



Vol.3 Núm. 1
ENERO JUNIO 2011

vidsupra

visión científica

ÓRGANO DE DIFUSIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA DEL CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL DURANGO CIIDIR-IPN



**DIRECTORIO
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

YOLOXÓCHITL BUSTAMANTE DÍEZ
DIRECTORA GENERAL

JUAN MANUEL CANTÚ VÁZQUEZ
SECRETARIO GENERAL

DAFFNY ÁLVAREZ GALLEGOS
SECRETARIO ACADÉMICO

JAIME ÁLVAREZ GALLEGOS
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ÓSCAR JORGE SÚCHIL VILLEGAS
SECRETARIO DE EXTENSIÓN E INTEGRACIÓN SOCIAL

ERNESTO MERCADO ESCUTIA
SECRETARIO DE SERVICIOS EDUCATIVOS

FERNANDO ARELLANO CALDERÓN
SECRETARIO DE GESTIÓN ESTRATÉGICA

EMMA FRIDA GALICIA HARO
SECRETARIO DE ADMINISTRACIÓN

ADRIANA CAMPOS LÓPEZ
ABOGADA GENERAL

JOSÉ ARNULFO DOMÍNGUEZ CORDERO
COORDINADOR DE COMUNICACIÓN SOCIAL

**DIRECTORIO DEL CIIDIR-IPN
UNIDAD DURANGO**

M. EN C. J. ANTONIO AVILA REYES
DIRECTOR

DR. MARCO ANTONIO MARQUEZ LINARES
SUBDIRECTOR ACADEMICO Y DE INVESTIGACIÓN

M. EN C. AGUSTIN ANGEL MERE REMENTERIA
**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y
DESARROLLO TECNOLÓGICO**

M. EN C. ROBERTO VILLANUEVA GUTIERREZ
**JEFE DE LA UNIDAD DE TECNOLOGIA EDUCATIVA Y
CAMPUS VIRTUAL**

LIC. MA. ANGELICA HERNANDEZ AVILA
TITULAR DE LA UNIDAD POLITECNICA DE INTEGRACION

M. EN C. SALVADOR VELAZQUEZ STEWART
COORDINADOR DE ENLACE Y GESTION TECNICA

M. EN C. NOELIA RIVERA QUINTERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO

M. EN C. MAYRA EDITH BURCIAGA SIQUEIROS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS EDUCATIVOS

ING. VICTOR DANIEL RIOS GARCIA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INFORMATICA

LIC. J. BERNARDO VILLANUEVA FIERRO
**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE RECURSOS FINANCIEROS
Y MATERIALES**

LIC. DORA MA. CLARA AGUILAR REYES
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CAPITAL HUMANO

C.P. DIANA CAROLINA ALANIS BAÑUELOS
JEFE DE AREA DE RECURSOS FINANCIEROS

“*vidsupra, Visión Científica*”, Vol. 3, No. 1, enero-junio de 2011

Es una publicación semestral editada por el Instituto Politécnico Nacional, a través del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR-IPN Unidad Durango. Calle Sigma No. 119, Fracc. 20 de Noviembre II. C.P. 34220. Teléfonos: 618 8142091 y 618 814 45 40.

Editor responsable: José Antonio Ávila Reyes.

Certificado de reserva de derechos: No. 04-2010-112211305700-102, ISSN: en trámite, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Certificado de licitud de título número: 14715.

Certificado de licitud de contenido número: 12288, ambos otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación.

Impresa por: Artes Gráficas, Enrique Carrola Antuna No. 610, Col. Cienega, C.P. 34090., teléfonos 8133333.

Este número se terminó de imprimir el 30 de Junio 2011 con un tiraje de 500 ejemplares. Distribución: CIIDIR-IPN Unidad Durango.
Distribución gratuita a Instituciones de Educación Superior.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

ÍNDICE

PAG.

- 1 **EFFECTO DE LA ALTITUD Y PRECIPITACIÓN SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE LA MANZANILLA *Arctostaphylos pungens* HBK en DURANGO, MEXICO.**
Marco A. Márquez Linares* y Álvarez Zagoya Rebeca*
- 5 **COMPOSICIÓN FENÓLICA DE TEJIDO FOLIAR Y DE POLEN DE *Zea perennis***
Diana María Rivera-Rodríguez¹, Alfonso Reyes-Martínez¹, Gerardo Barriada-Bernal¹, José de Jesús Sánchez-González², Norma Almaraz-Abarca¹, Elí Amanda Delgado-Alvarado¹, Néstor Naranjo-Jiménez¹, Yolanda Herrera-Arrieta¹
- 12 **PROPIEDADES FISIOLÓGICAS RELACIONADAS AL VIGOR DE LA SEMILLA DE AGAVE**
Luis Gerardo Barriada Bernal¹, Alfonso Reyes Martínez¹, Diana Rivera Rodríguez¹, Norma Almaraz Abarca¹, Tzairy Gallardo Velázquez², Socorro González Elizondo¹, Yolanda Herrera¹, Martha Isabel Torres Morán³
- 23 **COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA OBTENER ADN TOTAL DE *Phaseolus vulgaris* PARA ANÁLISIS DE ISTR**
Alfonso Reyes-Martínez¹, Luis Gerardo Barriada-Bernal¹, Diana María Rivera-Rodríguez¹, Amulfo Pajarito-Ravelero², Eli Amanda Delgado-Alvarado¹, Norma Almaraz-Abarca¹, Jesús Herrera-Corral¹, José Natividad Uribe-Soto¹, Néstor Naranjo-Jiménez¹
- 30 **CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES EN PIÑAS BENEFICIADAS DE AGAVE MEZCALERO EN LA REGIÓN DE NOMBRE DE DIOS Y EL MEZQUITAL**
Orea-Lara Gildardo¹, Hernández-Vargas Vicente¹, Gómez-Ortiz Salomón¹, Cifuentes-Díaz de León Armando¹
- 37 **COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE LA MEZCLA DE MASA MADRE Y DIRECTA DE HARINAS FUERTES**
Gómez-Ortiz Salomón¹, Orea-Lara Gildardo¹, Hernández-Vargas Vicente¹, Gómez-Ruiz David¹
- 43 **CAMBIOS REOLÓGICOS EN UNA MASA PANARIA POR LA ADICIÓN DE AVENA**
Gómez-Ortiz Salomón¹, Orea-Lara Gildardo¹, Hernández-Vargas Vicente¹, Gómez-Ruiz Andrés David¹

DIRECTOR DE LA REVISTA
José Antonio Ávila Reyes

EDITOR RESPONSABLE
Marco Antonio Márquez Linares

COMITE REVISOR
Norma Almaraz Abarca
Martha González Elizondo
Néstor Naranjo Jiménez

DISEÑO Y FORMACIÓN
Linda Verónica Adame Amador
Artes Gráficas

FOTOGRAFÍA PORTADA
Diana María Rivera Rodríguez
(*Zea mays*)

EFFECTO DE LA ALTITUD Y PRECIPITACIÓN SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE LA MANZANILLA *Arctostaphylos pungens* HBK en DURANGO, MEXICO.

Marco A. Márquez Linares¹, Álvarez Zagoya Rebeca¹ y Karina Rodríguez Corral¹

¹IPN-Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. U. Durango. Sigma 119, Frac. 20 de noviembre II, Durango, Dgo. CP 34000
marco_dgo@yahoo.com

RESUMEN

La manzanilla (*Arctostaphylos pungens*) es un arbusto común en la Sierra Madre Occidental de México. Debido a que en ocasiones forma chaparrales muy densos que impiden el establecimiento de los bosques originales, se torna importante conocer la velocidad y periodos de crecimiento de esta planta. El presente trabajo estudio la relación entre el crecimiento vegetativo de la manzanilla con la precipitación y el suelo en tres sitios de diferente altitud. La época de crecimiento se presentó de julio a septiembre coincidiendo con la época lluviosa, sin embargo el crecimiento de la manzanilla fue mayor en los sitios con mejor suelo y no necesariamente con los de mayor precipitación.

INTRODUCCIÓN

Arctostaphylos pungens, denominado comúnmente manzanilla, es un arbusto perennifolio común de la Sierra Madre Occidental de México; se le encuentra desde el estado de Chihuahua hasta Oaxaca en un rango altitudinal de 1900 a 2200 msnm. La planta habita principalmente en sitios con alta pedregosidad y alta insolación (González-E., 1993) pero también en áreas que han sufrido incendios recurrentes o desprovistos de vegetación arbórea por actividades forestales en mesetas y laderas, donde puede formar matorrales densos monoespecíficos o en compañía de otros arbustos como *Quercus deppresippes*, *Q. striatula* o *Ceanothus* sp.

La planta es un elemento importante en la sucesión ecológica de los bosques de pino-encino, principalmente en las laderas orientales de la sierra madre occidental, que ha sido sumamente perturbada por las extracciones maderables, los incendios forestales y el pastoreo extensivo. Desde el punto de vista ecológico reviste importancia como formadora y retenedora de suelo en sitios muy perturbados por las actividades mencionadas, pero también como elemento que protege al sitio de la lluvia, de la insolación y como proveedor de alimento para aves y mamíferos, ya que su fruto es una drupa carnosa que esta disponible en abundancia durante buena parte del año, tanto en la planta como en el suelo. Por esta razón, al ser una especie arbustiva de ciclos de vida relativamente largos, resulta importante conocer la tasa de crecimiento y longevidad que permitan a su vez por un lado mejorar el conocimiento de esta importante especie y por otro para su adecuado manejo. Bajo la hipótesis de que el crecimiento será menor en los límites inferiores de su distribución altitudinal.

METODOLOGIA

Se eligieron tres localidades a tres diferentes altitudes contiguas a la carretera Durango-La Flor (Cuadro 1). En cada sitio se eligieron 10 ejemplares de manzanilla de entre 1.3 y 2.0 m de altura, se etiquetaron y se tomaron datos sobre su ubicación en un croquis para su rápida localización.

Cuadro 1. Ubicación de los sitios de muestreo.

SITIO	LAT	LONG	ALTITUD	VEGETACION	SUELO
1	23° 46.7' N	104° 41.7' O	2420 m	Pino-encino	Profundo
2	23° 50.3' N	104° 45.6' O	2320 m	Encino-pino	Escaso
3	23° 54.2' N	104° 45.9' O	2240 m	Encinar abierto	Profundo



Figura 1. Ejemplar de manzanita.

Para conocer los periodos de crecimiento vegetativo se realizaron observaciones y mediciones una vez por mes durante 2002 y 2003. Las mediciones se efectuaron en 10 ramillas apicales elegidas al azar de cada uno de los 10 ejemplares de cada sitio (figura 3). En total se efectuaron 31 observaciones de febrero de 2002 a diciembre de 2003, aunque en algunas fechas no se observó crecimiento vegetativo. Los resultados se promediaron para obtener los datos de crecimiento medio de las 10 ramillas de cada ejemplar. Se realizó un conteo de verticilos, bajo el supuesto de que cada uno corresponde a un periodo de crecimiento de un año.

Se consultó las bases de datos de CNA para conocer la precipitación mensual en 2002 y 2003.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El crecimiento promedio de las ramillas en los tres sitios en los dos años fue el siguiente:

- Sitio 1: 9.9 ± 0.40 cm/año,
- Sitio 2: 5.3 ± 0.27 cm/año,
- Sitio 3: 7.5 ± 0.22 cm/año
-

Existen diferencias significativas entre los tres sitios ($\alpha = 0.05$)

El promedio de los tres sitios fue 7.6 ± 0.20 cm con un crecimiento mínimo de 1 cm/año (sitio 2)

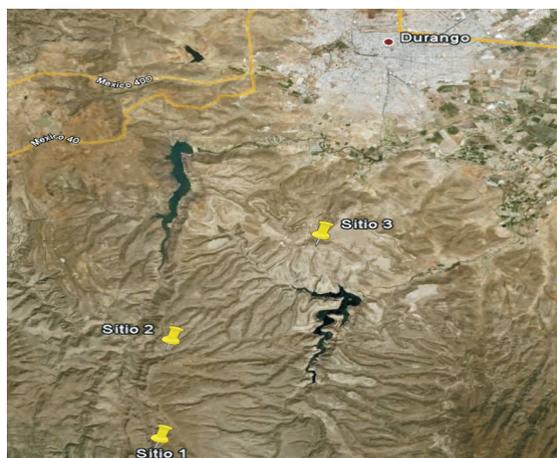
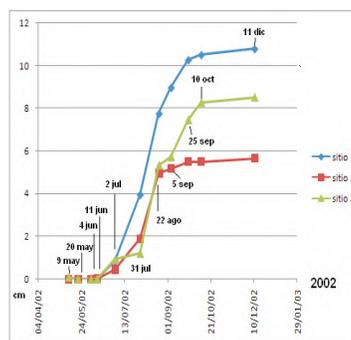


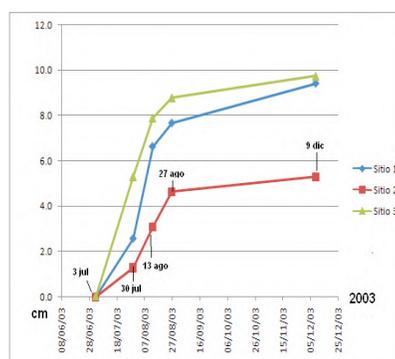
Figura 2. Ubicación de los sitios de muestreo.

y un máximo de 29 cm/año (sitio 1). Esto puede significar que las plantas de mayor altura (4m) tendrían alrededor de 50 años.

En las figuras 4a y 4b se observan los resultados de los crecimientos promedio en el año 2002 y 2003 en lo tres sitios de muestreo, mientras que en las figura 5a y 5b se observan las precipitaciones mensuales en tres estaciones cercanas a los sitios de muestreo, donde Sta. Bárbara es cercano a sitio1, Bayacora al sitio 2 y El Pueblito al sitio 3.



a)



b)

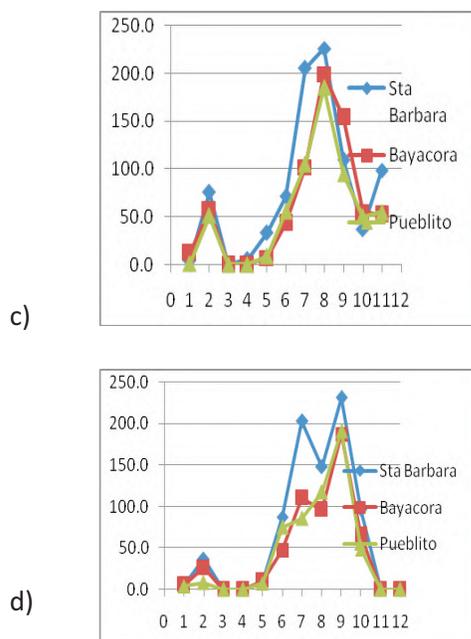


Figura 3. Crecimiento vegetativo de la manzanita en 2002 (a) y 2003 (b) y precipitaciones registradas en 2002(c) y 2003 (d) en estaciones climatológicas cercanas a los sitios de estudio.

Como se puede observar en las graficas, en 2002, los primeros indicios de crecimiento vegetativo (aparición de la yema vegetativa) ocurrieron a mediados de mayo en los sitios 1 y 3, y a principios de junio en el sitio 2; en 2003, ocurrieron a mediados de junio para los 3 sitios, lo cual se relaciona con las lluvias del mes de febrero, la cual fue mayor en 2002 que en 2003. A partir de estos puntos empieza un rápido crecimiento entre el mes de julio a octubre, después de este mes el crecimiento vegetativo fue poco significativo hasta la siguiente temporada de crecimiento.

En 2002 el crecimiento de las yemas fue mas alto en el sitio 1, alcanzando en promedio 10.5 ± 0.94 cm (un ejemplar tuvo una elongación de 17 cm), seguido por el sitio 3 con 8.53 ± 0.51 cm, y finalmente el 2 con una elongación promedio de 5.65 ± 0.60 cm (figura 4a). En 2003 el crecimiento mayor se observó en los sitios 1 y 3 con 9.41 ± 0.90 cm y 9.74 ± 0.75 cm, mientras que en el sitio 2 fue de 5.3 ± 0.75 cm (figura 4b). El crecimiento menor del sitio 2, en ambos años seguramente esta relacionado con que este sitio

tiene un suelo escaso y muy rocoso.

De acuerdo al seguimiento del crecimiento vegetativo en las 300 ramillas, se observó que las divisiones verticiliares ocurren en el principio de la época de crecimiento, lo cual indica que es posible determinar la edad aproximada contando el numero de verticilios desde la base hasta las ramillas del último año, aunque en ocasiones es difícil encontrar las huellas de los verticilios inferiores (figura 4).

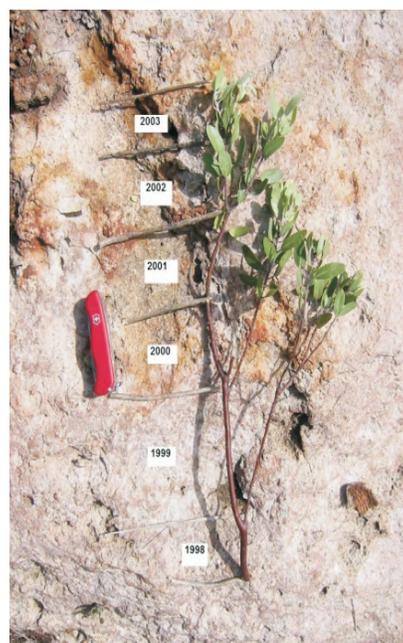


Figura 4. Crecimiento anual medido por verticilios de un ejemplar de manzanita

La distribución altitudinal de la manzanita en esta región es entre los 2000 y 3000 msnm (Márquez, 2005), por lo que se espera que en el sitio 3 de menor altitud y menor precipitación tuviese el menor crecimiento. Sin embargo este sitio mostro crecimientos similares al sitio 1, de mayor altitud y superiores al sitio 2, sin embargo esto se explica por lo escaso del suelo del sitio 2. En relación a la precipitación, efectivamente el periodo de crecimiento coincide con la mayor abundancia de lluvias, lo cual ocurrió entre Julio y septiembre tanto en el 2002 como en 2003 (Figura 3), los crecimientos en los meses de junio y de octubre fueron marginales coincidiendo con la menor precipitación de esos meses.

CONCLUSIONES:

De acuerdo a lo esperado, el crecimiento vegetativo de la manzanita ocurre a inicios de la temporada lluviosa, es decir a principios de junio, con un rápido crecimiento durante los meses de julio, agosto y septiembre y declinando en octubre, posteriormente se detectó un crecimiento marginal. Así mismo, el crecimiento máximo está relacionado con la profundidad del suelo, ya que en el sitio con suelo rocoso (2) presentó un crecimiento menor al sitio con mayor profundidad del suelo pero menor precipitación total.

BIBLIOGRAFÍA

- González-E. M.S.; González-E. M.S.; Cortez-Ortiz A. 1993. *Vegetación de la reserva de la Biosfera de la Michilia, Durango, México*. Acta Botánica de Mexicana. 22:1-104.
- Márquez Linares M. A. Enrique Jurado y S. González Elizondo. 2006. *Algunos aspectos de la biología de la manzanita (Arctostaphylos pungens HBK) y su papel en el desplazamiento de bosques templados por chaparrales*. Ciencia UANL: IX, No. 1:57-64.

COMPOSICIÓN FENÓLICA DE TEJIDO FOLIAR Y DE POLEN DE *Zea perennis*

Diana María Rivera-Rodríguez¹, Alfonso Reyes-Martínez¹, Gerardo Barriada-Bernal¹, José de Jesús Sánchez-González², Norma Almaraz-Abarca¹, Elí Amanda Delgado-Alvarado¹, Néstor Naranjo-Jiménez¹, Yolanda Herrera-Arrieta¹

¹Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Durango (CIIDIR-IPN Unidad Durango). Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango, Dgo. México, 34220.

²Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) Universidad de Guadalajara Km. 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales, Predio las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco.

RESUMEN

La composición fenólica del tejido foliar y del polen en *Zea perennis* se determinó por HPLC/DAD. Veintisiete compuestos se detectaron en las hojas, siendo los derivados de ácidos fenólicos los más abundantes. En el polen se detectaron 11 compuestos, de los cuales sobresalen los glicósidos de quercetina. La abundancia y diversidad de compuestos fenólicos presentes en *Zea perennis* sugiere que esta especie es una fuente importante de fenoles, compuestos con espectro amplio de actividades biológicas e importantes quimiomarcadores.

PALABRAS CLAVE: *Zea perennis*, perfiles fenólicos foliares, polen.

INTRODUCCIÓN

El género *Zea* pertenece a la familia Poaceae, la cual comprende más de 600 géneros (Rzedowski, 2001). *Zea* contiene cinco especies de México y Centroamérica: *Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán; *Zea perennis* (Hitchcock) Reeves & Mangelsdorf; *Zea luxurians* (Durieu y Ascherson) Bird; *Zea mays* Linnaeus (Doebley, 2003), y la descrita recientemente *Zea nicaranguensis*? Iltis & Benz (Mera, 2009a). *Zea mays*, es la especie que corresponde al maíz (única especie cultivada del género); las otras cuatro especies son conocidas colectivamente como “teocintle”.

El nombre de teocintle proviene del náhuatl *centil* que significa maíz y *teo* que significa de los dioses (Doebley, 2003). Los parientes silvestres del maíz o teocintles están representados por especies anuales y perennes diploides, y por una especie perenne tetraploide (Sánchez y Ruiz, 1996).

Zea perennis es la especie perenne tetraploide, con $n=2x=20$, que además posee otros atributos característicos como rizomas alargados y delgados, y 2 a 8 ramas erectas con espiga (Doebley, 2003). Esta especie posee resistencia a plagas y enfermedades de importancia económica y agronómica, por lo que podría ser una fuente de alelos valiosos para generar nuevas líneas genéticas de maíz. En la lista de especies y subespecies de la flora y fauna silvestre terrestre y acuática en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a protección especial de la Norma Oficial Mexicana SEMARNAT 2001, NOM-059-ECOL-1994 aparece *Zea perennis* como especie en peligro de extinción (Mera, 2009b).

La caracterización morfológica, química, bioquímica, y molecular de parientes silvestres de especies cultivadas, como *Zea perennis* lo es del maíz, es de relevancia porque se genera información que puede ser útil para la domesticación y aprovechamiento de los primeros y para realizar mejoramiento genético de las segundas.

La caracterización química de especies vegetales está basada en la determinación de la composición de compuestos secundarios. Éstos representan una gama muy amplia, que por no haberseles encontrado una participación directa en los procesos fundamentales de fotosíntesis, respiración, desarrollo y crecimiento, se les llamó metabolitos secundarios (Kutchan, 2001).

Aunque en la actualidad su apreciación ha cambiado y se les reconoce participaciones muy diversas e importantes en los procesos fisiológicos (Taiz y Zeiger, 2008) y en las relaciones ecológicas de las plantas para asegurar su sobrevivencia como especie (Almaraz-Abarca y col., 1998; Hadacek, 2002), a esos compuestos se les sigue llamando secundarios.

Los compuestos fenólicos, fenoles o polifenoles son un grupo muy diverso y ampliamente distribuido en el reino vegetal. Dentro los fenoles, los flavonoides son los elementos que se encuentran más ampliamente distribuidos dentro de ese reino, son los más abundantes, los más diversos (Markham, 1982), y los preferidos para estudios quimiotaxonómicos (Harbone y Turner, 1984; Campos, 1997; Almaraz-Abarca y col., 2006, Almaraz-Abarca y col., 2008). Algunas de las características de los perfiles fenólicos, principalmente de flavonoides, por los que son empleados en estudios quimiotaxonómicos, son las siguientes: su amplia distribución en todos los grupos de plantas; su gran variabilidad química; la relativa independencia de su síntesis y almacenamiento, con respecto a los factores ambientales; su relativa facilidad de análisis (Markham, 1982); y su determinación genética, que está dada, en el caso de algunos flavonoides, por un solo gen (Harborne y Turner, 1984). Los compuestos fenólicos, principalmente los flavonoides, tienen una gama muy amplia de actividad biológica (Campos, 1997; Almaraz-Abarca y col., 2004; Almaraz-Abarca y col., 2007), por lo que un gran número de trabajos se han enfocado a la búsqueda de fuentes naturales de estos compuestos (Veit y col., 1995; van Heerden y col., 2003; Campos y col., 2007).

En este trabajo se realizó la caracterización química, basada en perfiles fenólicos obtenidos por HPLC/DAD, de tejido foliar y de polen de *Zea perennis* para conocer la diversidad de esos compuestos en esa especie de teocintle.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Semillas de *Zea perennis* proveniente del Municipio de San Gabriel del estado de Jalisco, fue proporcionada por el Dr. Jesús Sánchez, del banco de germoplasma del IMARFI (Instituto de Manejo y Aprovechamiento de Recursos Fitogenéticos). Las semillas se germinaron en el invernadero del CIIDIR IPN Durango. Muestras de tejido foliar se colectaron en octubre de 2010, a los cinco meses de edad de las plantas, y de polen en el mes de noviembre del mismo año.

Preparación de extractos

La preparación del extracto fenólico foliar se realizó a partir de cinco gramos de tejido seco y molido, por maceración en 15 mL de una solución acuosa de metanol al 60% (v/v), en obscuridad, a temperatura ambiente, y en agitación durante 24 hrs, de acuerdo a lo reportado por Almaraz-Abarca y col. (2008). El extracto se concentró hasta la mitad de su volumen y se fraccionó con cloroformo. La fracción acuosa se volvió a fraccionar con acetato de etilo. Esa última fracción orgánica se concentró a sequedad y se resuspendió en 3 mL de metanol. De esa solución se tomaron alícuotas para analizarse por HPLC/DAD para obtener los perfiles fenólicos.

El extracto fenólico de polen se obtuvo por sonicación de 200 mg de esas estructuras reproductivas en 1 mL de una solución acuosa de etanol al 50% (v/v), durante 60 min, en obscuridad y a temperatura ambiente, de acuerdo a Campos (1997). De ese extracto se tomaron alícuotas para el análisis de HPLC/DAD.

Perfiles fenólicos

Los perfiles fenólicos de ambos tipos de tejido (foliar y polínico) se determinaron en un equipo HPLC marca Perkin Elmer Series 200, con un detector de arreglo de diodos de la misma marca, empleando el método descrito por Almaraz-Abarca y col. (2008), que es un método en gradiente que emplea agua acidificada y acetonitrilo como eluyentes. Se utilizó una columna Perkin Elemer Analytical C18 (4.6 x 250 mm, 5 µm). Se inyectaron alícuotas de 100 µL. Los cromatogramas se registraron a 280 y 340 nm, y los espectros de absorción en el intervalo de 200 a 400 nm.

La identificación de los tipos de compuestos fenólicos resueltos en el HPLC se hizo por comparación directa de los tiempos de retención (TR) y los espectros UV de esos compuestos con los correspondientes a

estándares, y por la información compilada de tiempos de retención (TR) y espectros UV de diferentes compuestos fenólicos, hecha por Mabry y col. (1970) y Campos y Markham (2007).

Número de compuesto	Tipo de compuesto	TR (min)	λ_{max} (nm)
1	Acido Fenólico	17.912	260, 279
2	Acido Fenólico	23.764	249, 285
3	Compuesto no Identificado	26.858	292, 324
4	Compuesto no Identificado	29.45	272, 285inf, 305inf, 335
5	Flavona	31.508	266, 288inf, 33
6	Flavona	31.889	270, 282inf, 346
7	Acido Fenólico	32.476	261, 279
8	Flavona	34.382	272, 289inf, 324
9	Flavona	35.116	271, 335
10	Acido Fenólico	36.802	268, 289
11	Flavona	37.844	275inf, 288, 353
12	Flavona	35.38	255inf, 270, 346
13	Acido Fenólico	35.908	272, 286inf, 325
14	Flavonol glicósido	39.002	272inf, 888, 350
15	Compuesto no Identificado	39.633	272, 287inf, 350
16	Derivado glicósido de Canferol	41.305	272, 346
17	Derivado glicósido de Canferol	42.200	274, 343
18	Acido Fenólico	42.904	277
19	Derivado glicósido de Canferol	44.913	270, 340
20	Acido Fenólico	48.682	315
21	Acido Fenólico	49.694	297inf, 324
22	Compuesto no Identificado	50.692	270, 286inf, 352
23	Derivado glicósido de Canferol	51.176	270, 343
24	Derivado glicósido de Canferol	52.701	272, 327
25	Acido Fenólico	53.332	300inf, 315
26	Acido Fenólico	53.816	295inf, 320
27	Acido Fenólico	62.014	278

inf = inflexión

Tabla 1. Datos cromatográficos y espectrales de los compuestos fenólicos detectados en el tejido foliar de *Zea perennis*.

Número de compuesto	Tipo de compuesto	TR (min)	λ_{max} . (nm)
1	Flavona	25.45	253, 270inf, 323
2	Flavonol glicósido	29.44	253inf, 264, 346
3	Flavonol glicósido	31.361	252inf, 265, 344
4	Flavona	31.845	247, 266inf, 326
5	Flavonol glicósido	32.241	350, 266inf, 331
6	Derivado glicósido de Quercetina	33.253	254, 266inf, 354
7	Derivado glicósido de Quercetina	35.6	253, 266inf, 351
8	Derivado glicósido de Quercetina	36.656	255, 264inf, 360
9	Derivado glicósido de Quercetina	38.342	254, 267inf, 355
10	Flavonol glicósido	38.958	255inf, 265, 351
11	Derivado glicósido de Isoramnetina	46.35	255, 370

Tabla 2. Datos cromatográficos y espectrales de los compuestos fenólicos detectados en el polen de *Zea perennis*.

De los 27 compuestos detectados en el tejido foliar de *Zea perennis*, seis fueron identificados como derivados glicosidos de canferol (flavonoides de la clase de los flavonoles), seis fueron flavonas (también un tipo de flavonoides), 11 derivados de ácidos fenólicos, y cuatro compuestos no identificados. Las Figuras 1 y 2 muestran los cromatogramas y los espectros UV de los principales compuestos (de acuerdo a su mayor concentración) detectados en el tejido foliar de *Zea pennensis*; éstos fueron dos ácidos fenólicos (compuestos 7 y 25) y un flavonol glicosido (compuesto 14). Esa riqueza de compuestos es similar a la reportada para el tejido foliar de *Agave durangensis*, otra especie de monocotiledonea, para la que se detectaron 23 compuestos fenólicos (Almaraz-Abarca y col., 2009); sin embargo, el tipo de compuestos en una y otra especie fue muy diferente, predominando en la última los derivados glicosidos de canferol. Los perfiles fenólicos foliares han sido empleados como marcadores quimiotaxonómicos en varios grupos de plantas (Slimestad, 2003; Sosa y col., 2005; Almaraz-Abarca y col., 2006); esto y la riqueza de fenoles encontrada en *Zea perennis* sugiere que el análisis de la variabilidad de los perfiles fenólicos de las otras especies de *Zea* podría contribuir a resolver la problemática taxonómica de delimitación específica dentro de ese género (Doebley, 1990). Hasta donde fue posible investigar para la realización del

presente trabajo, no existen reportes sobre la composición fenólica foliar del género *Zea*, por lo que este sería el primer reporte al respecto.

En el polen de *Zea perennis* se detectaron 11 compuestos, de los cuales dos fueron flavonas y nueve flavonoles. De estos últimos cuatro fueron derivados glicosidos de quercetina y uno derivado glicosido de isorhamnetina. La ausencia de ácidos fenólicos en el polen de esta especie de *Zea* es semejante a la ausencia de esos compuestos en el polen de *Zea mays* (Almaraz-Abarca y col., 2004). Los compuestos con mayor concentración en el polen de *Zea perennis* fueron dos flavonoles glicosidos (compuestos 2 y 3), un flavonol no identificado (compuesto 5), y un derivado glicosido de quercetina (compuesto 7). La diversidad fenólica de *Zea perennis* reportada en el presente trabajo es mayor que la encontrada para *Zea mays* por Almaraz-Abarca y col (2004), utilizando el mismo método analítico. Una diferencia importante es un mayor número de glicosidos de quercetina (5, incluido el derivado de isoramnetina, que tiene la estructura básica de la quercetina) en el polen de *Zea perennis*, que en la única especie cultivada de *Zea*, para la cual esos mismos autores sólo reportaron tres.

Estudios fitoquímicos que incluyan un número mayor de especies y poblaciones de *Zea* permitirían establecer el valor de los perfiles fenólicos como marcadores quimiotaxonómicos específicos para ese género.

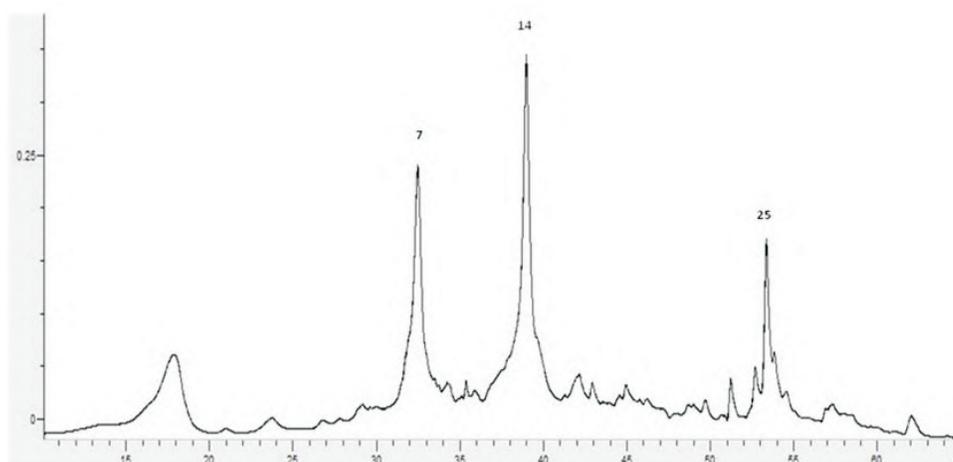


Figura 1. Cromatograma obtenido por HPLC/DAD del tejido foliar de *Zea perennis*, donde se puede observar los compuestos más abundantes.

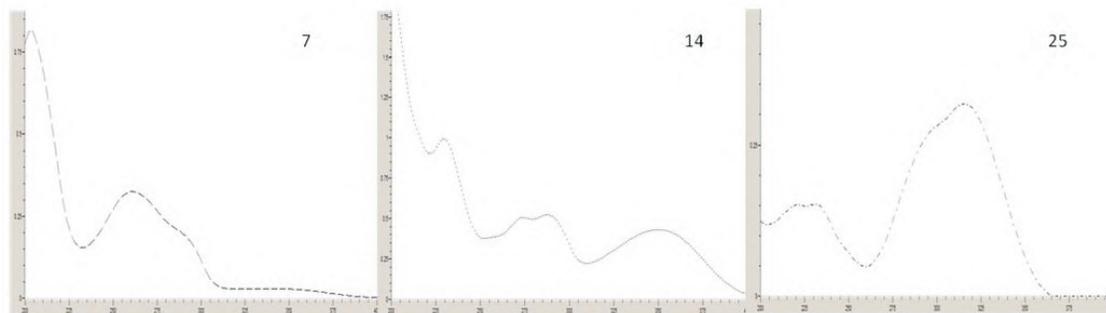


Figura 2. Espectros UV de los compuestos más abundantes en tejido foliar de *Zea perennis*

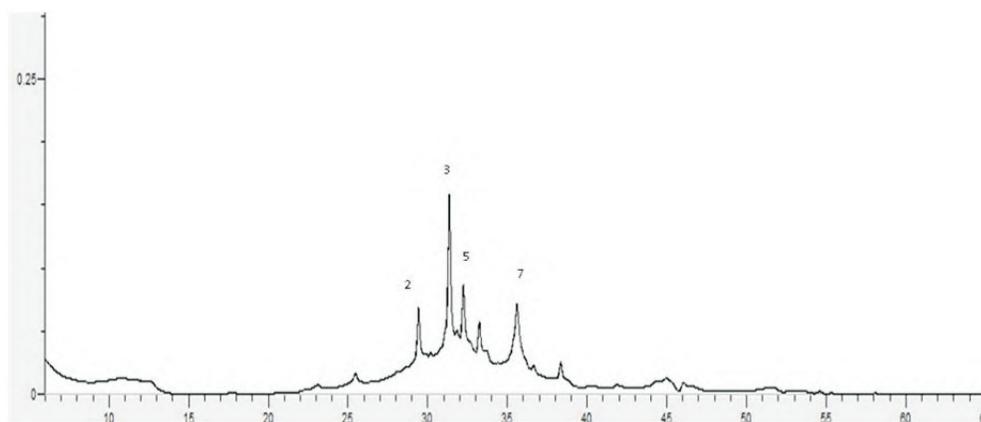


Figura 3. Cromatograma obtenido por HPLC/DAD de polen de *Zea perennis*, donde se puede observar los compuestos más abundantes.

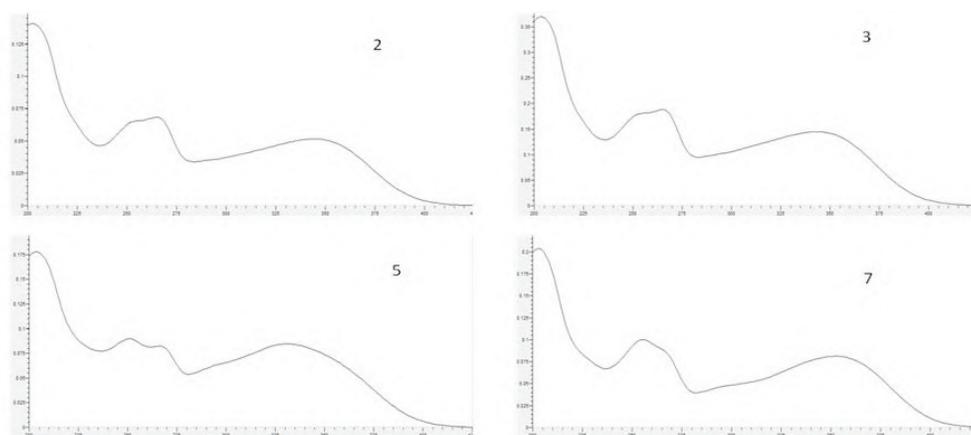


Figura 4. Espectros UV de los compuestos más abundantes en el polen de *Zea perennis*

BIBLIOGRAFÍA

- Almaraz- Abarca, N., J.A. Ávila-Reyes, J. Herrera-Corral, N. Naranjo-Jiménez, L.S. González-Valdéz, R. González-Laredo. 1998. The feeding deterrent effect of a flavonol and a flavonone on the mexican vean beetle (*Epilachnia varivestis* mulsant). *Ubamari. Revista Hispanoamericana de Ciencia y Tecnología* 44: 33-42.
- Almaraz-Abarca, N., M.G. Campos, J A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera-Corral, L.S. Gonzales-Valdez. 2004. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origen. *Inetrceiencia* 29: 574-585
- Almaraz-Abarca, N., M.S. González-Elizondo, J.A. Tena-Flores, J.A. Ávila-Reyes, J. Herrera-Corral, N. Naranjo-Jiménez. 2006. Foliar flavonoids distinguish *Pinus leiophylla* and *Pinus chihuahuana* (Coniferales: Pinaceae). *Proceedings of the Biological Society of Washintong* 119: 426-439.
- Almaraz-Abarca, N., M.G. Campos, J A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera-Corral, L.S. Gonzales-Valdez. 2007. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 119-124.
- Almaraz-Abarca, N., M.G. Campos, E.A. Delgado-Alvarado, J.A. Ávila-Reyes, J. Herrera-Corral, L.S. González-Valdez, N. Naranjo-Jiménez, C. Frigerio, A.F. Tomatas, A.J. Almeida, A. Vieira, J.N. Uribe-Soto. 2008. Pollen flavonoid/ phenolic acid composition of four species of Cactaceae and ist taxonomic significance. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 3: 534- 543.
- Almaraz-Abarca, N., E.A. Delgado-Alvarado, V. Hernández-Vargas, M. Ortega-Chávez, G. Orea-Lara, A. Cifuentes-Díaz de León, J.A. Ávila-Reyes, R. Muñoz-Martínez. 2009. Profiling of phenolic compounds of somatic and reproductive tissues of *Agave durangensis* Gentry (Agvaceae). *American Journal of Applied Sciences* 6: 1076-1085.
- Campos, M.G. 1997. Caracterizacao do pólen apícola pelo seu perfil em compostos fenólicos e pesquisa de algunas actividades biológicas. *Dissertacao de cadidatura ao grado de Doutor. Universidade de Coimbra, Portugal.*
- Campos, M.G., K.R. Markham. 2007. Structure information from HPLC and online measured absorbation spectra: Flavones, Flavonols and Phenolic Acids. *Coimbra University Press. Portugal.*
- Campos, M.G., M.P. Matos, M.T. Câmara, M.M. Cunha. 2007. The variability of isoflavones in soy seeds and the possibility of obtaining extracts foro ver the counter tablet preparation that can be standardized. *Industrial Crops and Products* 26: 85-92.
- Doebley, J. 1990. Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. *BioScience* 40: 443-448.
- Doebley, J.F. 2003. The taxonomy of *Zea*. *Laboratory of Genetics. University of Wisconsin, Madison.*
- Hadacek, F. 2002. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Science* 21: 273-322.
- Harborne, W., L. Tuner. 1984. *Plant chemosystematics. Academic Press. London.*
- Kutchan, T.M. 2001. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Plant Physiology* 125: 58-60.
- Mabry, T.J., K.R. Markham., M.B. Thomas. 1970. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag, New York.*
- Markham, K.R. 1982. *Techniques of flavonoid identification. Academic Press, London.*
- Mera, O.L.M. 2009a. El Maíz. Aspectos biológicos. En: *Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica (Eds: Kato, Y.T.A., S.C. Mapes, O.L.M. Mera, H. J.A. Serratos, B.R.A. Bye). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, pp: 19-28.*
- Mera, O.L.M. 2009b. *Diversificación y distribución reciente del maíz en México. En: Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica (Eds: Kato, Y.T.A., S.C. Mapes, O.L.M. Mera, H. J.A. Serratos, B.R.A. Bye). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México,*

pp: 69-81.

Rzedowski, G. C., J. Rzedowski. 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. 2a. Ed. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán.

Sánchez G.J.J., A.C. Ruíz. 1996. *Distribución del teocintle en México. Campo Experimental Centro de Jalisco. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), México.*

Slimestad, R. 2003. *Flavonoids in buds and young needles of Picea, Pinus and Abies. Biochemical Systematics and Ecology 31: 1247-1255.*

Sosa, T., J.C. Alías, J.C. Escudero, N. Chaves. 2005.

Interpopulation variation in the flavonoid composition of Cistus ladanifer L. exudates. Biochemical Systematics and Ecology 33: 353-364.

Taiz, L., E. Zeiger. 2008. *Plant Physiology.* Sinauer Associates. Massachusetts.

Van Heerden, F.R., B.E. van Wyk, A.M. Viljoen, P.A. Steenkamp. 2003. Phenolic variation in wild populations of *Aspalathus linearis* (rooibos tea). *Biochemical Systematics and Ecology 31: 885-895.*

Veit, M., C. Beckert, C. Höhne, K. Bauer, H. Geiger. 1995. Interspecific and intraspecific variation of phenolics in the genus *Equisetum* subgenus *Equisetum*. *Phytochemistry 38: 881-891.*

PROPIEDADES FISIOLÓGICAS RELACIONADAS AL VIGOR DE LA SEMILLA DE AGAVE

Luis Gerardo Barriada Bernal^{1*}, Alfonso Reyes Martínez¹, Diana Rivera Rodríguez¹, Norma Almaraz Abarca¹, Tzairy Gallardo Velázquez², Socorro González Elizondo¹, Yolanda Herrera¹, Martha Isabel Torres Morán³

¹Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR-IPN Unidad Durango). Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango, Dgo., México, 34220.

²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), Instituto Politécnico Nacional. Casco de Santo Tomas, México, D, F., 11340.

³Centro Universitario de Ciencias biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara. Km 15.5 Carretera Guadalajara–Nogales. Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México, 45110.

*Autor para correspondencia: Gerardo Barriada Bernal

Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR-IPN Unidad Durango). Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango, Dgo., México, 34220. Tel/Fax: 618 8142091; correo electrónico: lgbarriada_ciidir@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo se compararon las tasas de germinación y de crecimiento de plántulas en condiciones óptimas y de estrés térmico (25°C y 15°C, respectivamente), de diferentes poblaciones de tres especies de *Agave* (*Agave durangensis*, *Agave salmiana* y *Agave shidigera*), como indicadores fisiológicos del vigor de las semillas. A 25°C, *A. durangensis* presentó los valores promedio de germinación más elevado (>95%) y *A. shidigera* presentó el más bajo (<7%). En las condiciones estresantes, *A. salmiana* mostró la tasa de crecimiento más alta (radícula: 1.835 cm; brote: 0.203 cm) y *A. shidigera* la más baja (radícula 0.0108 cm; brote 0.0026 cm). Diferentes poblaciones de *Agave durangensis* y *Agave salmiana* pueden presentar diferente capacidad de germinación y crecimiento, lo que indica que existe una diversidad alélica específica asociada a esas características que debe ser explorada para hacer una selección de lotes de semillas vigorosas de esas especies.

PALABRAS CLAVE: Agave, germinación, velocidad de crecimiento, vigor de la semilla.

ABSTRACT

This paper compared the rates of germination and seedling growth under optimal and stressful thermal conditions (25°C and 15°C, respectively), of different populations of three species of *Agave* (*Agave durangensis*, *Agave salmiana* and *Agave shidigera*), as physiological indicators of seed vigor. At 25°C, *A. durangensis* showed the higher germination rate values (>95%), while *A. shidigera* showed the lowest (<7%). Under stress conditions, *A. salmiana* showed the highest growth rates (radicle: 1.835 cm; aerial part: 0.203 cm) and *A. shidigera* showed the lowest (radicle: 0.0108 cm; aerial part: 0.0026 cm). Different populations of *Agave durangensis* and *Agave salmiana* can have different germination and growth capabilities, indicating that exist an allelic diversity associated to those features, that should be explored to realize a selection of vigorous seed lots of those species.

KEYWORDS: Agave, germination, growth rates, seed vigor.

INTRODUCCIÓN:

De acuerdo a García-Mendoza y Galván (1995) la familia *Agavaceae* agrupa a ocho géneros y aproximadamente 217 especies. El género *Agave* es el más grande, con alrededor de 166 especies (Good-Ávila et al., 2006) y es económicamente el más importante (Granados, 1993). Este género comprende dos subgéneros, *Littaea* y *Agave* (Gentry, 1982). El subgénero *Agave* incluye aproximadamente 102 especies (Gentry, 1982) y el subgénero *Littaea* alrededor de 60 (García-Mendoza y Galván, 1995). Ciento veinticinco de las especies del género *Agave* se encuentran distribuidas en todo el territorio mexicano, por lo que México es considerado el centro de origen y diversificación de ese género (Gentry, 1982).

García-Mendoza y Galván (1995) clasificaron a los estados de la República Mexicana con base en la diversidad natural de especies de *Agave* y reportaron que el mayor número de especies de este género se concentra en el estado de Oaxaca, seguido por los estados de Puebla, Sonora, y en el cuarto lugar, con 24 especies, el estado de Durango. Un estudio más reciente reporta 29 especies de *Agave* para Durango (González-Elizondo et al., 2009).

Los elementos del género *Agave* pueden reproducirse de manera sexual y asexual (Durán et al., 1998). Sin embargo, dependiendo de la especie, predomina una de esas dos formas. De acuerdo a Durán et al., (1998) las formas de reproducción sexual del género *Agave* se pueden clasificar en: 1) policárpicas (especies que tiene la capacidad de producir flores en repetidas ocasiones) y 2) semélparo o monocárpico (especies que florecen una única ocasión y después mueren). Las especies con este último tipo de reproducción generan altos volúmenes de semilla; sin embargo, un alto porcentaje de éstas no logra sobrevivir, entre otras razones, porque esas estructuras representan el alimento de numerosas especies de insectos (Illsey-Granich et al., 2005).

En el estado de Durango se emplea principalmente *Agave durangensis*, una especie monocárpica, como materia prima de la

industria mezcalera (Gentry, 1982; Valenzuela-Ruiz et al., 2003; Cházaro et al., 2007; González-Elizondo et al., 2009). Sin embargo, actualmente no existen plantaciones suficientes para satisfacer las demandas de esa industria, por lo que las plantas son recolectadas de sus poblaciones naturales. Por esa razón se hace necesario impulsar la producción de plántulas de esa especie de *Agave* para el establecimiento de plantaciones con fines de conservación o comerciales, para ello, un aspecto importante a ser determinado es la evaluación del vigor de lotes diferentes de semilla, para poder seleccionar los que puedan generar plantaciones con mayor probabilidad de establecimiento.

Heydecker (1972) define el vigor de semilla como “un conjunto de propiedades que determinan su comportamiento durante los procesos de germinación y emergencia de la plántula”, y que puede ser cuantificado mediante la evaluación de cuatro aspectos: 1) sobrevivencia intacta cuando se encuentra en condición de quiescencia, 2) sobrevivencia cuando es sembrada en campo, 3) capacidad para generar plántulas con capacidad de establecimiento y, 4) capacidad de crecimiento de las plántulas originadas a partir del embrión de la semilla.

De acuerdo a Abascal (1984), el concepto definido por Heydecker (1972) lleva implícitos una serie de aspectos especializados y particulares tales como la actividad respiratoria, diversas reacciones enzimáticas, la capacidad de emergencia, diversos aspectos genéticos, así como una serie de transformaciones degenerativas.

Cuando alguno o varios de los factores descritos por Abascal (1984) presentan condiciones que retrasan al proceso de emergencia y desarrollo de la plántula, se les considera como condiciones o procesos estresantes. La capacidad de las plántulas para vencer esas condiciones estresantes también está relacionada con el vigor, por ejemplo, los embriones pueden ajustar sus parámetros de desarrollo radicular longitudinal y radial para

responder a estímulos desfavorables de tipo hídrico, (Sharp et al., 1988).

La identificación de marcadores (caracteres) que permitan seleccionar materiales potencialmente tolerantes a diferentes condiciones de estrés, es un aspecto importante para los procesos de mejoramiento de recursos vegetales. La importancia de estos marcadores adquiere mayor relevancia cuando su identificación es factible de realizarse en etapas tempranas del desarrollo (Ludlow y Muchow, 1990; Gutiérrez-Rodríguez et al, 1998).

La germinación en condiciones de obscuridad reducen la influencia de la luz en los mecanismos fotoblásticos de germinación presentes en algunas especies vegetales (Salisbury y Ross, 1992) y permite evaluar la capacidad de emergencia de las plántulas debida solamente a los propios procesos enzimáticos derivados de sus reservas y no debido a procesos fotosintéticos y la germinación en condiciones de estrés térmico permite evaluar directamente su efecto sobre aquellos procesos enzimáticos que repercuten en la capacidad y velocidad de germinación, y así en la velocidad de crecimiento de las plántulas (García et al.,1982; Shafii y Price,

2001).

El objetivo de este estudio fue determinar las dimensiones y pesos, y caracterizar la tasa de germinación y de crecimiento de plántulas de tres poblaciones diferentes de *Agave durangensis*, una de *Agave salmiana*, y una de *Agave shidigera* bajo condiciones óptimas y de estrés térmico como medidas del vigor de las semillas, para 1) evaluar la variabilidad de esos parámetros entre poblaciones diferentes de una misma especie de *Agave* y, 2) determinar las diferencias de los mismos parámetros entre distintas especies de ese género.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las semillas de *Agave durangensis* y de *Agave salmiana* fueron proporcionadas por la Colección de Germoplasma de *Agave* del Programa de Agronomía del CIIDIR Durango, y las de *Agave shidigera* fueron donadas por el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara (U de G). En el Cuadro 1 se presenta la información de la procedencia y el año de colecta de las semillas de cada una de las especies.

Cuadro Germoplasma empleado, especie y ubicación de colecta

Clave	Especie	Localidad	Año de colecta	Colección
d ₁	<i>A. durangensis</i>	Ejido La Parrilla, Municipio de Nombre de Dios	2008	CIIDIR IPN Durango
d ₂	<i>A. durangensis</i>	Ejido Pino Suárez, Municipio de Durango	2008	CIIDIR IPN Durango
d ₃	<i>A. durangensis</i>	Ejido Veracruz, Municipio de Poanas	2008	CIIDIR IPN Durango
s ₁	<i>A. salmiana</i>	Chachacuaxtle, Municipio del Mezquital	2008	CIIDIR IPN Durango
s ₂	<i>A. salmiana</i>	Ejido La Parrilla, Municipio de Nombre de Dios	2008	CIIDIR IPN Durango
sh ₁	<i>A. shidigera</i>	CUCBA, U de G		CUCBA, U de G

Características físicas

Se determino el peso de las semillas de cada población y de cada especie de acuerdo a la metodología propuesta por la Asociación Internacional de Examinadores de Semillas (ISTA, por sus siglas en inglés, 2003).

Las dimensiones se determinaron con base en la medición de 100 semillas de cada población (lote) y de cada especie, tomando al eje que va desde el punto de emergencia de la radícula en el pericarpio hasta el punto opuesto del mismo en el mismo eje como el largo y al eje opuesto como el ancho.

Germinación

Para la evaluación de germinación, las semillas se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2.25% (V/V) (González, 2003) durante cinco minutos y un lavado con agua corriente.

Las camas de germinación (20 cm x 18 cm) se prepararon con un sustrato compuesto por turba (Peat Moss Sphagnum Premier) y vermiculita (Peat Moss vermiculita) en relación 1:1. Las camas de germinación se humedecieron con agua corriente hasta su saturación. La humedad relativa fue registrada con un medidor higroscópico (ExoTerra Hagen) y por medio de un gel indicador con base de cloruro de cobalto.

La evaluación de la germinación se realizó a 25 °C (temperatura óptima) y a 15 °C (temperatura de estrés), en ambos casos a una humedad relativa cercana 100% y en obscuridad, por conteo directo de las semillas germinadas cada 24 hrs, durante 10 días para la primer temperatura y durante 15 días para la segunda.

Velocidad de crecimiento radicular y del sistema hipocótilo/epicótilo

Los registros del crecimiento radicular y de coleoptilo de las plántulas de cada lote se realizaron por medio de un vernier (Truper® CALDI-6MP). El desarrollo promedio de la parte radicular y del sistema hipocótilo/epicótilo se estimó mediante la Ecuación 1 (Talai y Sen-Mandi, 2009)

Ecuación 1)

$$D_p = \frac{LR_{144h} - LR_{72h}}{LR_{72h}}$$

Donde:

D_p ; desarrollo promedio

LR_{144h} ; longitud a 144 horas después de la imbibición (m)

La reducción porcentual promedio de la radícula y del sistema hipocótilo/epicótilo en condiciones de estrés térmico se calculó mediante la Ecuación 2 (Talai y Sen-Mandi, 2010):

Ecuación 2)

$$\%R_p = \frac{LP_{210h} - LP_{360h}^*}{LP_{240h}}$$

Donde:

$\%R_p$; desarrollo promedio

LP_{210h} ; longitud a 210 horas después de la imbibición en condiciones óptimas

LP_{360h}^* ; longitud a 360 horas después de la imbibición en condiciones de estrés

Análisis de datos

El tamaño de muestra se determinó mediante la Ecuación 3 (Lhor, 2003). Se analizaron lotes de 50 semillas para *A. durangensis* y *A. salmiana*, y de 20 para *A. shidigera*. Cada análisis se realizó por triplicado. Los datos se analizaron por medio de un ANOVA. La discriminación de medias se realizó por medio de la prueba de Fisher (LSD).

Ecuación 3)

$$n = \frac{[z^2 pqN]}{[NE^2] + [z^2 pq]}$$

Donde:

n Tamaño de la muestra

z Nivel de confianza; $z_{90}=1.65$

p Variabilidad positiva (prob. de éxito esperado);

$p=0.5$

q Variabilidad negativa (prob. de error esperado);

$q=0.5$

N Tamaño de la población; 500 semillas

E Error permitido; $e=0.10$

Con los valores de germinación acumulada para ambas condiciones térmicas se realizó una estimación del vigor mediante la Ecuación 4,

propuesta por Czabator (1962) y Djavanshir y Purbeik (1976).

Ecuación 4)

$$x = \left[\frac{\text{Valor}_{\text{maximo_germinacion_acumulativa}}}{\text{Dia_de_cuenta}} \right] \left[\frac{\text{Numero_total_de_plantulas_normales}}{\text{Dias_totales_de_la_prueba}} \right]$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Peso y dimensiones promedio

En el Cuadro 2 se presentan los registros de los pesos y las dimensiones de las semillas de cada lote. Diferencias significativas ($p < 0.05$) fueron encontradas tanto en peso como en dimensiones entre las tres especies de *Agave* analizadas. Las semillas de *Agave salmiana* fueron las más pesadas (2.628×10^{-3} g/semilla) y de dimensiones más grandes (7.72x5.38 mm), mientras que las semillas de *A. shidigera* mostraron el peso más bajo (1.083×10^{-5} g/semilla) y las menores dimensiones (1.93x1.66 mm). Ramírez (2010) comparó los pesos de las semillas de varias especies de *Agave* y reportó también que los valores más altos se encontraban en el grupo compuesto por semillas de la especie *A. salmiana*. Las diferentes poblaciones de *A. salmiana* no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el peso; de la misma manera, las localidades de *A. durangensis* no exhibieron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Cuadro 2).

Localidad	Peso promedio (g/semilla)	Ancho promedio (mm)	Longitud promedio (mm)
d ₁	0.00134 ^{AB}	5.56 ^C	3.99 ^B
d ₂	0.00196 ^{AB}	5.92 ^B	4.62 ^B
d ₃	0.00228 ^{AB}	5.29 ^A	3.51 ^{A^{BA}}
s ₁	0.00097 ^{AB}	7.72 ^D	5.38 ^C
s ₂	0.00184 ^{AB}	7.73 ^D	5.34 ^C
sh ₁	0.00001 ^C	1.93 ^E	1.66 ^D

Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$), según la prueba de LSD

Con respecto a las dimensiones, el análisis estadístico indicó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las tres especies de *Agave* para el parámetro del ancho promedio. Las poblaciones de *A. durangensis* mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$), mientras que las poblaciones de *A. salmiana* mostraron un comportamiento contrario. En cuanto a el largo promedio, no se registraron diferencias significativas ($p < 0.05$) de forma intraespecífica, pero sí de forma interespecífica (Cuadro 2).

Las semillas de la localidad de La Parrilla de *A. salmiana* (s₂) mostró las mayores dimensiones (7.73x 5.34 mm), y las semillas de *A. shidigera*

las menores (1.93x 1.66 mm).

Germinación

En el Cuadro 3 se observan los registros de la germinación porcentual promedio para las dos condiciones de temperatura. El análisis estadístico reveló que no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambas condiciones de germinación evaluadas.

Cuadro 3. Germinación porcentual promedio

Plobación	% promedio de germinación	
	25°C	15°C
d ₁	99.3333 ^A	83.3333 ^A
d ₂	98.6667 ^A	92 ^A
d ₃	98.6667 ^A	100 ^A
s ₁	100 ^A	100 ^A
s ₂	99.6667 ^A	96 ^A
sh ₁	11.6667 ^C	15 ^C

Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (p<0.05), según la prueba de LSD

Agave shidigera mostró un mayor porcentaje de germinación a la temperatura de 15°C, probablemente ocasionado por el daño en sus estructuras celulares, el cual puede mover las condiciones óptimas de germinación hacia niveles que normalmente resultarían estresantes para semillas sin daño celular (Ruiz,

1994).

Mediante el análisis de los valores de germinación acumulada para ambas condiciones térmicas mostradas en la Figura 1, se realizó una estimación del vigor mediante la Ecuación 4.

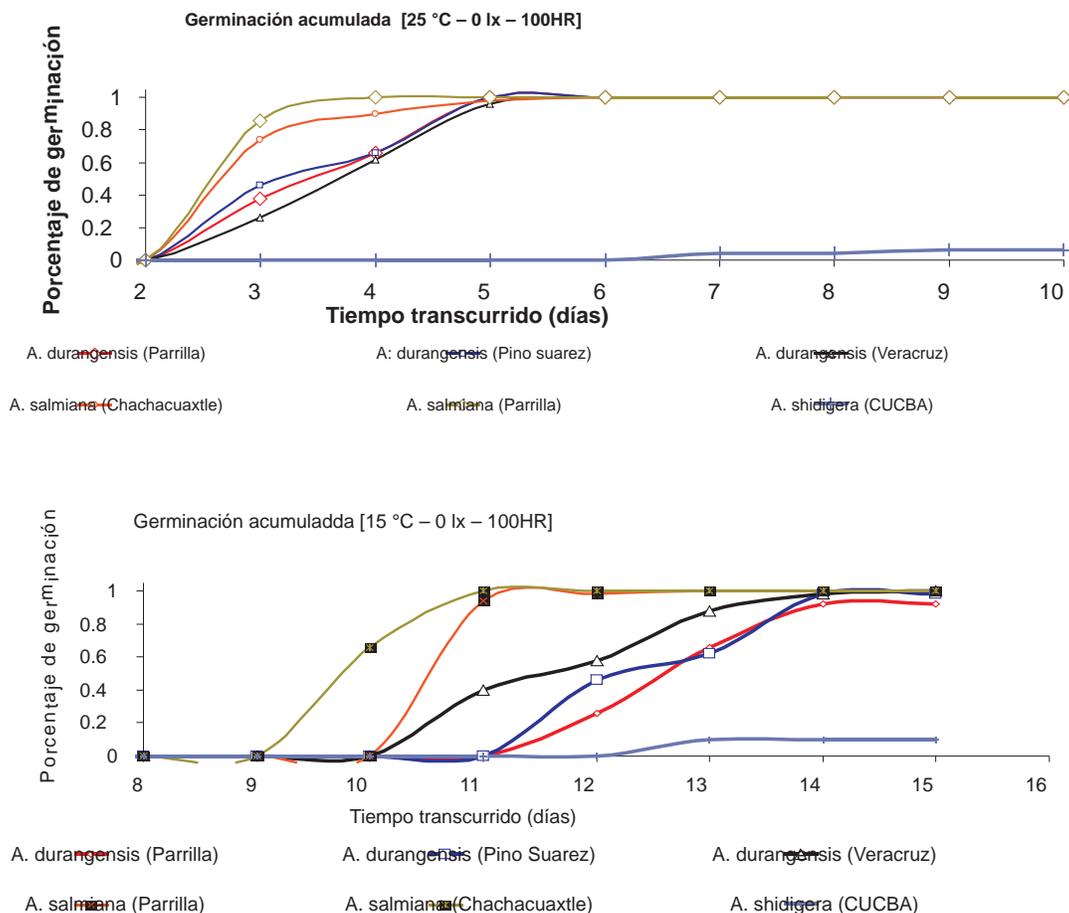


Figura 1. Curvas de germinación acumulada para (a) 25 °C y (b) 15 °C

En la Figura 1(a) se observa que a 25 °C, las semillas de *A. salmiana* alcanzaron el valor de máxima germinación entre el cuarto y el quinto día; mientras las de *A. durangensis* ese máximo fue alcanzado al quinto día. *Agave shidigera* presentó el valor máximo en el décimo día. En la Figura 1 (b), los valores máximos de germinación acumulada, a 15°C, se agrupan alrededor del décimo cuarto día para las semillas de *A. durangensis*, mientras que para las de *A. salmiana*, esos valores máximos ocurren en el onceavo día. *Agave shidigera* presentó los registros más bajos de germinación (>10%), concordando con

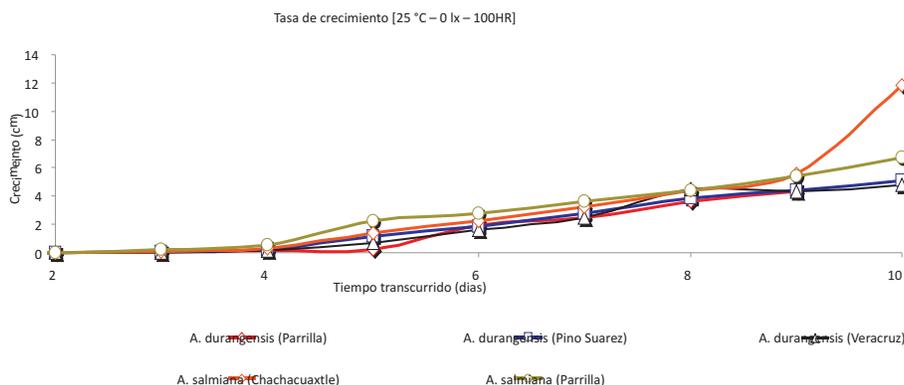
la información proporcionada por Nobel (1996), en la que ese autor hace referencia a que las especies de Agaves de dimensiones morfológicas más pequeñas generan altos volúmenes de semillas; esa alta producción quizá sea un mecanismo que compensa bajos porcentajes de germinación. Con los resultados de los porcentajes de germinación se realizó una nueva evaluación del vigor de las semillas de acuerdo a la metodología de Czabator (1962) y Djavanshir y Purbeik (1976). Los resultados de dicha evaluación se muestran en el Cuadro 4.

Población	Evaluación del vigor a 25 °C	Evaluación del vigor a 15 °C
d ₁	1	0.3833
d ₂	1	0.4083
d ₃	0.8166	0.4545
s ₁	0.8	0.4545
s ₂	1.25	0.5
sh ₁	0.0428	0.0153

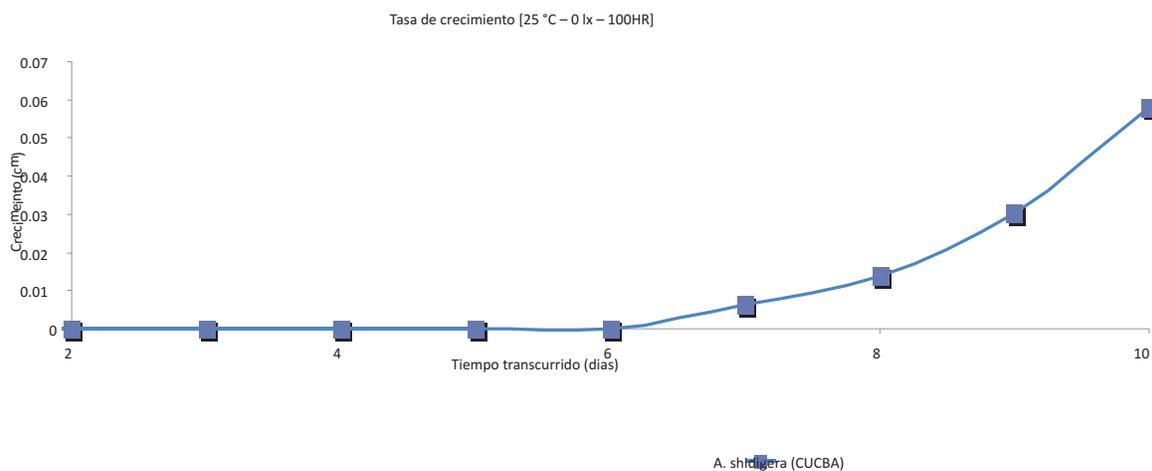
En el Cuadro 4 se puede observar que para las dos temperaturas de germinación evaluadas, las semillas de *A. salmiana* presentaron, en promedio, las mejores características de vigor (considerando el porcentaje de germinación) en comparación a las otras dos especies de *Agave*.

Crecimiento de las plántulas

El crecimiento promedio a 25°C de las plántulas de las tres especies de *Agave* analizadas se representan en la Figura 2; en esa Figura se aprecia que para el caso de *A. salmiana*, el proceso de germinación inicia aproximadamente en el segundo día de imbibición, mientras que para *A. durangensis* y *A. shidigera* dicho proceso inicia aproximadamente a los cuatro y seis días, respectivamente.



(a)



(b)

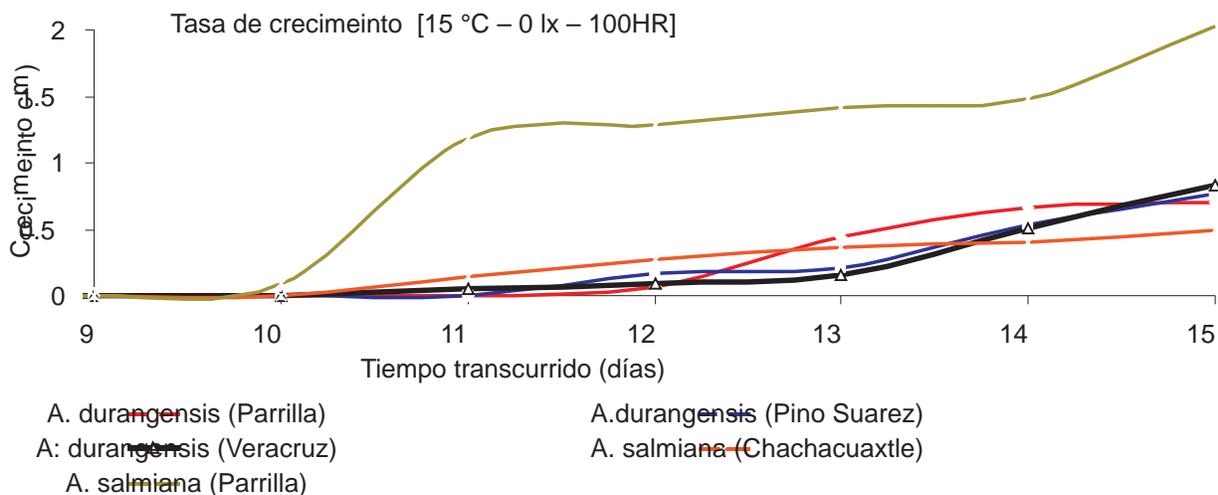
Figura 2. Crecimiento a 25°C, (a) *A. durangensis* y *A. salmiana*; (b) *A. shidigera*

Diferencias significativas ($p < 0.05$) se encontraron en el crecimiento de forma interespecíficas e intraespecífica. Las diferencias significativas existentes, se localizan entre localidades pertenecientes a la especie *A. salmiana*, tal y como se muestra en el Cuadro 5. La localidad de El Chachacuaxtle (s_2) de la especie *A. salmiana* presentó el crecimiento promedio más elevado; mientras que *A. shidigera* (sh) presentó el más bajo de entre las tres especies analizadas.

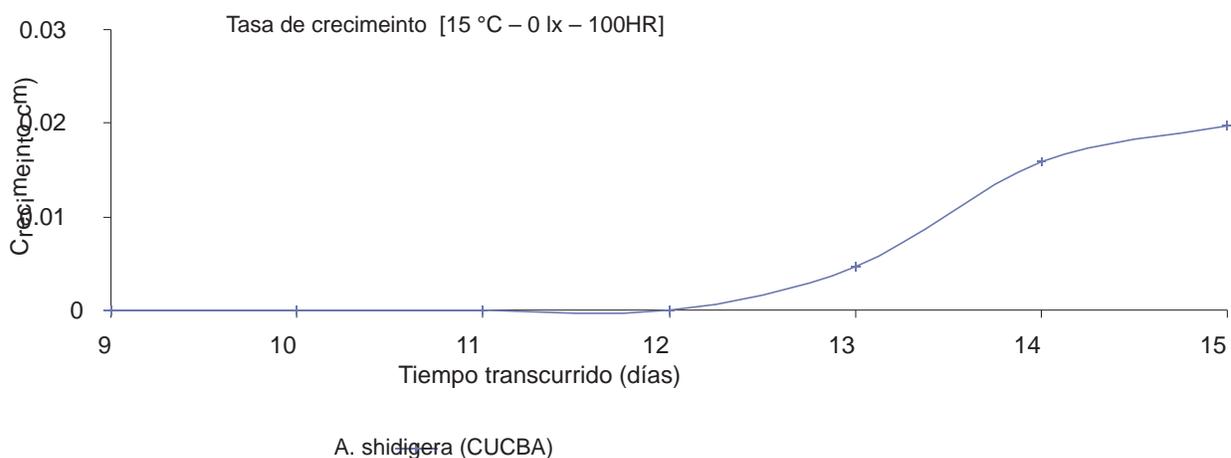
Cuadro 5. Crecimiento promedio de las semillas de *Agave durangensis*, *Agave salmiana*, y *Agave shidigera* a 25°C, al día 10 de crecimiento

<i>Agave durangensis</i>		<i>Agave salmiana</i>		<i>Agave shidigera</i>	
Población	Tasa de crecimiento promedio (cm)	Población	Tasa de crecimiento promedio (cm)	Población	Tasa de crecimiento promedio (cm)
d_1	0.1466 ^{BC}	s_1	0.2912 ^A	sh_1	0.0010 ^D
d_2	0.1955 ^B	s_2	0.2595 ^A		
d_3	0.1858 ^B				

El análisis del crecimiento promedio de las especies de *Agave* analizadas a 15 °C se presentan en la Figura 3; en ella se aprecia que para *A. salmiana* el proceso de germinación inicia aproximadamente en el décimo día de imbibición, mientras que para *A. durangensis* dicho proceso inicia entre el décimo y el doceavo día; la localidad de *A. shidigera* empieza a germinar al doceavo día.



(a)



(b)

Figura 3. Crecimiento a 15°C, (a) *A. durangensis* y *A. salmiana*; (b) *A. shidigera*

En el Cuadro 6 se muestran los resultados del análisis estadístico del crecimiento a 15°C, en el que se observa que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) interespecíficas e intraespecíficas. Las diferencias intraespecíficas se localizan dentro de las localidades de la *A. salmiana*.

<i>Agave durangensis</i>		<i>Agave salmiana</i>		<i>Agave shidigera</i>	
Población	Crecimiento promedio (m)	Población	Crecimiento promedio (m)	Población	Crecimiento promedio (m)
d ₁	0.0083 ^B	s ₁	0.0074 ^B	sh	0.0001 ^C
d ₂	0.0074 ^B	s ₂	0.0332 ^A		
d ₃	0.0072 ^B				

Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$), según la prueba de LSD 25 °C y a 15°C

En el Cuadro 7 se aprecian los valores obtenidos dentro de la evaluación del vigor de las semillas; las localidades de el Chachacuaxtle (s_2), pertenecientes a *A. salmiana* y; Pino Suárez (d_2) y Veracruz (d_3), pertenecientes a *A. durangensis*, presentaron una mejor evaluación del vigor.

Especie	Población	Reducción porcentual del crecimiento (%)
<i>A. durangensis</i>	La parrilla	0.6229
<i>A. durangensis</i>	Ejido Pino Suárez	0.8502
<i>A. durangensis</i>	Ejido Veracruz	0.8291
<i>A. salmiana</i>	El Chachacuaxtle	0.9608
<i>A. salmiana</i>	La Parrilla	0.6979
<i>A. shidigera</i>	CUCBA	0.6590

Cuadro 7. Evaluación del vigor de la semilla basado en la reducción del crecimiento ocasionada por la condición térmica estresante.

CONCLUSIONES:

Las semillas de *A. durangensis* y *A. salmiana* presentaron porcentajes promedio de germinación mayores al 95% a 25 °C. La disminución de la temperatura a 15°C tiene efectos sobre los porcentajes de germinación de las localidades de *A. durangensis*, cuyas semillas disminuyeron su porcentaje promedio de germinación en un 8% para la población del ejido La Parrilla y de un 2% para la población del ejido Pino Suárez. Este efecto es inapreciable dentro de las localidades pertenecientes a *A. salmiana*, ya que el total de los individuos germinaron (100% de germinación).

La evaluación del vigor realizada a las diferentes localidades y especies de semilla, basada en los datos fisiológicos provenientes de las curvas de germinación acumulada, sugieren que *A. salmiana* presentan las mejores características de vigor.

La evaluación del vigor de la semilla realizada basada en la evaluación de la reducción del crecimiento radicular y del sistema hipocótilo/epicótilo, sugieren, como lo hacen los resultados de las curvas de germinación acumulada, que las semillas de las localidades pertenecientes a la especie *A. salmiana* son las más vigorosas en comparación con las semillas de las localidades de las especies de *A. durangensis* y de *A. shidigera*.

Las diferencias poblaciones en la germinación y crecimiento de las plántulas de *Agave durangensis* y *Agave salmiana* indican que existe una diversidad alélica específica asociada a esas características que debe ser explorada para hacer una selección de lotes de semillas vigorosas de esas especies.

BIBLIOGRAFÍA

- Abascal, J. 1984. *Manual de métodos de ensayo de vigor*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Cházaro, B. M. J., O. P. Valencia, R. M. P. Hernández. 2007. Agaves silvestres usados en la elaboración de bebidas alcohólicas. En: Agaves del Occidente de México (Eds. Vázquez-García, J. A., B. M. J. Cházaro, G. V. Hernández, B. E. Flores, Y. L. Vargas-Rodríguez) Universidad de Guadalajara, Consejo Regulador del Tequila, Louisiana State University, Comisión Nacional Forestal. México, pp. 123-126.
- Czabator, F. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination, *Forest Science* 8: 386-396
- Durán, R., J. Trejo, G. Ibarra. 1998. Endemic phytotaxa of the Peninsula of Yucatan. *Harvard Papers in Botanical* 3: 265-316
- Djanvanshir, K., H. Pourbeik. 1976. Germination value – A new formula. *Silvae Genetica* 25: 79-83

- García-Mendoza, A., V. R. Galván. 1995. Riqueza de las familias *Agavaceae* y *Nolinaceae* en México. Boletín Sociedad Botánica de México 56: 7-24
- García, H., J. Monteith, G. Squire. 1982. Time, temperature, and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. & H.). Journal of Experimental Botany 33: 288-296
- Gentry, H. S. 1982. *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press. Arizona.
- Granados, S. D. 1993. *Los Agaves en México*. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- González, A. 2003. Desinfección de semilla de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo Granja Asturiana, con antifúngicos y antibacterianos. Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas 29: 461-470
- González-Elizondo, M., R. Galván-Villanueva, I. L. López-Enríquez, L. Reséndiz-Rojas, M. S. González-Elizondo. 2009. Agaves, Magueyes, Lechuguillas y Noas del Estado de Durango y sus alrededores. IPN-CONABIO-COCYTED. México.
- Good-Ávila, V. S., V. Souza, S. B. Gaut, E. L. Eguiarte. 2006. Timing and rate of speciation in Agave (Agavaceae). Proceedings of the National Academy of the United States of America 103: 9124-9129.
- Gutiérrez-Rodríguez, M., R. San Miguel-Chávez, A. Larqué-Saavedra. 1998. Physiological aspects in Tuxpeño maize with improved drought tolerance, Maydica 43: 137-141
- Heydeker, W. 1972. Vigor. In *Viability of seeds*. (Ed. E. H. Roberts). Syracuse University Press, New York, pp.209-252.
- Illsey-Granich C, T Gómez Alarcón, G. Rivera Méndez, M del P Morales Moreno, J García Bazán, A Ojeda Sotelo, M Calzada Rendón, S. Mancilla Nava. 2005. Conservación *in situ* y Manejo Campesino de Magueyes Mezcaleros. Grupo de Estudios Ambientales AC. **Informe CONABIO** Proyecto V028. México D. F.
- Lohr, S.2003. *Model Assisted Survey Sampling*. International Thomson. México
- Ludlow, M., R. Muchow. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water limited environments. Advances in Agronomy 43:107-153.
- Nobel, P. S. 1996. Ecophysiology of roots of desert plants, with special emphasis on agaves and cacti. In: Plant Roots: The Hidden Half (Eds. Waissel, Y., A. Eshel, U. Kafkafi). Marccel Dekker, New York, pp. 823-844.
- Ramírez, H.2010. *Características bioquímica – fisiológicas de la germinación y desarrollo de plantas jóvenes de maguey (Agave) y su relación con la especie, temperatura y potencial de agua del sustrato*. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. México.
- Ruiz, M. 1994. Alteraciones bioquímicas en semillas envejecidas de girasol (*Helianthus annuus* L. cv. Peredovik) relacionados con la viabilidad, funcionalidad de las membranas y cambios asociados con la capacidad antioxidante, Universidad Complutense de Madrid, España
- Salisbury, I., C. Ross. 1992. *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing. USA.
- Shafii, B., W. Price. 2001. Estimation of cardinal temperatures in germination data analysis. Journal of Agricultural Biological and Environmental Statistics 6: 356-366
- Sharp, R., W. Kuhn-Silk, T. Hsiao. 1988. Growth of the maize primary root at low water potentials. Plant Physiology 87: 50-57
- Talai, S., S. Sen-Mandi. 2010. Seed vigor-related DNA marker in rice shows homology with acetyl CoA carboxylase gene. Acta Physiologiae Plantarum 32:153–167.
- Valenzuela-Ruiz, J. F., O. H. Velasco-González, M. A. Márquez-Linares. 2003. Desarrollo Sustentable del Agave Mezcalero en Durango. SEP, CIIDIR-IPN-Dgo., SAGDR. México.

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA OBTENER ADN TOTAL DE *Phaseolus vulgaris* PARA ANÁLISIS DE ISTR

Alfonso Reyes-Martínez¹, Luis Gerardo Barriada-Bernal¹, Diana María Rivera-Rodríguez¹, Arnulfo Pajarito-Ravelero², Eli Amanda Delgado-Alvarado¹, Norma Almaraz-Abarca¹, Jesús Herrera-Corral¹, José Natividad Uribe-Soto¹, Néstor Naranjo-Jiménez¹

¹Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Durango, Instituto Politécnico Nacional

Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango, Durango, México, 34220

² Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria (INIFAP) de Durango
Km 4.5 Carretera Durango-El Mezquital, Durango, Durango, México

RESUMEN

Se modificaron y compararon dos métodos de CTAB para aislar ADN total a partir de tejido foliar de frijol variedad Pinto Saltillo. Diferencias en el proceso de trituración de los tejidos, concentración de los componentes de los reguladores de aislamiento y número de pasos de lavado del material genético producen diferencias significativas en la cantidad y la pureza del ADN obtenido. Del material genómico aislado por el método que permitió obtener la mayor cantidad (3996.249 ng/μL) y la mejor pureza ($A_{260}/A_{280} = 1.68$) de ADN, también fue posible amplificar secuencias ISTR.

ABSTRACT

Two CTAB methods to isolate DNA from foliar tissues of bean Pinto Saltillo were modified and compared. Differences in the tissue grinding, the isolation buffers composition, and in the number of wash steps of genetic material resulted in significant differences in the yield and purity of DNA isolated. From the DNA obtained by the method, which allowed obtaining the highest amount (3996.249 ng/μL) and purity ($A_{260}/A_{280} = 1.68$) of DNA, ISTR sequences were amplified by PCR.

INTRODUCCIÓN

Para la realización de estudios que involucran el uso de marcadores moleculares es necesario contar con protocolos de aislamiento de ADN que permitan obtener ese material en forma pura y en cantidad suficiente. De manera comercial existen kits que garantizan el aislamiento de ADN a partir de una gama muy amplia de especies; sin embargo, en muchos laboratorios de investigación se prefiere estandarizar los propios métodos según las especies particulares a estudiar, porque la cantidad y la calidad del ADN obtenido con los kits comerciales no siempre son las adecuadas, además de que su costo generalmente es elevado.

En la actualidad existen diferentes métodos para aislar ADN total de especies vegetales. Algunos de ellos consumen periodos largos de tiempo y son complicados, hacen uso de dos solventes orgánicos, como el fenol y el cloroformo, y de un proceso de diálisis para la purificación del ADN, como el desarrollado por Herrmann (1982); o el desarrollado por Palmer (1987), que es un poco más corto que el primero porque no incluye un paso de diálisis. Protocolos como el reportado por Rogers y Bendich (1988) son muy largos, porque requieren ultracentrifugación en gradientes de cloruro de cesio durante 12 o 16 horas y pasos igualmente largos de diálisis para después eliminar de las muestras de ADN el cloruro de cesio.

La inclusión del detergente catiónico bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB por sus siglas en inglés) a los reguladores de extracción de ADN en vez del detergente dodecilsulfato de sodio (SDS

por sus siglas en inglés) por Shagai-Marroof et al. (1984) simplificó y redujo el tiempo empleado para aislar ADN de especies vegetales. El CTAB precipita los ácidos nucleicos como sales insolubles de CTAB en presencia de concentraciones bajas de cloruro de sodio, reduciendo la precipitación de polisacáridos y proteínas contaminantes, incluidas nucleasas, por lo que disminuye el riesgo de degradación del material genético (Shagai-Marroof et al., 1984).

Algunas especies son recalcitrantes para aislar ADN en forma pura, porque pueden contener altas cantidades de polisacáridos o de compuestos fenólicos, que son difíciles de separar del material genético (Tibbits et al., 2006; Cota-Sánchez et al., 2006) y que inhiben enzimas, como la ADN polimerasa que es requerida en las reacciones de PCR (reacción en cadena de polimerasa) (Kim et al., 1997). Para eliminar fenoles, se adicionan a los reguladores de aislamiento, compuestos como la polivinilpirrolidona (PVP), que absorbe esos compuestos, y también se adicionan sustancias caotróficas (desnaturalizantes) como el 2-mercaptoetanol, que inhibe la acción de enzimas fenoloxidasas (Scopes, 1994).

Phaseolus vulgaris es una especie que ha sido extensivamente manipulada para la generación de variedades. En México, uno de los centros de origen del género *Phaseolus*, existen más de 150 especies, de las cuales 50 se encuentran en México (Reyes et al., 2008); la mayoría de ellas ha sido caracterizada principalmente de manera morfológica y agronómica (Vidal-Barahona et al., 2006; Vargas-Vázquez et al., 2008). La caracterización molecular de variedades regionales y económicamente importantes de frijol se ha realizado para colecciones de Portugal (Coelho et al., 2009), de la Península Ibérica (Rodiño et al., 2006), y de Honduras (Guachambala-Cando y Rosas-Sotomayor, 2010). A pesar de la importancia del cultivo de esta especie en México, de la importancia que nuestro país tiene como centro de origen, lo valioso de los marcadores moleculares como parámetros de autenticidad de variedades, de

monitoreo de pureza de variedades, y en el mejoramiento genético asistido, en México se han llevado a cabo pocos trabajos al respecto, entre ellos se encuentran los de Vidal-Barahona et al. (2006) y Vargas-Vázquez et al. (2008). Sin embargo, para que esos estudios puedan llevarse a cabo es necesario contar con métodos de aislamiento que permitan obtener ADN en calidad y cantidad adecuadas para poder ser amplificado por PCR o digerido por enzimas de restricción, y que sean accesibles en términos económicos y técnicos. En el presente trabajo se comparan los procedimientos de Keb-Llanes et al. (2002) y el Coelho et al. (2009), ambos con modificaciones, para aislar ADN de frijol. El ADN obtenido se amplificó con los marcadores moleculares ISTR (Inverse Sequence Tagged Repeat) para probar la eficiencia de cada método de aislamiento para estudios futuros de variabilidad genética basada en esos marcadores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

La variedad de frijol analizada, Pinto Saltillo, fue proporcionada por el Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria (INIFAP) de Durango. Diez semillas fueron germinadas y el material foliar fue colectado de cada una entre los 7 y 10 días después de la germinación.

Extracción de ADN

Modificación del protocolo de Coelho et al. (2009)

El ADN total de 10 plántulas se extrajo de manera individual a partir de tejido foliar (100 mg) pulverizado con nitrógeno líquido. Los tejidos pulverizados se combinaron con 800 µL de regulador de extracción, conteniendo CTAB al 2%, NaCl 1.4 M, Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, EDTA 20 mM, 2-mercaptoetanol al 2% y polivinilpirrolidone (PVP peso molecular 40 000) al 3%. Una diferencia con el protocolo original de Coelho et al. (2009) es que esos autores adicionan 36 mg de PVP a los tejidos después de la adición de nitrógeno líquido y no como parte del regulador de extracción. Las

muestras se incubaron a 65°C durante 60 minutos, después se combinaron con 600 µL de cloroformo, se agitaron y se centrifugaron (10 000 rpm durante 10 minutos, a temperatura ambiente. El sobrenadante, fase acuosa conteniendo el ADN disuelto, se recuperó y se volvió a fraccionar con cloroformo. La fase acuosa resultante se combinó con 500 µL de isopropanol frío y se incubaron durante 30 min a -20°C para precipitar el ADN antes de centrifugarse (10 000 rpm durante 10 minutos). Se descartó el sobrenadante y la pastilla conteniendo el ADN se resuspendió en 300 µL de TE (Tris 10mM, EDTS 1mM) y 150 µL de NaCl 5M, después se adicionaron 900 µL de etanol absoluto frío, las muestras se incubaron a -20°C durante 30 minutos, se centrifugaron a 10 000 rpm durante 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y la pastilla se lavó con 500 µL de etanol al 75%. Este lavado con etanol es adicional al protocolo original de Coelho et al. (2009). Después de centrifugar a las condiciones ya señaladas, el sobrenadante se descartó, la pastilla de ADN se dejó secar a temperatura ambiente, y se resuspendió en 50 µL de TE.

Modificación del protocolo de Keb-Llanes et al. (2002)

El ADN total de 10 plántulas se extractó de manera individual a partir de tejido foliar (100 mg), pulverizado con nitrógeno líquido. Los tejidos pulverizados se combinaron con 300 µL de regulador de extracción A (CTAB al 2%, Tris HCL 100 mM, pH 8.0, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, PVP 40 al 4%, ácido ascórbico al 0.1%, 2-mercaptoetanol 10 mM), 900 µL de regulador de extracción B (Tris-HCL 100 mM, pH 8.0, EDTA 50 mM, NaCl 100 mM, 2-mercapoetanol 10 mM), y 100 µL de SDS 20%. Las muestras se incubaron a 65°C durante 30 minutos, después se combinaron con 410 µL de acetato de potasio 5M frío, y se centrifugaron (8000 rpm durante 15 minutos, a temperatura ambiente). Se recuperó el sobrenadante, se combinó con un volumen igual de cloroformo, se centrifugó a las condiciones ya señaladas y se recuperó la fase acuosa. La adición de cloroformo es una modificación al protocolo original de

Keb-Llanes et al (2002). La fase acuosa se combinó con 800 µL de isopropanol frío y se incubó a -20°C durante 30 minutos para precipitar el ADN. Las muestras se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 minutos. Se descartó el sobrenadante y la pastilla, conteniendo el ADN se resuspendió en 800 µL de TE, 70 µL de acetato de sodio 3M (pH 5.2), y 500 µL de isopropanol (-20°C), después se incubó durante 60 minutos a -20°C. Las muestras se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 minutos, la pastilla se lavó con 1 mL de etanol al 70% y se dejó secar a temperatura ambiente antes de resuspenderse en 50 µL de TE

Cuantificación del ADN obtenido

La determinación de la cantidad de ADN obtenido se realizó de manera espectrofotométrica. Se tomaron 4 µL de cada solución individual de ADN y se combinaron con 996 µL de agua inyectable (dilución 1/250). Se determinaron los valores de absorbancia a 260 nm (A_{260}). La concentración de ADN en cada muestra se estimó considerando que una solución de ADN de concentración igual a 50 ng/µL tiene un valor de A_{260} de 1 (Chan, 1992).

Pureza del ADN obtenido

La determinación de la pureza de las soluciones de ADN se realizó de manera espectrométrica de acuerdo a Sambrook et al. (1989). De manera individual se registraron los valores de A_{280} y se calcularon los valores de la relación A_{260}/A_{280} , considerando las lecturas previas de A_{260} . Valores de esas proporciones iguales o mayores de 1.7 indicaron que el ADN se encontraba lo suficientemente libre de proteínas para poder ser amplificado por PCR.

Apreciación del tamaño molecular y de la integridad del ADN obtenido.

La apreciación del tamaño molecular y de la integridad de las muestras de ADN se realizó por electroforesis en geles de agarosa, de acuerdo a Andrews (1994). Se prepararon geles de agarosa al 0.8%, utilizando el regulador TAE (Tris-HCl 0.4 M, EDTA 2 M, ácido acético). La electroforesis se desarrolló a 70 volts. Los geles se tiñeron con Sybr Green.

Amplificación de loci ISTR por PCR

La amplificación de loci ISTR se realizó de acuerdo al método de Osorio et al. (2006), con los iniciadores F9 y B8. Para cada muestra individual se preparó una mezcla de reacción conteniendo los iniciadores F9 (TTACCTCCTCCATCTCGT) y B8 (ATACCTTTCAGGGGGATG) a 0.3 μ M, regulador 1X de PCR, MgCl₂ 3 mM, mezcla de nucleótidos 0.25 mM, Taq pol 1U, ADN molde 25 nM, agua para ajustar el volumen de reacción a 20 μ L. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: un primer ciclo de desnaturalización a 95°C durante 3 min; 40 ciclos, comprendiendo un paso de desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, uno de alineación a 45°C durante 1 min, y uno de extensión a 72°C durante 2 min; finalizando con 10 min a 72°C.

Análisis de datos

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y de comparación de medias por chi cuadrada, usando el programa Stargraphics Centurion XV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de A_{260} y de la concentración de ADN aislado de cada uno de los 10 individuos analizados de manera independiente con las modificaciones de los métodos de Coelho et al. (2009) y de Keb-Llanes et al. (2002) se muestran en la Tabla 1. En esa tabla se observa que utilizando el método modificado de Coelho et al. (2009) fue posible obtener una concentración media de ADN de frijol variedad Pinto Saltillo de 3996.249 ng/ μ L, y con el método de Keb-Llanes et al. (2002) una concentración media de 290.416 ng/ μ L. Estos valores significativamente diferentes ($t = 5.83111$, $P = 0.0000159566$, $\alpha = 0.05$) indican que las variaciones entre los dos métodos determinan la cantidad de ADN que puede obtenerse a partir de tejido foliar de esa variedad de frijol. Las cantidades de ADN obtenidas por el método de Coelho et al. (2009) son suficientes para llevar a cabo análisis moleculares empleando no solo marcadores de ISTR sino también microsateélites, RAPD y AFLP de frijol, ya que, de acuerdo a Arif y Khan (2009) y a nuestros propios resultados de ISTR, cantidades de ADN variando entre 20 a 500 ng

son requeridas para realizar esas caracterizaciones.

Algunos autores consideran que muestran de ADN que presentan valores mayores o iguales a 1.7 o 1.9 veces más cantidad de ADN con respecto a proteínas (valores de A_{260}/A_{280} 1.7 o A_{260}/A_{280} 1.9) representan muestras de ADN suficientemente puras (Sambrook et al., 1989; Towner, 1994), las cuales se pueden analizar con la mayoría de las técnicas moleculares. De acuerdo a la Tabla 1, solo el 40% de las muestras de ADN obtenidas a partir del método modificado de Coelho et al. (2009) cumplió con esa consideración de pureza, mientras que ninguna muestra obtenida con el protocolo de Keb-Llanes et al. (2002) alcanzó el valor de pureza señalado. Sin embargo, todas las muestras obtenidas con el protocolo modificado de Coelho et al. (2009) pudieron ser amplificadas con los iniciadores de ISTR evaluados en el presente estudio. Estos resultados sugieren que los requerimientos de pureza de muestras de ADN podrían en realidad ser más flexibles. Comparativamente, el método modificado de Coelho et al. (2009) permitió obtener ADN de mayor pureza (valor medio de $A_{260}/A_{280} = 1.68$) que el modificado de Keb-Llanes et al. (2002), el cual permitió obtener ADN de tejido foliar de la variedad de frijol Pinto Saltillo con un valor promedio de pureza de 1.09 (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de A_{230} , A_{260} , A_{280} , A_{260}/A_{280} , A_{260}/A_{280} , y concentración de ADN de 10 individuos de frijol variedad Pinto Saltillo obtenido con el método de Coelho et al. (2009) y de Keb-Llanes et al. (2002).

Tabla 1. Valores de A_{230} , A_{260} , A_{280} , A_{260}/A_{280} , A_{260}/A_{280} y concentración de ADN de 10 individuos de frijol variedad Pinto Saltillo obtenido con el método de Coelho et al. (2009) y de Keb-Llanes et al. (2002).

Muestr a	Método Modificado de Coelho et al. (2009)				Método Modificado de Keb-Llanes et al. (2002)			
	A_{260}	A_{280}	A_{260}/A_{280}	Concentración (ng/ μ L)	A_{260}	A_{280}	A_{260}/A_{280}	Concentración (ng/ μ L)
1	0.50	0.28	1.79	6308.33	0.01	0.02	0.92	237.50
	5	2			9	1		
2	0.30	0.18	1.67	3770.83	0.02	0.02	1.00	354.17
	2	1			8	8		
3	0.62	0.33	1.85	7770.83	0.02	0.02	1.08	275.00
	2	6			2	0		
4	0.35	0.20	1.74	4429.17	0.03	0.02	1.19	370.83
	4	4			0	5		
5	0.15	0.10	1.45	1895.83	0.04	0.04	1.18	608.33
	2	5			9	1		
6	0.21	0.12	1.74	2741.67	0.01	0.01	1.39	220.83
	9	6			8	3		
7	0.30	0.18	1.67	3833.33	0.02	0.02	1.04	300.00
	7	3			4	3		
8	0.09	0.06	1.58	1187.50	0.01	0.01	0.97	129.17
	5	0			0	1		
9	0.23	0.14	1.64	2904.17	0.01	0.01	1.04	195.83
	2	1			6	5		
10	0.41	0.24	1.68	5120.83	0.01	0.01	1.13	212.50
	0	3			7	5		
			1.68±0.1	3996.249±1902.3			1.09±0.1	290.35±126.77
			0	68			2	3

La integridad y el tamaño molecular del ADN obtenido con los métodos modificados de Coelho et al. (2009) y de Keb-Llanes et al. (2002) se muestran en la Figura 1. En esa figura se

aprecia que el ADN obtenido con ambos métodos tuvo una migración electroforética baja (bandas cercanas a los pocillos de depósito de las muestras), lo que indica un tamaño

molecular alto, el cual fue mayor a 10 000 pb (datos de marcador de tamaño molecular no mostrados), y bajo nivel de degradación, apreciado por el fondo tenue (“background”) a lo largo de los carriles del gel, lo cual es un criterio de integridad o bajo nivel de degradación de muestras de ADN (Towner, 1994).

Cantidades variables de ARN fue aislado conjuntamente con el ADN, como puede ser apreciado por la intensidad de las bandas difusas al extremo opuesto de los depósitos en cada carril de la Figura 1. En la misma Figura 1 se observan cantidades menores de ADN obtenido con el método modificado de Keb-Llanes et al. (2002). Estos resultados indican que aunque los dos métodos de aislamiento evaluados en el presente estudio permitieron obtener ADN de alto peso molecular a partir de tejido foliar de frijol Pinto Saltillo, el modificado de Coelho et al. (2009) permite obtener mayor cantidad de material genético en mejor calidad.

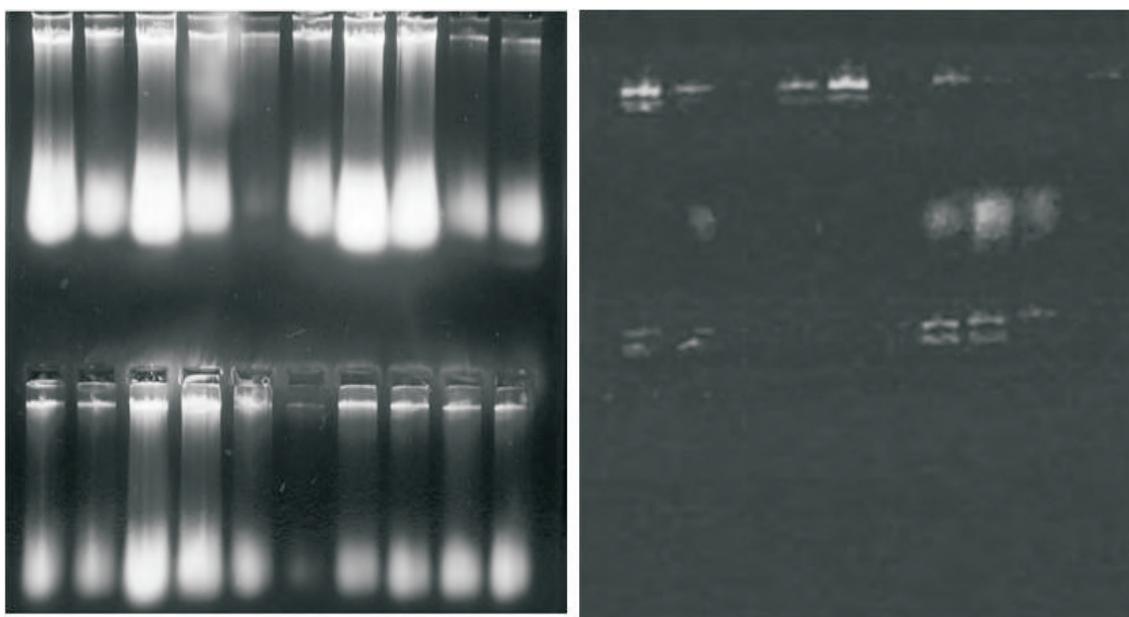


Figura 1. Gel de agarosa al 0.8% de muestras de AND obtenidas a partir de tejido foliar de 10 individuos de frijol variedad Pinto Saltillo con (izquierda) el método modificado de Coelho et al. (2009) y (derecha) de los mismos individuos con el método modificado de Keb-Llanes et al. (2002).

De acuerdo a la Figura 2, los ISTR revelados por los iniciadores F9 y B8 generan perfiles de amplificación formados por dos bandas bien definidas, que representan dos secuencias ISTR de alrededor de 1000 y 1500 pb, en el genoma de la variedad Pinto Saltillo de frijol. Estos resultados apoyan el carácter universal de estos marcadores mencionado por Rhode (1996) e indican que el ADN obtenido con el protocolo aquí modificado de Coelho et al. (2009) puede ser amplificado con los iniciadores para marcadores ISTR.

Diferencias en los procesos de trituración de los

tejidos vegetales, en la composición de los reguladores de aislamiento, y en los pasos de lavado con soluciones etanólicas generaron diferencias significativas en la cantidad, calidad y capacidad de amplificación del ADN aislado a partir de tejido foliar de frijol Pinto Saltillo. El protocolo resultante de las modificaciones hechas en el presente estudio al original de Coelho et al. (2009), las cuales simplifican a este último, puede ser usado para estudios de variabilidad genética de frijol, empleando marcadores ISTR.

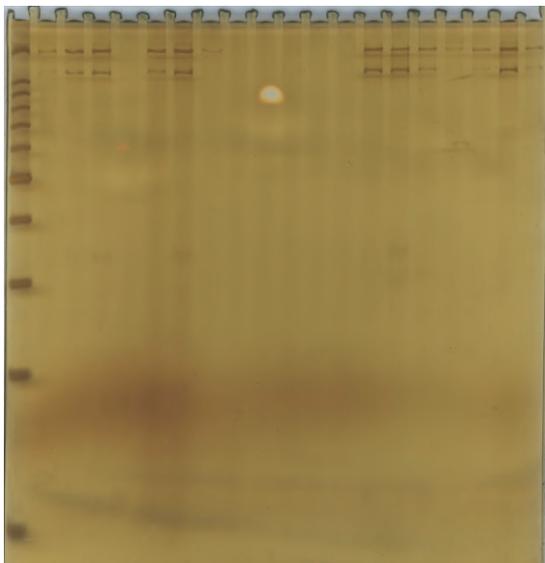


Figura 2. Gel de acrilamida al 6% de muestras de ADN obtenidas a partir de tejido foliar de 10 plantas de frijol Pinto Saltillo con el método modificado de Coelho et al. (2009), y amplificadas con los iniciadores F9 y B8, de ISTR.

BIBLIOGRAFÍA

Andrews, A. T. 1994. Electrophoresis of nucleic acids. In: *Essential Molecular Biology. A Practical Approach*. (Ed. Brown, T. A.). IRL Press, pp. 89-106.

Arif, I. A., H. A. Khan. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation* 32: 9-17.

Chan, T. W. V. 1992. Extraction of nucleic acids from clinical samples and cultured cells. In: *Diagnostic Molecular Pathology. A Practical Approach* (Eds. Herrington, C. S., J. O'D. McGee). IRL Press, Oxford, pp. 1-23.

Coelho, R. C., M. A. Faria, J. Rocha, A. Reis, M. B. P. P. Oliveira, E. Nunes. 2009. Assessing genetic variability in germplasm of *Phaseolus vulgaris* L. collected in Northern Portugal. *Scientia Horticulture* 122: 333-338.

Cota-Sánchez, J. H., K. Remrchuk, K. Ubayasena. 2006. Ready to use DNA extracted with CTAB method adapted for Herbarium specimens and mucilaginous plant tissue. *Plant Molecular Biology Reporter* 24: 161-167.

Guachambala-Cando, M. S., J. C. Rosas-Sotomayor. 2010. Caracterización

molecular de accesiones cultivadas y silvestres de frijol común de Honduras. *Agronomía Mesoamericana* 21: 51-61.

Herrmann, R. G. 1982. The preparation of circular DNA from plastids. In: *Methods in Chloroplast Molecular Biology* (Eds. Edelman, M., R. Hallick, N. H. Chua). Elsevier. Amsterdam, pp. 259-280.

Keb-Llanes, M., G. González, B. Chi-Manzanero, D. Infante. 2002. A rapid and simple method for small scale DNA extraction in Agavaceae and other tropical plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 20: 299a-299e.

Kim, C. S., C. H. Lee, J. S. Shin, Y. S. Chung, N. I. Hyung. 1997. A simple and rapid method for isolation of high quality genomic DNA from fruit trees and conifers using PVP. *Nucleic Acid Research* 25: 1085-1086.

Osorio, Z. M. A., D. Infante, S. Molina. 2006. Variación genética asexual en *Agave cocui* Trelease. *Boletín Nakari* 17:1-7.

Palmer, J.D. 1987. Chloroplast DNA evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation. *The American Naturalist* 130: 6-29.

Reyes, R. E., L. E. Padilla, O. Pérez, P. López. 2008. History, nature and bean's nutritious quality. *Revista Investigación Científica* 4: 1-21.

Rhode, W. 1996. Inverse sequence-tagged repeat (ISTR) analysis, a novel and universal PCR-based technique for genome analysis in the plant and animal kingdom. *Journal of Genetics and Breeding* 50: 249-261.

Rodiño, A. P., M. Santalla, A. M. González, A. M. de Ron, S. P. Singh. 2006. Novel genetic variation in common bean from the Iberian Peninsula. *Crop Science* 46: 2540-2546.

Rogers, S. O., A. J. Bendich. 1988. Extraction of DNA from plant tissues. In: *Plant Molecular Biology Manual* (Eds. Gelvin, S. B., R. A. Aschilperoo, D. P. S. Verma). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, pp. 1-10.

Sambrook J., E. F. Fritish, T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. Vol 1. Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA.

Scopes, K. R. 1994. *Protein Purification. Principles and Practice*. Springer. Los Angeles, USA.

CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES EN PIÑAS BENEFICIADAS DE AGAVE MEZCALERO EN LA REGIÓN DE NOMBRE DE DIOS Y EL MEZQUITAL

Gildardo Orea-Lara ¹, Vicente Hernández-Vargas ¹, Salomón Gómez-Ortiz ¹ Armando Cifuentes-Díaz de León ¹

¹ Biotecnología y alimentos, CIIDIR-IPN, Unidad Dgo. Sigma s/n Fracc. 20 de Noviembre II C. P. 34220 Durango, Dgo. México

RESUMEN

Se determinó la variación del peso de cada piña en una muestra de 513 seleccionadas en el Ejido El Caliche, así como, el contenido de azúcares reductores totales (ART) de una muestra de 17 piñas seleccionadas en cada localidad (Ejido El Caliche, Los Olagues y Los Ojitos) del municipio de Nombre de Dios. Se encontró que el 66.1 % de las piñas que son beneficiadas para producir mezcal oscilan entre 6.9 y 18.8 kg, mientras que piñas con pesos de 30.7 a 54.6 kg solo constituye el 28 % y finalmente las piñas de 66.4 a 233 kg solo representan el 5.9 %.

En cuanto el contenido de ART las plantas muestreadas en los diferentes sitios seleccionados, sí mostraron diferencias estadísticas para el contenido de azúcares reductores totales. La mayor concentración de azúcares reductores se obtuvo para las plantas desarrolladas en el ejido Los Olagues con un 22.5 % y para el Ejido Ojitos de Moreno con concentraciones de 22.29. Se pudo observar que varía desde un 8 % hasta 25 % y encontrando una media de 17.6 %. Se esperaba obtener mayor concentración de ART de piñas con peso de 100 a 233 kg, los análisis individuales mostraron un contenido de 13 a 16 %, mientras que piñas de 25 a 60 kg han presentado concentraciones de 25.9 y 24.8%, las cuales fueron separadas para su reproducción por técnicas de laboratorio.

PALABRAS CLAVE: cenizo, mezcal, *Agave durangensis*

ABSTRACT

The production of mezcal at southeast of Durango is conducted from the harvesting of wild agaves. Frequently, they have strong variation in total reducing sugars content, weight of head and time of maturation, these differences make to vary the volume and quality of mezcal from lot to determine the variation of weight of heads and their total contents of reducing sugars, three localities were selected: Ejidos El Caliche, Los Olagues y Los Ojitos from Nombre de Dios, Durango. The sample was obtained from 513 agaves (heads) from Ejido El Caliche, to determine the variation of weight (kg) of agaves used to produce mezcal. The determination of total reducing sugars was conducted on samples from 17 selected agaves in Ejidos El Caliche, Los Olagues y Los Ojitos. It was found that 66.1% of the agaves used to produce mezcal, oscillate between 6.9 and 18.8 kg, whereas agaves with weights of 30.7 to 54.6 kg only constitutes 28% and finally, agaves of 66.4 to 233 kg only represent the 5.9%. Statistical differences were found-related to reducing sugars content, in the heads sampled from different selected sites. The total reducing sugars concentration presented a variation 8 to 26%. The greatest reducing sugars concentration for the head harvested was obtained in Ejido Los Olagues with 22.5% and Ejido Ojitos de Moreno with concentrations of 22.3%. The average of total reducing sugars from three ejidos was 17.6%. In conclusion, the relation found between weight and total reducing sugars content was, agaves with weight of 70 to 233 kg, had total reducing sugars from 13 to 16%,

whereas agaves of 25 to 60 kg had a concentration from 8 to 26%.

KEYWORDS: cenizo, mezcal, *Agave durangensis*

INTRODUCCIÓN

En el estado de Durango existen diversas especies de maguey que pueden observarse de manera aislada en la Sierra Madre Occidental; Tamazula, Canelas, Topia y Santiago Papasquiario, hasta poblaciones de maguey más densas en las llanuras de la región oriental del estado; Durango, Mezquital, Nombre de Dios. Poanas, Súchil, y Vicente Guerrero (SAGDR, 2001).

El Agave mezcalero, es una planta poco estudiada y que durante muchos años ha sido utilizado para la obtención de mezcal, y a la fecha, la única fuente de extracción sigue siendo las poblaciones naturales. La región sureste de Durango, en donde tradicionalmente se extrae el maguey mezcalero (materia prima para la elaboración de mezcal) incluye los municipios de Durango, Mezquital, Nombre de Dios, Poanas, Súchil, y Vicente Guerrero (SAGDR, 2001). Los Agaves existentes en la región comprenden cuatro variedades: Castilla, Tepemete, Mascarillo y Cenizo (SAGDR, 2001), de las cuales el cenizo, clasificado como *Agave durangensis*, (Trujillo, 2002), es la variedad más explotada en la región.

Los magueyes que se benefician de las poblaciones naturales para la producción de mezcal con frecuencia presentan fuerte variación en cuanto al contenido de azúcares (8 a 25%), tamaño de piña (6 a 400 kg) y tiempo de maduración (4 a más de 16 años), que hace variar el volumen y la calidad de mezcal obtenido de lote a lote y dificulta su aprovechamiento desde el punto de vista industrial por la fuerte heterogeneidad del material. Las poblaciones naturales de maguey mezcalero se encuentran cada vez más retiradas de las vinatas, ocasionando un incremento en los costos de producción, por lo que es urgente el desarrollo de materiales de Agave sobresalientes en cuanto al contenido de

azúcares reductores, precocidad, potencial forrajero y fibras para el establecimiento de plantaciones comerciales.

La industria del mezcal que existe en otros estados tiene como norma que las piñas no deben contener menos del 8% de azúcares reductores totales. Actualmente en el Estado de Durango, se desconoce el contenido de azúcares que tienen las piñas obtenidas de las diferentes poblaciones de Agave natural, lo que dificulta la estandarización del proceso de obtención de mezcal.

La reproducción natural del maguey mezcalero que se tiene en las zonas productoras del estado, no es suficiente para garantizar los volúmenes de mezcal que requiere el mercado; por lo tanto, la continuidad del aprovechamiento de esta especie está en peligro y la sustentabilidad y conservación de este recurso natural esta en grave riesgo.

Para disminuir la presión sobre las poblaciones naturales, a partir del 1997, en Durango, se han realizado diversos intentos para el establecimiento de plantaciones comerciales, desafortunadamente la mayoría han fracasado como consecuencia de tratar de establecer plantaciones con especies de otras regiones (*Agave tequilana W.*) o mediante trasplante de plántulas de Agave a partir de semilla (**94 al 96 % de germinación**), por lo que presenta fuerte variabilidad en genotipos y fenotipos provocada por la hibridación natural entre las diferentes especies que existen entre las poblaciones. A la fecha la información disponible sobre el número de especies que integra el complejo Agave mezcalero es reducida, se desconoce la fenología de la planta, ya que existen plantas que maduran o aquiotan a partir de los cuatro años, mientras que otras tardan de 14 años o más.

El proceso de elaboración del mezcal (horneado, picado, fermentado, destilado y envasado) es rústico, lo que ocasiona grandes pérdidas de los azúcares de la materia prima y de alcohol durante la cocción, fermentación y destilación. Se estima un rendimiento de 16 a 24 kg de piña por litro de mezcal producido, mientras en

Jalisco se tienen rendimientos de 7 a 8 kg por litro de tequila. La tecnología empleada, la cantidad y el tipo de azúcares que contienen las piñas de agave son factores determinantes en la cantidad y calidad del mezcal producido, puesto que los azúcares son utilizados por las levaduras para la producción de etanol y de los compuestos que proveen las características sensoriales del producto. De ahí la importancia para el desarrollo del presente estudio de evaluar el contenido de azúcares reductores totales en piñas de las localidades productoras de maguey como fuente de información para el desarrollo de trabajos de fitomejoramiento que permita seleccionar y clonar variantes de mayor concentración de azúcares.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo, en la región sureste del estado de Durango, que se caracteriza por su tradicional producción de mezcal. De acuerdo con SAGDR, 2001 y el "Consejo Municipal de Productores de Maguey Mezcal de Nombre de Dios", el municipio de Nombre de Dios es uno de los principales productores de mezcal y donde se extrae la mayor cantidad piñas. En este municipio, se seleccionó tres ejidos (El Caliche, Los Olagues y Los Ojitos) representativos de las poblaciones de donde se extrae la materia prima. Del ejido El Caliche, se determinó el peso unitario de cada una de las piñas de un total de 16.65 T. En cada sitio de muestreo, se seleccionó 17 plantas al azar de *Agave mezcadero* las cuales fueron cosechadas. Después de la cosecha se tomó

datos de la piña (peso en verde, número de hojas diámetro ecuatorial, diámetro polar, porcentaje de azúcares reductores totales). Posteriormente las piñas seleccionadas se trasladaron a la planta productora de mezcal donde se tomó muestras de la piña en verde, se colocarán en bolsas de plástico y se guardaron en una hielera para ser transportadas al laboratorio. Los análisis químicos se realizaron en el laboratorio de control del CIIDIR Durango, campus Vicente Guerrero. La determinación de los azúcares reductores totales, se realizó mediante el método propuesto por Lane y Eynon y aprobado por la NOM- 070-SCFI-1994.

Los resultados obtenidos de las variables evaluadas de cada sitio muestreado, fueron analizados bajo un diseño experimental completamente al azar, utilizando el algoritmo SAS (Statistical Analysis System) (SAS Institute, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró fuerte variabilidad en fenotipo, peso de piña y contenido de azúcares reductores totales (ART), del *Agave mezcadero* que crece en las poblaciones naturales seleccionadas (ejidos El Caliche, Los Olagues y Los Ojitos), correspondientes al municipio de Nombre de Dios, Dgo). Esto se debe a que el principal medio de propagación es por semilla (94 al 96 % de germinación), lo que favorece la hibridación natural entre las diferentes especies que existen entre las poblaciones (Figura 1).



Figura 1. Diversidad de plantas de agave mezcadero que se utiliza en la producción de mezcal. La altura varía desde los 2.40, 1.60 y 1.30 m, Figuras 1a, 1b y 1c, respectivamente.

La variación del peso de la piña proveniente de las poblaciones naturales, es amplia, encontrando piñas desde los 6 kg hasta de 242 kg (Fig. 2) y algunas de 400 kg (Fig. 3) ó más (comunicación personal con productores de mezcal 2007).



Figura 2. Piñas con variación de peso de (a) 6 a 30 kg y (b) 218 kg.



Figura 3. Piña de 400 kg ejido El Venado

Para cuantificar la variación del peso de la piña proveniente de las poblaciones naturales, se procedió a pesar 513 piñas beneficiadas en el ejido El Caliche, obteniendo un peso total de 16.65 T. La variación promedio del peso de las piñas fue de un mínimo 6.9 y un máximo de 233 kg (Fig. 4).

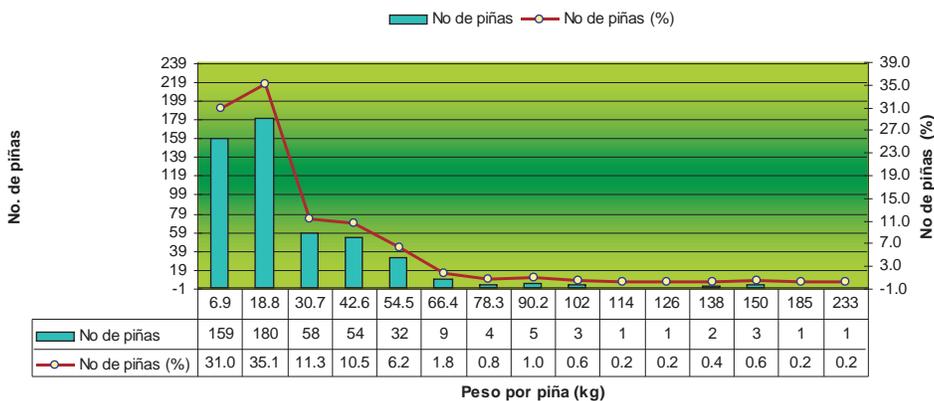


Figura 4. Variación de los pesos (kg) de 513 piñas.

En la Figura 4, puede observarse que el número de piñas con un peso promedio de 6.9 kg fue de 159 y representa el 31 % del total de las piñas pesadas, así mismo se observó que el número de piñas con un peso de 18.8 kg fue de 180 y representó el 35.1% del total. Las piñas con peso de 6.9 y 18.8 kg sumaron 339 y representaron el 66.1% del total de las piñas beneficiadas. Las piñas con peso de 30.7, 42.6, y 54.6 kg fueron 58, 54, y 32 respectivamente, representando el 11.3, 10.5, y 6.2 %, las cuales dan un total de 144 piñas y equivalen al 28 % del total. El resto de las piñas tuvieron un peso de 66.4, 78.3, 90.2, 102, 114, 126, 138, 150, 185, y 233 kg obteniendo un total de 30 piñas y solo representan el 1.8, 0.8, 1.0, 0.6, 0.2, 0.2, 0.4, 0.6, 0.2, y 0.2 %, las cuales constituyen el 5.9 % del total.

De acuerdo a los datos obtenidos en la figura 4 puede concluirse que el 66.1 % de las piñas que son beneficiadas para producir mezcal

oscilan entre 6.9 y 18.8 kg, mientras que piñas con pesos de 30.7 a 54.6 kg solo constituye el 28 % y finalmente las piñas de 66.4 a 233 kg solo representan el 5.9 %. Este comportamiento posiblemente se debe a que los productores de mezcal a través del tiempo han ido cosechando los Agaves mezcaleros de mayor tamaño y peso, dejando los mas pequeños, por lo que puede inferirse que el tiempo de recuperación de los Agaves de talla grande es mayor que el de los Agaves pequeños.

En cuanto al contenido de azúcares reductores totales (ART) se encontró que el contenido varía desde el 8% de ART hasta un 25% en las tres localidades muestreadas. El procedimiento de muestreo fue mediante la selección de piñas en campo y posteriormente enviadas a la planta procesadora de mezcal para la toma de muestra (Figura 5).



Figura 5. Selección en campo, corte y jimado de la piña.

Las piñas seleccionadas se fraccionaron en dos mitades para la obtención de muestras la cual fue enviada para su análisis de ART en el laboratorio (Figura 6).

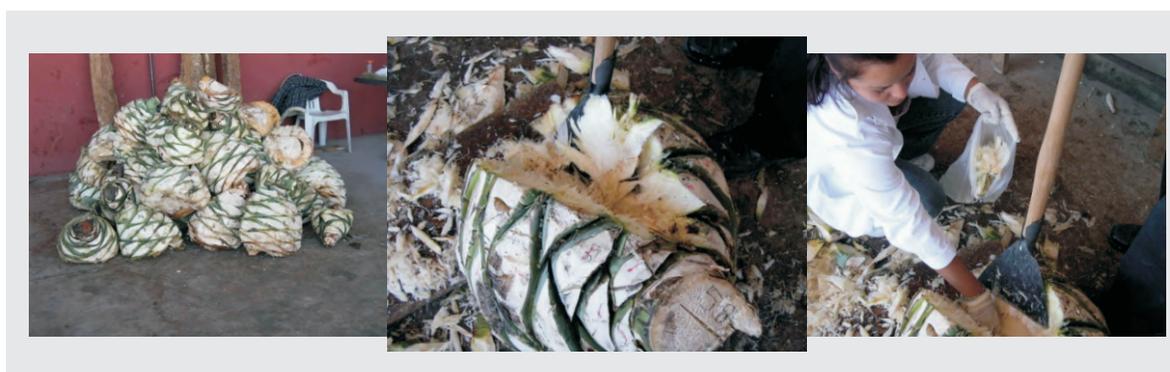


Figura 6. Piñas seleccionadas para la toma de datos, corte de piña y toma de muestra para el análisis de ART en laboratorio.

En laboratorio las muestras fueron preparadas para la determinación de ART, siguiendo la metodología de Lane Eynon, propuesta por la NOM-070-SCFI-1994 (Figura 7).

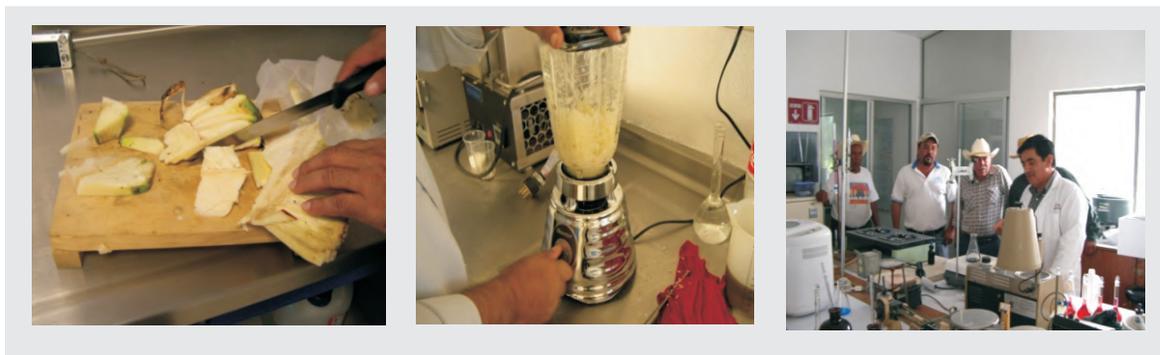


Figura 7. Preparación de las muestras, hidrólisis ácida y titulación para la determinación de ART en laboratorio.

En el Cuadro 1 se observa que las variables en estudio en el Agave mezcalero, mostró diferencias estadísticas solo para la variable ART, mientras que para las variables peso fresco de piña (PF), número de hojas (NH), diámetro ecuatorial (DE), diámetro polar (DP), no presentó significancia estadística.

Para la variable ART, se encontró que sí hay diferencia estadística entre las plantas de Agave mezcalero que crecen en los diferentes sitios de muestreo seleccionados (Cuadro 1). Se observa que los valores más altos obtenidos para la variable ART, fue de 22.55 y de 22.29 que corresponden a piñas obtenidas del Ejido Los

Olagues y el Ejido El Ojito Moreno respectivamente, mientras que el valor mas bajo 8.38 se encontró para piñas obtenidas también del Ejido El Ojito Moreno. Se observa que para el Ejido El Caliche se obtuvieron valores de ART de 19.69 y 18.69, en el Ejido Ojitos Moreno fue de 18.38 y para Los Olagues fue de 19.90 y de 18.45, no mostrando diferencias estadísticas para las piñas muestreadas para cada localidad. Esta información obtenida para el agave mezcalero, es importante debido a que solo se disponía de datos obtenidos en otros estados, como Zacatecas y Jalisco donde se reportaban contenidos de ART de 12 a 14 %.

Cuadro 1. . Diferencias en el contenido de azúcares reductores totales de la planta de Agave mezcalero, en las localidades de muestreo.

Localidad	Fecha de muestreo	Peso (kg)	Número de hojas	Diámetr o polar	Diámetr o ecuatorial	ART (%)
Ej. El Caliche	15/10/2007	50.06 a	46.00 ab	47.75 a	143.13 a	19.69 ab
	20/10/2007	20.86 a	59.60 a	51.80 a	144.80 a	15.15 b
	25/10/2007	43.50 a	36.33 ab	48.00 a	148.67 a	18.69 ab
Ej. Ojitos moreno	01/11/2007	54.00 a	50.50 ab	58.50 a	143.00 a	8.38 c
	10/11/2007	50.26 a	49.42 ab	46.67 a	127.75 a	18.38 ab
	15/11/2007	42.00 a	39.83 ab	50.50 a	139.17 a	22.29 a
Ej. Los Olagues	05/12/2007	25.50 a	41.00 ab	53.50 a	116.00 a	18.45 ab
	10/12/2007	27.89 a	30.89 b	61.78 a	107.67 a	19.90 ab
	15/12/2007	30.38 a	37.00 ab	51.25 a	133.25 a	22.55 a
DMS		4.46	4.46	4.46	4.46	4.46

† Valores en las columnas con letra diferente, son estadísticamente diferentes con $\alpha = 0.05$ ART = azúcares reductores totales

Ej. = Ejido

Wesche (2000), encontró que determinadas plantas, entre ellas el agave tiene como reserva de carbohidratos polímeros de fructuosa (fructosanos), en lugar de glucosa, tales como la inulina que son más pequeños que las moléculas de almidón y más solubles en agua. La inulina es un polímero lineal y está compuesta de cadenas de 25 a 35 residuos de fructuosa unidas por enlaces glucosídicos $\beta(2-1)$ y termina con una molécula de sacarosa. Las inulinas se encuentran más frecuentemente almacenadas en raíces de alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus* L.), y dalia (*Dalia pinnata* Cab.), raíces de diente de león (*Chicorium intybus* L.), son ricos en inulina. El agave azul es la variedad que contienen la mayor variedad de inulina (del 20 al 24 %), comparándola con otras variedades como Carpintero, Pata de mula, Bermejo y otras, las cuales muestran un contenido del 14.3 al 19.8%. El análisis de azúcares en las piñas de agave es importante porque el alcohol obtenido depende de la cantidad de azúcares reductores, de ahí la importancia del contenido de azúcares reductores totales (ART) que están presentes en el agave, los cuales varían de un 20 al 30% en peso. Para el caso particular de *Agave tequilana* Weber., cuando el contenido de azúcares reductores es igual o inferior al 20% es considerado de baja calidad y si presenta entre el 25 y 30% de buena calidad (Granados 1993, Téllez 1998). Esta norma no es aplicable para agaves destinados a la producción de mezcal.

CONCLUSIONES:

Las plantas muestreadas en los diferentes sitios seleccionados, sí mostraron diferencias estadísticas para el contenido de azúcares reductores totales.

La mayor concentración de azúcares reductores se obtuvo para las plantas desarrolladas en el ejido Los Olagues con un 22.5 % y para el Ejido Ojitos de Moreno con concentraciones de 22.29.

Aún cuando la mayor acumulación de azúcares reductores totales fue para las plantas del ejido Los Olagues y Ejido Ojitos de Moreno, debe

considerarse que los productores necesitan seleccionar genotipos precoces (de 4 a 7 años) con altos contenidos de azúcares reductores (20 al 30%)

Dentro de las variantes identificadas en cuanto al contenido de ART se pudo observar que varía desde un 8 % hasta 25 % y encontrando una media de 17.6%.

Se esperaba obtener mayor concentración de ART de piñas con peso de 100 a 400 kg, los análisis individuales mostraron un contenido de 13 a 16 %, mientras que piñas de 25 a 60 kg han presentado concentraciones de 25.9 y 24.8, las cuales fueron separadas para su reproducción por técnicas de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA.

- Granados, S. D. 1993. Los agaves en México. Universidad Autónoma de Chapingo. México pp. 112 y 113.
- SAGDR. 2001. Tríptico, "Cultivo del maguey" ¡Una opción para obtener ingresos y corregir efectos de la erosión!. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Gobierno del estado de Durango.
- Téllez, M. P. 1998. El conocimiento, una etapa importante de la producción del tequila. *Bebidas mexicanas* 7(1) 19-20.
- Trujillo R. 2002. Aviso de aprovechamiento de maguey mezcalero en el Ejido El Venado, del Municipio de Nombre de Dios, Dgo. Consultor Forestal E-Mail ucodefo@logicnet.com.mx
- Wesche, E. P. 2000. Química de alimentos de origen vegetal. Universidad de las Américas Puebla, consulta en Internet: <http://webserver.pue.udlap.mx/pwesche/3.4.html>.

COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE LA MEZCLA DE MASA MADRE Y DIRECTA DE HARINAS FUERTES

Salomón Gómez-Ortiz ^{1*}, Gildardo Orea-Lara ¹, Vicente Hernández-Vargas ¹, David Gómez-Ruíz ¹

¹(Biotecnología y alimentos, CIIDIR-IPN, Unidad Dgo) Sigma s/n Fracc. 20 de noviembre II C. P. 34220 Durango, Dgo. México.

RESUMEN

Se evaluó la estabilidad y producción de CO₂ de masas panarias utilizando diferentes porcentajes de masa madre y directa. Harina utilizada Turbo remix 40, de buena calidad panadera.

Tiempo de fermentación de la masa madre: 3 h, 6 h, 9 h. Porcentaje utilizado: 100%, 75%, 50%, 25, 0%, el complemento fue de masa directa.

Los reofermentogramas se obtuvieron en el reofermentómetro F2. A cada masa se les evaluó: altura máxima (Hm), altura segunda fermentación (h), tiempo, máximo volumen, altura de pan aproximadamente (T1), tiempo hasta el final de la prueba (T2), altura máxima del desprendimiento gaseoso (H'm), tiempo del máximo desprendimiento gaseoso (T'1), tiempo donde se separan las curvas (Tx), volumen total de CO₂ (Vt), perdido (Vp), retenido (Vr) y coeficiente de retención (Cr).

La mejor respuesta reológica de la masa panaria se obtuvo cuando se utilizó la mezcla, 25% - 75% de masa madre - masa directa respectivamente. Con un coeficiente de retención de CO₂ de 96.8% y volumen de masa considerado como muy bueno y de buena estabilidad.

Tiempo de fermentación de masa madre seis horas, a temperatura de 25 °C, humedad relativa de 70%.

PALABRAS CLAVE: harina, reofermentograma, reología.

ABSTRACT

Rheology studies of baking dough are important to commerce of wheat, the quality of flour and its transformation to bread. Bakers can standardize the phases of baking process, it is necessary to have the knowledge about stability of dough, CO₂ retention capacity and volume that dough can develop, these properties are directly related with quality of bread. Based on the previous reasons, in this work the stability and production of CO₂ from baking dough using different percentages of mother dough and direct dough were evaluated. The flour used in this work was Turbo remix 40 of good quality baking. Times of fermentation of mother dough were 3, 6 and 9 hs. The percentages used were 100, 75, 50, 25 and zero, the complement was direct dough; the developing dough and its CO₂ production were evaluated to each sample. The rheofermentograms were obtained in the Rheofermentometer F2. To every dough was evaluated: maximum height (Hm), height of second fermentation (h), time, maximum volume, height of bread (T1), time to complete the test (T2), maximum height of gaseous detachment (H'm), maximum time of gaseous detachment (T'1), time where the curves are separated ((Tx), total volume of CO₂ (Vt), lost volume (Vp), retained volume (Vr), and coefficient of retention (Cr). An experimental design was utilized completely at random under a factorial arrangement. The data obtained were analyzed by means of analysis of variance, with p = 0.05 and comparison of averages by the test of Tukey. With a CO₂ coefficient of retention of 96.8%, volume of dough was considered like very good and good stability.

KEYWORDS: *flour, rheofermentograms, rheology.*

INTRODUCCIÓN

Cuando se habla hoy de masa madre ya no se piensa en la antigua masa de origen natural, es decir aquella que se obtiene de la mezcla de harina y agua, en donde la fermentación se inicia por la actividad de levaduras silvestres que están en la harina o son acarreadas por el aire. Debido a la falta de control en la fermentación, se obtiene masa agria, parte de ésta, con más harina y agua se usan para el leudado del total de la masa. Actualmente este procedimiento se utiliza poco. La masa madre que se utiliza actualmente en algunas panaderías tecnificadas, es la obtenida de formulaciones equilibradas con controles en la adición de levadura comercial, amasado, temperatura y tiempo de fermentación. En la micro y pequeña empresa se sigue con métodos tradicionales en la preparación de masa madre.

Se llama masa madre, esponja o polish a la mezcla de harina de trigo con agua, sal y levadura, amasada y fermentada, ésta se adiciona a la masa directa formada por harina, agua y los demás ingredientes, amasándose hasta obtener la consistencia deseada. En la mayoría de las panaderías guardan los sobrantes de las diferentes formulaciones, las cuales utilizan al día siguiente como masa madre, esto no es correcto ya que los sobrantes han perdido sus características reológicas y no son recuperables, además no tienen control en la cantidad de ingredientes y por ser masas sobre fermentadas en las cuales las características reológicas han cambiado; el uso de éstas en lugar de beneficiar afectan las propiedades viscoelásticas de la nueva masa. El uso de masa madre fermentada adecuadamente y en la cantidad correcta, influye en la vida de anaquel del pan, manteniéndolo más fresco por más tiempo, con mejor sabor, olor, color y textura.

Las levaduras en panificación tienen los siguientes efectos:

a). Transformación de la masa, pasando de ser

un cuerpo poco activo a uno fermentativo, donde se desarrollan las reacciones químicas y fisicoquímicas más activas.

b). Desarrollo de aromas típicos de panificación mediante la producción de alcoholes y otros compuestos aromáticos.

c). La función más importante es la acción de subida de la masa, debido a la producción de CO₂ y alcohol etílico en forma de etanol.

Por la acción de las levaduras se presenta una reducción de Ph, debido en parte, al CO₂ producido que se disuelve en el agua de la masa. La levadura es una materia prima importante, formada por células microscópicas, que tienen la función de consumir azúcares elementales para producir CO₂ y alcohol, mediante la metabolización. La temperatura óptima de desarrollo de *Saccharomyces cerevisiae*, es de 28°C, a la cual produce la mayor cantidad de gas, a -30°C, muere por frío y por calor a los 55°C, teniendo una paralización de actividad a los 4°C. Durante la fermentación, la levadura consume muy rápido los azúcares libres (glucosa, fructosa) existentes en la harina, este proceso comienza durante el amasado de los ingredientes. Después hay un consumo lento de azúcares que se han producido por la degradación del almidón debido a la actividad enzimática, es un proceso que tarda bastante tiempo. La fase final de la fermentación se lleva a cabo durante el horneado antes de que la masa adquiera la temperatura de 55°C.

Se ha observado que el Ph tiene repercusión sobre el curso de la fermentación, la máxima formación de gas se obtiene para valores de 4 a 5.5 de Ph.

El Ph de una masa madre, nunca debe ser <3.4, debido a que en estas circunstancias se está acelerando la alteración de microorganismos butíricos dando un estado de putrefacción indeseado, de la masa madre. Durante la fermentación todas las vías fermentativas están equilibradas si su Ph es de 5 a 5.5 considerándose como el Ph óptimo de 5.4, donde existe el mayor desarrollo fermentativo y máxima producción de CO₂. Un efecto negativo en la masa es la falta de acidez con Ph de 6 se

tiene mayor riesgo de la aparición de *Bacillus subtilis*, que se desarrolla en medios acuosos como es el caso de la masa. Con Ph mayores de 6, temperaturas de horneado menores a 100°C y condiciones favorables pueden desarrollarse las esporas de *Bacillus mesentericus* en el pan cocido (Frazier, 2003).

Los valores mencionados nos indican que al hacer la masa madre, según sea su acidez se añada a la masa normal la cantidad necesaria para obtener la acidez deseada en función del producto a elaborar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materias primas.

Harina comercial Turbo Remix 40 (HTR40).

Levadura seca activa instantánea marca Mauripan, sal marca Ada y agua potable.

Métodos y técnicas.

Análisis fisicoquímicos establecidos en el AACC,

2001.

Humedad. Método 44-15A.

Cenizas. Método 08-01.

Proteínas. Método Macrokjeldahl 46-10.

Gluten. Método 38-10.

Determinaciones reológicas. Método 54-30A.

Falling Number. Método 56-81B.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar bajo un arreglo factorial, se analizaron los cambios reológicos que presenta la masa madre fermentada durante 3, 6 y 9 h; y la mezcla masa madre-masa directa. En la masa sin fermentar se evaluaron los parámetros W, P, L y P/L.

Los efectos o respuestas que se evaluaron fueron: Hm, h, T1, T2, H'm, Tx, T'1, Vt, Vp, Vr y Cr. Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza, con p 0.05 y comparación de medias por la prueba de Tukey. Se utilizó el paquete estadístico SAS, Versión 9.0 (SAS Institute Inc., 2004), (Cuadro 2).

RESULTADOS

Análisis fisicoquímico.

Los datos obtenidos del análisis fisicoquímico de las harinas, se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Análisis fisicoquímico de la harina utilizada.

Determinación	HTR40
Gluten* (%)	11.05 ± 0.03
Humedad (%)	12.00 ± 0.01
Cenizas* (%)	0.55 ± 0.01
Proteína f=5.7* (%)	12.51 ± 0.02
W (10 ⁻⁴ julios)	231 ± 0.90
P (mm)	79 ± 0.85
L (mm)	83 ± 0.75
G	20 ± 0.75
P/L	0.9 ± 0.10
FN (s)	350 ± 3.00

HTR40, harina Turbo Remix 40; *Base seca.

El gluten constituido por gliadinas y gluteninas forma una maya o red capaz de retener el anhídrido carbónico liberado durante la fermentación; es un indicador de la cantidad de proteínas y responsable de la calidad de las mismas. Considerando los valores de la cantidad de gluten y proteína de la harina HTR40 es de calidad panificable (Cuadro 1). Es tenaz (P>60 mm), de baja extensibilidad (L<90 mm), con relación de P/L=0.9 considerada como de gran fuerza, el llamado grado de hinchamiento (volumen de la masa) es de 20 lo que indica una aptitud correcta para dar un pan bien desarrollado.

Las cenizas dan idea muy aproximada de la cantidad de extracción de harina, ya que existen factores que influyen en la cantidad de cenizas tales como la variedad de trigo, factores ambientales y aditivos añadidos. Con base en los datos de cenizas (Cuadro 1), la HRT40 es de 69% de extracción según la escala de Mohs.

Los valores de humedad (Cuadro 1) se encuentran dentro de lo especificado en la Norma Oficial Mexicana.

Analizando los datos de FN Cuadro 1, la harina HTR40 presenta actividad amilásica débil, de usarse en panificación sin adicionar enzimas se tiene el riesgo de obtener un pan seco, compacto de miga con gran densidad cerrada,

con volumen reducido (Quaglia, 1991), para obtener el volumen máximo que puede desarrollar la HTR40, es necesario adicionar α -amilasa hasta lograr tener un FN de 280. En las panaderías que existen en el estado de Durango se utilizan harinas con FN de 280 a 310, obteniéndose panes de buen desarrollo y miga suave (Gómez, 2006), en la literatura Española se menciona que el FN adecuado es de 250 con base en sus harinas (Calaveras, 1996). En el Cuadro 2, se presentan los resultados de los reofermentogramas y el análisis estadístico de los mismos obtenidos de las diferentes muestras de masa madre fermentadas durante tres tiempos y combinados con masa directa.

Cuadro 2. Análisis de medias de los parámetros evaluados con el reofermentómetro.

Tra.	Variables obtenidas de los reofermentogramas										
	Hm (mm)	h (mm)	T1 (min)	T2 (min)	H'm (mm)	T'1 (min)	Tx (min)	Vt (ml)	Vp (ml)	Vr (ml)	Cr (%)
M1 T ₁	57.2d	43.3ab c	106.0ef	138.6d	76.4c def	105b	125b cd	1889bc d	26.3c de	1862bc	98.6a bc
M2 T ₁	56.5d	48.2ab c	123.3c de	167.3ab	71.7ef	147a	150a b	1653e	13.3d e	1639cd	99.2a bc
M3 T ₁	63.8bc	55.0ab	135.0b c	178.3a	76.7cd ef	147a	151a b	1731d e	0e	1734cd	100a
M4 T ₁	67.5ab	61.6a	130.3b cd	0.0e	84.3bc	87bc d	103d	2061a b	86b	1974ab	95.6d
M5 T ₁	60.3cd	57.9ab	148.3b	0.0e	80.8cd	72bc d	64e	1988bc	435a	1552de	78.2e
M1 T ₂	62.9bc	40.3bc	106.6ef	146.3bc d	69.4f	49de	0f	1281f	0e	1281f	100a
M2 T ₂	63.6bc	46.3ab c	116.0c def	141.3cd	73.5d ef	81bc d	141a bc	1767d e	9e	1758bc d	99.6a b
M3 T ₂	67.1ab	50.9ab c	115.0d ef	150.0bc d	72.6ef	99bc	163a	1831cd e	0.3e	1831bc	100a
M4 T ₂	70.6a	58.9ab	108.0ef	167.3ab	92ab	75bc d	112c d	2252a	72bc	2179a	96.8c d
M5 T ₂	60.3cd	57.9ab	148.3b	0.0e	80.8cd	72bc d	64e	1988bc	435a	1552de	78.2e
M1 T ₃	35.7e	35.6c	185.3a	0.0e	30.0g	15e	0f	590g	0e	590g	100a
M2 T ₃	65.9ab	34.4c	106.0ef	150.3bc d	70.4f	63cd	0f	1319f	0e	1319ef	100a
M3 T ₃	65.2ab c	42.0bc	110.0ef	143.0cd	79.3cd e	87bc d	0f	1795cd e	2e	1793bc	99.9a

M4 T ₃	70.4a	57.1ab	99.3f	163.3ab c	93.1a	69bc d	94ed	2251a	64.3bc d	2186a	97.2bc d
M5 T ₃	60.3cd	57.9ab	148.3b	0.0e	80.8cd	72bc d	64e	1988bc	435a	1552de	78.2e
DM S	5.42	18.5	19.5	22.2	8.0	40.9	36.0	206.3	53.1	233.9	2.5

Promedios con la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey p 0.05). M1=100% Mm, 0% md; M2=75% Mm, 25% md; M3=50% Mm, 50% md; M4=25% Mm, 75% md; M5=0% Mm, 100% md. T₁=3 h; T₂=6 h; T₃=9 h. Mm= masa madre; md=masa directa.

Análisis estadístico de los resultados.

Del análisis estadístico de los datos de la masa madre fermentada durante 3, 6 y 9 h mezclada en diferentes porcentajes con masa directa se puede afirmar que existe efecto altamente significativo en los valores de Hm, h, T1, T2, H´m, T´1Tx, Vt, Vp, Vr y Cr.

Al analizar los valores de las medias, se observa que existen diferencias significativas en los parámetros evaluados debido al efecto del tiempo de fermentación y concentración de masa madre y masa directa utilizada, a excepción de Vp para los tres tiempos de fermentación a las concentraciones de 100, 75 y 50% de masa madre utilizada.

La masa fermentada durante tres horas y mezclada con masa directa obtiene su máxima altura de 67.5 mm a la concentración de 25% de masa madre y 75% de masa directa; la Hm esta relacionada directamente con el volumen del pan, la estabilidad de la masa es muy buena ya que T2 no aparece registrada en el reofermentograma. Se obtiene el mayor volumen de masa con 2061 ml de CO₂ y coeficiente de retención de 95.6% considerado como muy bueno Cuadro 2, (Calaveras, 1996).

A las tres horas de fermentada la masa madre, existen coeficientes de retención de 98.6 a 99.2%, que podrían considerarse como mejores al de 95.6%, sin embargo a estos coeficientes se obtienen menores alturas de masa y Vt menores, siendo el Vr mayor al coeficiente de retención de 96.5%. La masa fermentada durante seis horas mezclada con masa directa obtiene su mayor altura Hm de 70.6 mm a la concentración

de 25% de masa madre y 75% de masa directa. La tolerancia de la masa es buena, T2 aparece a los 167.3 min durante la obtención del reofermentograma, después de este tiempo la masa pierde paulatinamente sus características reológicas. Se obtiene el mejor volumen de masa (Vt) con un coeficiente de retención de 96.8% considerado como muy bueno Cuadro 2, (Calaveras, 1996). A las seis horas de fermentada la masa madre, existen coeficientes de retención de 99.6 a 100%, que podrían considerarse como mejores al de 96.8%, sin embargo a estos coeficientes se obtiene menor altura de masa y Vr menores, siendo el Vr mayor al coeficiente de retención de 96.8% por lo que se considera que la mejor mezcla para obtener un pan de buen volumen y suficiente altura es la de 25% de masa madre y 75% de masa directa.

La masa obtenida durante nueve horas de fermentación, mezclada con masa directa alcanza su máxima altura de 70.4 mm a la concentración de 25% de masa madre y 75% de masa directa.

Con velocidad de desarrollo muy buena. Se obtiene un volumen de masa de 2251 ml con un coeficiente de retención de 97.2% considerado como muy bueno. La tolerancia de la masa es buena, T2 aparece a los 163.3 min durante la obtención del reofermentograma, después de este tiempo la masa pierde paulatinamente sus características viscoelásticas, Cuadro 2, (Calaveras, 1996). Al igual que en los tiempos de tres y seis horas de fermentada la masa madre mezclada con masa directa, existen coeficientes de retención de 99.9 y 100%, que podrían

considerarse mejores que el de 97.2%, sin embargo cuando se tiene mayor retención de CO₂, no hay pérdida de volumen, la altura de la masa es menor y por consecuencia presenta menor volumen Cuadro 2. Con base en lo anterior la mejor mezcla es la de 25% de masa madre y 75% de masa directa.

En este trabajo se encontró que para los tres tiempos de fermentada la masa la mejor concentración de ésta fue la misma, por lo que consideramos algunos otros aspectos para definir cual es el tiempo más adecuado de fermentación para obtener una masa madre.

Los valores de Hm, H'm, Vt, Cr, Vp y Vr, son iguales para la concentración de 25% de masa madre y el 75% de masa directa a los tiempos de seis y nueve horas de fermentado, y siendo estos los parámetros más importantes de la evaluación de una masa podemos afirmar que cualquier masa de seis y nueve horas de fermentado puede darnos los mejores resultados en la elaboración de pan, sin embargo a mayor tiempo de fermentado existe menor tiempo de tolerancia de manejo de la masa en el proceso. Además se tiene mayor costo de producción por lo que es mejor utilizar la masa madre que ha sido fermentada durante seis horas en la concentración de 25%.

CONCLUSIONES

Cualquier masa que se fermente como mínimo tres horas y que sea utilizada como masa madre mejora sus características reológicas.

La porosidad de la miga de un pan se mejora cuando se utiliza una mezcla de masa madre-masa directa.

Es recomendable utilizar masas madre en los procesos de panificación que requieran de masas fermentadas, mejora la estructura de la miga, es más suave, de mejor sabor, olor, textura, color y vida de anaquel.

Las características viscoelásticas de la masa se mejoran cuando se utilizan mezclas de masa madre-masa directa, sin embargo si se utiliza masa madre en un 100% sus características panaderas se pierden conforme aumenta el tiempo de fermentación.

El tiempo de fermentación más adecuado para obtener una masa madre es de seis horas.

La mezcla masa madre-masa directa más adecuada es la de 25%-75% respectivamente.

Una producción excesiva y prematura de CO₂ debilita la estructura de la masa, disminuyendo el coeficiente de retención hasta ser considerado como débil.

La masa madre fermentada adecuadamente incrementa la capacidad de retención de CO₂.

Una masa pasada de fermentación reduce su capacidad de retención de CO₂ y se pierden características de sabor, olor, color y textura.

BIBLIOGRAFÍA

AACC 2001. (American Association of Cereal Chemist) Approved Method of the association. 10th. Vol. II. Ed. St. Paul Minnesota, USA.

Calavera, J. 1996. *Tratado de Panificación y Bollería* Ed. Mundi-Prensa (Pág. 78-82) España.

Gómez, O. S. 2006. Informe técnico Cambios reológicos en una masa panaria tipo bizcocho durante el tiempo de reposo, CIIDIR-IPN U. Durango, México.

Quaglia, G. 1991. *Ciencia y tecnología de la panificación*. 2da Ed. Acriba, España.

CAMBIOS REOLÓGICOS EN UNA MASA PANARIA POR LA ADICIÓN DE AVENA

Salomón Gómez-Ortiz ^{1*}, Gildardo Orea-Lara ¹, Vicente Hernández-Vargas ¹, Andrés David Gómez-Ruiz ¹

¹Biotecnología y alimentos, CIIDIR IPN Dgo., Sigma 119, Fracc. 20 de noviembre II, CP 34220, Durango Dgo., México.

*Email: salgo5@hotmail.com

RESUMEN

La disponibilidad de productos saludables es la prioridad de todo empresario, debido a la estrecha relación que existe entre salud y alimentos. La Asociación Americana del Cáncer, estima que el 70% de los casos de cáncer son debidos a la mala alimentación. Además las principales enfermedades que causan la mayoría de las muertes en el mundo son las cardiovasculares, el cáncer y la diabetes. Otros de los problemas de los mexicanos son la obesidad y el incremento de la población mayor de 65 años.

Como consecuencia los productores de la micro y mediana industria de la panadería buscan el desarrollo de productos saludables denominados funcionales, que ayuden a prevenir o atenuar los efectos de las enfermedades. Para ello es necesario ajustar las fórmulas de elaboración de las masas panarias, con concentraciones adecuadas de grasa, azúcar, prebióticos, probióticos, antioxidantes e ingredientes que incrementen la calidad nutricia y organoléptica del pan.

En este trabajo se analizó el efecto que tiene la adición de harina de avena en la reología de las masas panarias, para elaborar pan bizcocho.

Con base en el análisis estadístico se puede afirmar que es viable utilizar mezclas de harinas trigo-avena de 94-6% respectivamente, sin que las variaciones en los parámetros de fuerza tenacidad y extensibilidad afecten de manera notoria las características organolépticas del producto.

Cantidades superiores a 6%, no son recomendables para masas bizcocho, debido a que afectan las propiedades viscoelásticas de la masa.

PALABRAS CLAVE: reología, alveógrafo, harina

ABSTRACT

The healthful product availability is the priority of all industrialists, due to the close relation that exists between health and foods. The American Association of the Cancer, esteem that 70% of the cases of cancer must to the bad feeding. In addition the main diseases that cause the majority of the deaths in the world are the cardiovascular, the cancer and the diabetes. Other of the problems of the Mexicans is the obesity and the increment of the population over 65 years.

As consequence the producers of the micro and medium industry of the bakery seek the healthful development of products called functional, that they help to prevent or minimize the effects of the illnesses. For it is necessary to adjust you formulate them of elaboration of the masses panarias, with adequate concentrations of grease, sugar, prebiotics, probiotics, antioxidants and ingredients that increase the quality nutritional and organoleptic of the bread.

In this work the effect was analyzed that has the oat flour addition in the rheological of the masses of bread, to elaborate bread biscuit.

Based on the statistical analysis can be affirmed that it is viable to utilize wheat-oat flours mixtures of 94-6% respectively, without the variations in the parameters of strength tenacity and extensibility affect in a notorious way the organoleptics characteristic of the product. Quantities over 6% are not recommendable for masses biscuit, due to that affect the properties viscoelásticas of the mass.

KEYWORDS: reology, alveografo, flour

INTRODUCCIÓN

Durante siglos, los cereales el trigo, el arroz, el maíz, la avena y el centeno han sido alimentos fundamentales de la dieta. Se han consumido en todo el mundo en una gran variedad de productos de acuerdo a cada cultura, civilización y zona geográfica, se ha adaptado el consume de uno o varios cereales específicos creando toda una *culturagastronómica*.

El pan ha sido uno de los alimentos básicos de la humanidad; es de los alimentos con gran porvenir sobre todo en los países en desarrollo tanto por su utilización gastronómica como por las grandes posibilidades que se tienen para enriquecer la extensa variedad de panes con otros alimentos o nutrimentos, para satisfacer las necesidades de la población. Sin embargo, en las sociedades desarrolladas se ha producido una disminución en su consumo provocado principalmente por la idea *errónea* de que son alimentos que engordan, la población adulta de estas civilizaciones actualmente está creando un mercado demandante de productos funcionales y el pan puede convertirse en uno de estos productos si se le adicionan ingredientes que lo complementen.

Actualmente los consumidores han comenzado a ver la dieta equilibrada como parte esencial para la prevención de enfermedades crónicas, de esta manera se presenta un fenómeno denominado de autocuidado lo que motiva a decidir comprar alimentos saludables, con bajo contenido de grasas saturadas, sin colesterol, bajo contenido de sal, con aporte de fibra, de buen sabor, color, olor, textura, con control en el contenido de calorías, de alto valor nutricional de buena apariencia al menor costo posible.

El pan es un alimento que con el mínimo esfuerzo digestivo proporciona gran cantidad de elementos nutritivos y energéticos; es deficiente en lisina y por norma a la harina refinada o blanca se le está adicionando hierro calcio, tiamina y niacina. Actualmente la mayoría de las personas prefieren el pan blanco, pero el pan moreno o integral es más nutritivo, contiene más proteínas, grasas, hierro, tiamina, riboflavina y niacina. El pan integral tiene una fibra más indigesta parcialmente fermentable

por la acción de las bacterias del colon. El efecto sobre la absorción de macronutrientes es mínimo en comparación con el de las fibras solubles o muy fermentables; en cambio reduce de manera importante la absorción de cationes divalentes (Cherbut, 2002). Considerando lo anterior a la harina blanca y a la integral con extracción de 95% se les puede adicionar otro cereal que contenga fibras dietéticas solubles como es el caso de la avena que es uno de los cereales más completos, por sus cualidades energéticas y nutricias tiene buen equilibrio en el contenido de sus seis aminoácidos esenciales comparado con lo reportado por la FAO; contiene 4.2 g de lisina/100 de proteína, más del doble que el trigo, por lo que al mezclarse con este último se mejora su calidad nutricional (García, *et al.*, 2007).

La avena es el cereal con mayor porcentaje de grasa vegetal, el 65 % es de ácidos grasos insaturados y el 35% de ácido linoleico. Sus hidratos de carbono complejos son de absorción lenta, de fácil asimilación, proporcionan energía durante más tiempo evitando la sensación de fatiga, contiene vitaminas minerales y oligoelementos, B1, B2, E, PP, D, niacina, caroteno, azufre, calcio, fósforo, potasio, sodio, hierro, magnesio, cobre y zinc y una cantidad considerable de fibra soluble e insoluble.

En 1997 la FDA describió sobre la avena y la fibra soluble; en esta declaración se dice: que la fibra **soluble** se distingue de la insoluble por su capacidad de absorber agua en el intestino, para crear una masa viscosa a partir de los alimentos ingeridos, atrapa o retiene ácidos biliares y colesterol evitando su absorción en el intestino delgado. Ayuda a disminuir la presión alta. Investigaciones científicas sostienen que el consumo diario, de aproximadamente tres gramos de fibra soluble de productos de avena pueden reducir de manera indirecta el colesterol total en sangre, con lo que se previenen problemas cardiovasculares que representan la primera causa de mortalidad mundial junto con la diabetes. Las enzimas de la flora bacteriana benéfica fermentan parcialmente la fibra soluble produciendo hidrógeno, dióxido de carbono, metano y ácidos

grasos de cadena corta, principalmente butírico (Brown, *et al.*, 1999; Prosky, *et al.*, 1988), el pH intraluminal baja, se mejora el aprovechamiento de las vitaminas del complejo B.

Los betaglucanos, presentes en la avena, forman una película fina que protege la pared intestinal, combate la pirosis, gastritis, úlcera, estreñimiento, diarreas, gases, disfunciones hepáticas y biliares.

En la panadería se usa la avena generalmente en forma hojuelas sobre el pan o incluida en la masa en las galletas de avena, con base en sus cualidades nutricias es de interés para el panadero usarla como harina en la gama de panes que se elaboran, con lo cual obtendríamos un mayor número de panes funcionales. Este trabajo se hizo con la finalidad de saber cuál es la cantidad de harina de avena que se puede adicionar a la masa panaria sin afectar considerablemente sus propiedades viscoelásticas.

METODOLOGÍA

Materias primas.

Harina comercial marca Turbo Remix 40 (HTR40), sal Ada, agua potable, avena.

Métodos y técnicas. Análisis fisicoquímico, AACC, 2001, (Cuadro 1). Humedad. 44-15A. Cenizas. 08-01. Proteínas. 46-10. Gluten. 38-10. Determinaciones reológicas. 54-30A.

Diseño de experimentos.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar bajo un arreglo factorial. Se analizaron los cambios que presentan la fuerza (W), tenacidad (P), extensibilidad (L), grado de hinchamiento (G) y la relación tenacidad/extensibilidad (P/L) de la masa, debido a la adición de inulina (0, 3, 6, 9, y 10.71%).

Los efectos se analizaron mediante análisis de varianza, a nivel de significancia de $p = 0.05$ y comparación de medias por Tukey (Cuadro 2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presenta los valores de las características fisicoquímicas de la harina utilizada.

Cuadro 1. Análisis fisicoquímico de la masa utilizada.

Determinación	HTR40
Gluten* (%)	10.90 ± 0.05
Humedad (%)	11.50 ± 0.01
Cenizas* (%)	0.50 ± 0.02
Proteína f=5.7* (%)	12.80 ± 0.04
W (10 ⁻⁴ julios)	309.67 ± 0.03
P (mm)	116.33 ± 0.06
L (mm)	66.67 ± 0.03
G	18 ± 0.05
P/L	1.73 ± 0.10

HTR40, harina Turbo remix; *Base seca.

Con base en los valores de W la harina es de buena calidad panificable; muy tenaz (P=116.33 mm), de baja extensibilidad (L=66.67 mm), relación de P/L=1.73 es considerada como fuerte y no equilibrada, el grado de hinchamiento (G) o volumen de la masa es de 18 lo que indica una aptitud normal para dar un pan con buen desarrollo de volumen. Con porcentaje de extracción de 65%, según la escala de Mohs. Los valores de humedad (Cuadro 1) se encuentran dentro de lo especificado en la Norma Oficial Mexicana (NOM-F-19829). El contenido de proteína es bueno.

En las Figuras 2, 3 y 4 se observa el efecto que presenta la adición de harina de avena en diferentes porcentajes en las características de fuerza, tenacidad, extensibilidad y grado de hinchamiento de la masa. La adición de cualquier ingrediente a la masa siempre modificara sus características viscoelásticas, esto se debe evaluar en función de lo que se requiera, por ejemplo incrementar el contenido

de gluten se adiciona otra harina con mayor contenido de proteína o se adiciona directamente gluten, cuando se agregan harinas que no tienen las propiedades del gluten, la calidad panadera de la harina tiende a disminuir, sin embargo hay que considerar cuanto es lo máximo que podemos adicionar y en que beneficia al consumidor el producto elaborado.

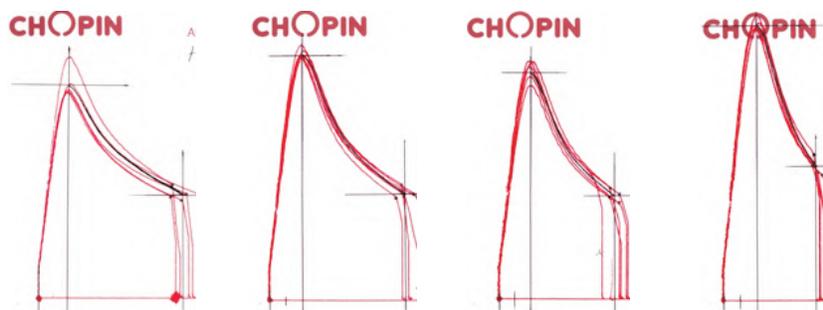


Figura 1. Harina testigo

Figura 2. Harina y avena 3%

Figura 3. Harina y avena 6%

Figura 4. Harina y avena 9%

Los alveogramas de las Figuras 1 a 4 representan de forma gráfica las cualidades viscoelásticas y el comportamiento de la masa, cuando a ésta se le adicionaron diferentes cantidades de avena. La elasticidad y plasticidad de las masas registradas en el alveógrafo están directamente relacionadas con el gluten y el equilibrio de las proteínas que lo conforman. La W o fuerza está dada por el área bajo la curva de las Figuras 1 a 4 y se observa que disminuye significativamente conforme se incrementa la cantidad de avena adicionada Cuadro 2, lo anterior se debe a que disminuye el porcentaje de gluten y se pierde extensibilidad en la masa.

La tenacidad de la masa está dada por la altura de cada curva de las Figuras 1 a 4 y cambia aumentando significativamente cuando se le adiciona el 9% de avena. Sin embargo con base en el valor de W (263) y lo reportado por Calaveras (1996) la harina todavía es panificable y puede utilizarse para elabora productos en los cuales la masa no requiera desarrollo total de la red proteica, por ejemplo en panes de los grupos plano y esponjados (tostadas, cochinitos, magdalenas, yoyos, etc.) a excepción de mantecadas.

Cuadro 2. Análisis de medias de los parámetros evaluados.

Tratamientos	Fuerza (W) 10 ⁻⁴ Julios	Tenacidad (P), mm	Extensibilidad (L), mm	P/L	G
MT0	309.67 ^b	116.33 ^c	66.67 ^a	1.73 ^c	18.00 ^a
M3	318.00 ^a	128.00 ^b	63.33 ^b	2.00 ^{cb}	17.67 ^a
M6	251.00 ^d	119.33 ^c	54.67 ^c	2.20 ^b	16.00 ^b
M9	263.00 ^c	145.33 ^a	44.00 ^d	3.30 ^a	15.00 ^c
DMS	4.5913	8.1644	3.2023	0.2721	0.7548

Promedios con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

Con valores de $P > 100$ la harina es de elevada tenacidad, requiere de más agua para obtener consistencia adecuada de trabajo (Cuadro 2), también es necesario considerar la que absorbe la fibra de la avena.

El valor de L expresa la extensibilidad de la masa, en las Figuras 1 a 4 está representada por la longitud de la abscisa o base de la gráfica en mm, los valores de este parámetro (Cuadro 2), presentan un efecto negativo en su calidad llegando a ser de baja extensibilidad, a partir de la adición del 9% de avena la extensibilidad de la masa es muy baja, por lo que no es factible utilizar esta cantidad en masas tipo bizcocho. Con base en valores reportados por Calaveras, (1996), una excelente extensibilidad es de 90 a 115 mm.

Los valores de P/L nos indican la relación entre la tenacidad y la extensibilidad, del equilibrio de ambas depende el destino más adecuado de la harina (bollería, galletas, fabricación de pastas), el valor de P/L de MTO, nos indica que corresponde a una masa panaria de trigos mejoradores ($W=309.67$), a medida que se incrementa la adición de avena, la relación de P/L aumenta lo que significa que se presenta un desequilibrio entre tenacidad y extensibilidad, efecto no positivo para la calidad de la masa. La avena influye más sobre la característica de extensibilidad de la masa misma que está directamente relacionada con la capacidad de retención de gases, por lo que G disminuye.

El valor G, llamado grado de hinchamiento está relacionado con el volumen de aire que necesitamos para romper el alveolo formado al insuflar aire en la masa, indica la aptitud de la harina para ser trabajada, con un número elevado de $G > 20$, da un pan con buen desarrollo de volumen debido a la capacidad de la masa de retener el CO_2 producido durante la fermentación. Analizando los valores de G Cuadro 2, se observa que hay diferencia significativa negativa con la adición de 9% de avena la masa presenta muy baja capacidad de retención de CO_2 . Cantidades menores o iguales a 6% de avena se pueden utilizar en masa para bizcocho, con ligera disminución de volumen

pero aceptable por el consumidor.

CONCLUSIONES:

La adición de harina de avena influye significativamente en las propiedades viscoelásticas de la masa panaria.

Es viable utilizar mezclas de harina trigo-avena en porcentaje de 94-6% respectivamente; sin que las variaciones en los parámetros de fuerza tenacidad y extensibilidad afecten de manera notoria las características organolépticas del producto.

En pan blanco (Bolillo, telera...) se puede adicionar hasta un 3% de harina de avena.

En productos esponjados que no requieren de un desarrollo completo de la red proteica se puede utilizar un 9% de avena.

La adición de avena le permite al panadero ofrecer mayor variedad de pan de mejor calidad saludable.

BIBLIOGRAFÍA

- Brown L y Rosner B. 1999. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition* 69 (1): 30-42
- Calaveras, J. 1996. *Tratado de Panificación y Bollería* Ed. Mundi-Prensa (Pág. 78-82) España.
- Cherbut C. 2002. Inulin and oligofructose in the dietary fiber concept. *British Journal of Nutrition* 87(Suppl. 2): S159-S162
- García, P. P., Velasco, G. C 2007. Evolución en el conocimiento de la fibra. pgarciap.hgugm@salud.madrid.org.
- Prosky L, Asp NG, Schweizer, T F, DeVries, J W, Furda I 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *Journal of Association of Official Analytical Chemists* 71 (5): 1017-1023



Zea mays



vidsupra
visión científica

ÓRGANO DE DIFUSIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA DEL CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL DURANGO CIIDIR-IPN

