finalidad es la de resumir, analizar y discutir, así como poner a disposición del lector información ya publicada sobre un tema específico. Ya sea que la revisión temática sea solicitada por el Consejo Editorial a personas expertas o bien que el manuscrito sea presentado por un profesional experimentado, debe resaltarse la importancia y significado de hallazgos recientes del tema. El texto contiene los mismos capítulos de un ensayo, aunque en el capítulo *desarrollo del tema* es recomendable el uso de encabezados para separar las diferentes secciones o temas afines en que se divide la revisión bibliográfica; además, se sugiere el uso de cuadros y figuras para una mayor comprensión del contenido.

#### Preparación de cuadros y figuras

Se recomienda insertar los cuadros y figuras, numerados progresivamente, en el lugar correspondiente del texto. Los cuadros y gráficas deberán dejarse como objetos editables (no como imágenes insertadas), con el propósito de modificarlos en caso de ser requerido. Los títulos de los cuadros y/o figuras se escriben en letra Arial, negritas y 12 puntos. En los títulos, el uso de las letras mayúsculas se limita a la primera letra y nombres propios.

#### Cuadros

Los cuadros con los resultados se presentan en tablas construidas preferentemente con tres o cuatro líneas horizontales; las dos primeras sirven para separar los encabezados, mientras que la(s) última(s), para cerrar la tabla. Las líneas verticales

se usan también para distinguir columnas de datos. A continuación se presenta un ejemplo de cuadros con información estadística:

#### Figuras

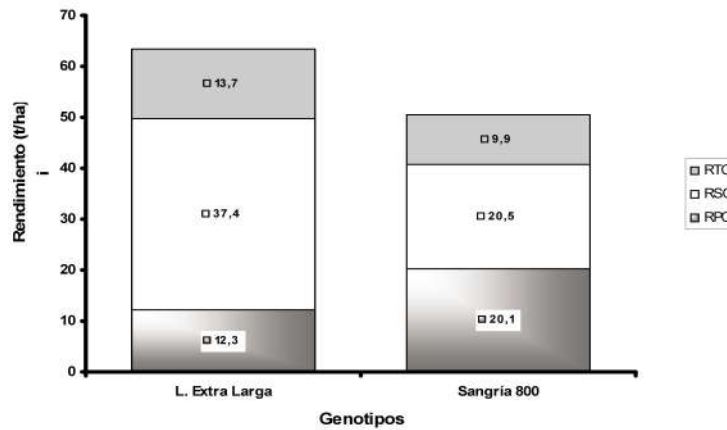
En las figuras no se debe duplicar la información presentada en los cuadros o viceversa. Se recomienda el uso de medidas de acuerdo al Sistema Métrico Decimal y las abreviaturas utilizadas deberán apegarse a las recomendaciones que aparecen en la tabla que se anexa al presente documento.

Siempre que se incluyan figuras de línea o de otro tipo deben utilizarse símbolos bien definidos para evitar confusiones. Si se usan gráficas del tipo de barras o pastel, los rellenos deben ser contrastantes. En lo posible, las fotografías e imágenes incluidas en el manuscrito deben ser en blanco y negro, en formato *tif* ó *jpg* con 300 puntos de resolución y el archivo original por separado.

**Cuadro 1.** Análisis de varianza de la variable Peso de flor fresca en Golden Delicius

Fuente de variación	Grados de libertad	Sumas de cuadrados	Cuadrado medio	F <sub>c</sub> calculada	Significancia P <sub>r</sub> > F <sub>t</sub>
Colector	3	4306.25	1435.42	2.68	0.1099
Día	3	214118.75	71372.92	133.30	0.0001
Error	9	4818.75	535.42	-	-
Total	15	223243.75	Desv. Estándar =	23.14	
Estimadores	CV <sub>(%)</sub>	10.9	Media =	211.9	

**Figura 1.** Rendimiento de tres cortes en dos genotipos de sandía (Janos, Chih., UACH-2005)




**Cuadro 2.** Unidades de medición y abreviaturas de uso frecuente

Unidades	Abreviatura	Unidades	Abreviatura
cal	Caloría(s)	ml	Mililitro (s)
cm	Centímetro(s)	mm	Milímetro (s)
°C	Grado centígrado(s)	min	Minuto (s)
DL <sub>50</sub>	Dosis letal 50%	ng	Nanogramo (s)
g	Gramo(s)	P	Probabilidad (estadística)
ha	Hectárea(s)	p	Página
h	Hora (s)	PC	Proteína cruda
i. m.	Intramuscular (mente)	PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
i. v.	Intravenosa (mente)	pp	Páginas
J	Joule(s)	ppm	Partes por millón
kg	Kilogramo(s)	%	Por ciento (con número)
km	Kilómetro(s)	rpm	Revoluciones por minuto
l	Litro(s)	seg	Segundo (s)
log	Logaritmo decimal	t	Tonelada (s)
Mcal	Megacaloría(s)	TND	Total de nutrientes digestibles
MJ	Megajoule(s)	UA	Unidad animal
M	Metro(s)	UI	Unidades internacionales
msnm	Metros sobre el nivel del mar	vs	Versus
µg	Microgramo(s)	xg	Gravedades
µl	Microlitro(s)	km.h <sup>-1</sup>	Kilómetro por hora
µm	Micrómetro(s) ó micra(s)	t.ha <sup>-1</sup>	Tonelada por hectárea
mg	Miligramo(s)	µg. ml	Microgramos por mililitro

Cualquier otra abreviatura se pondrá entre paréntesis inmediatamente después de la(s) palabra(s) completa(s).

Los nombres científicos y otras locuciones latinas se deben escribir en cursivas, como se indica

en los ejemplos siguientes: Durazno (*Prunus persica* L. Batsch), Tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.), Hongo fitopatógeno (*Pythium aphanidermatum* Edson), Palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* L.), en laboratorio *in vitro*, sin restricción *ad libitum*. 

#### OBJETIVO DEL PROGRAMA

Formación integral del recurso humano en actividades de generación, validación y/o transferencia del conocimiento, que den respuesta a la problemática de los sistemas de producción animal, el uso sustentable y el aprovechamiento de los recursos naturales en México.

#### LÍNEAS DE GENERACIÓN Y APLICACIÓN DE CONOCIMIENTO

- Monitoreo y evaluación de los recursos naturales.
- Sistemas de alimentación animal, microbiología gastrointestinal y fisiología digestiva.
- Biotecnologías reproductivas y esquemas de conservación y mejoramiento genético.
- Control de calidad y aseguramiento de los productos de origen animal.

#### PERFIL DE EGRESO

El Doctor in Philosophia es un especialista del más alto nivel académico, con sentido ético y compromiso social, que posee e integra conocimientos, habilidades y actitudes para desempeñarse eficientemente y de manera efectiva en actividades de investigación científica, aplicación, difusión y transferencia de conocimientos para la solución integral de los problemas más complejos de la industria pecuaria nacional y de los recursos naturales.

#### En general cuenta con dominios de competencias para:

- La identificación de problemas relevantes
- La síntesis y comunicación efectiva del conocimiento
- El desarrollo independiente de investigación
- El diseño, aplicación y evaluación de estrategias basadas en el conocimiento para la solución de problemas en su área de especialidad
- La generación y análisis de información pertinente
- La colaboración para el trabajo en equipos disciplinarios y multidisciplinarios
- La implementación de dinámicas grupales para la identificación de problemas relevantes y la propuesta de acciones estratégicas de solución
- La comunicación efectiva de contenidos significativos en ambientes formales de enseñanza-aprendizaje, tanto presencial como virtual
- La gestión de la investigación y el desarrollo tecnológico

#### De acuerdo con su área de especialidad cuenta con dominios para:

- El diseño y evaluación de planes de uso sustentable, monitoreo y conservación de recursos naturales
- El desarrollo de planes de manejo sustentable de los pastizales para la producción animal y su aprovechamiento integral
- El desarrollo de procesos y productos biotecnológicos aplicables a la alimentación y manejo nutricional del ganado
- El desarrollo y complementación de modelos que fundamentan la fisiología digestiva y el metabolismo en los animales bajo diferentes condiciones del entorno
- El estudio de las interacciones de la nutrición con la reproducción, la salud y la calidad de los productos y su relación con la respuesta biológica del animal y la eficiencia en la producción
- El desarrollo y complementación de modelos que fundamentan los procesos reproductivos de los animales bajo diferentes condiciones del entorno
- El diseño y evaluación holística de esquemas innovadores de mejora y conservación de recursos genéticos animales bajo condiciones de sustentabilidad y la incorporación de tecnologías apropiadas
- La variación y adaptación de procesos tecnológicos para prevenir y solucionar problemas de calidad e inocuidad en las industrias cárnica y láctea e innovar productos que contribuyan a la salud del consumidor



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA  
Facultad de Zootecnia y Ecología

PROGRAMA DE:

# DOCTORADO



mail:

ahchavez@uach.mx  
pmanillas@uach.mx  
dplascencia@uach.mx

Tel: (614) 434-0303 y 434-1448

www.fz.uach.mx

www.posgrado.fz.ue.uach.mx



COMACY  
FIPG  
SER-COINAGYT

## DOCTORADO

### Requisitos de ingreso

#### Primera fase

Poseer título o acta de examen profesional del grado anterior. Promedio mínimo de 8.0 en estudios anteriores. Presentación del EXANI III de CENEVAL (mínimo 1000 puntos).

Acreditar 450 puntos del TOEFL o el nivel correspondiente del Centro de Aprendizaje de Idiomas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

#### Segunda fase

Presentar examen de conocimiento que aplica la Secretaría de Investigación y Posgrado. Realizar entrevista con el Comité de Admisión

#### PLAN DE ESTUDIO

##### CURSOS BÁSICOS (mínimo 4 créditos)

Bioquímica Avanzada  
Biología Celular Avanzada  
Relación Planta-Ambiente  
Análisis Bioeconómico de los Sistemas de Producción  
Optativa

##### CURSOS ESTADÍSTICA (mínimo 8 créditos)

Diseño de Experimentos II  
Métodos No Paramétricos  
Modelos Lineales  
Análisis de Datos Categóricos  
Regresión No Lineal  
Técnicas Multivariadas  
Series de tiempo  
Bioinformática II  
Modelado y Simulación

##### CURSOS FORMATIVOS (mínimo 12 créditos más tesis)

Seminario Doctoral  
Temas Especiales de Investigación  
Proyectos Especiales de Investigación  
Tópico Doctoral  
Escritura de Documentos Científicos  
Seminario Departamental  
Seminario de Lengua Extranjera  
Disertación Doctoral (30 créditos)  
Estancia de Investigación



## ÁREA DE ESPECIALIZACIÓN

(Mínimo 12 créditos)

#### RECURSOS NATURALES

Introducción a la Modelación Ambiental Compleja  
Geomática en Recursos Naturales  
Tópicos de Manejo de Pastizales  
Tópicos en Ecología de Recursos Naturales  
Avances en Manejo de Pastizales  
Avances en Manejo de Recursos Naturales  
Evaluación de Impacto Ambiental en Recursos Naturales  
Ecología Microbiana

#### NUTRICIÓN ANIMAL

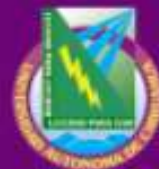
Fisiología Digestiva  
Los Minerales en Nutrición Animal  
Las Vitaminas en Nutrición Animal  
Metabolismo de las Proteínas  
Microbiología Gastrointestinal  
Bioenergética  
Tópicos en Biotecnología Nutricional  
Modelado Matemático en Nutrición Animal

#### REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA ANIMAL

Fisiología y Endocrinología de la Reproducción Avanzada  
Embriogénesis  
Perinatología  
Genética Cuantitativa  
Metodologías para la Genética Cuantitativa  
Aplicaciones de la Biotecnología en el Mejoramiento Genético

#### TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

Procesamiento y Preservación de la Carne II  
Diseño de Rastros, Empacadoras y Plantas de Procesado  
Análisis Especiales de la Carne  
Tópicos Avanzados en Ciencias de la Carne  
Procesamiento y Preservación de la Leche II  
Análisis Especiales de la Leche  
Tópicos Avanzados en Ciencias de la Leche I



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA



## MAESTRÍA EN ARTES

### OBJETIVO GENERAL

Formar profesionales en relación a las artes, su creación y su docencia, a fin de realizar sus desempeños de manera crítica y propositiva fundamentados en teorías de avanzada.

### PERFIL DE INGRESO

1. Personas que se desempeñan como docentes o profesionales del campo de las artes o área afin.
2. Demostrar capacidad creativa e innovadora.
3. Deberá ser una persona con amplio criterio hacia la crítica de su propio quehacer profesional y su entorno.
4. Contar con capacidad para el autoaprendizaje.
5. Contar con capacidad para el manejo de tecnologías.
6. Compromiso de cumplir con las lecturas e investigaciones programadas tanto en el curso presencial como en aquellas extra clase.

### PERFIL DE EGRESO

El egresado posee las siguientes competencias:

1. Analiza, evalúa e interpreta críticamente la información.
2. Trabaja en grupos colegiados.
3. Aplica conocimientos y desarrolla habilidades en la creación de obras de arte.
4. Aplica estrategias didácticas en la docencia en artes, con base en fundamentos teóricos aprendidos.
5. Trabaja con responsabilidad y tolerancia en su desempeño profesional.
6. Realiza investigación en el campo de las artes.
7. Es promotor de las reflexiones y actividades de carácter artístico creativo.
8. Es asesor profesional en aspectos de carácter artístico.

Facultad de Artes  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
Avenida 1000 100



CRECULO DE SER UACH!

Mayores informes en la Secretaría de Investigación y Posgrado de la Facultad de Artes  
Teléfonos: 238-20-80 439-18-50, exts. 4451, 4434, 4448, 4428  
Facebook: FArtes Posgrado Uach, e-mail: fa.posgrado@uach.mx