
Ciencia, Tecnología y Salud

Revista Centroamericana de Investigación y Postgrado
Universidad de San Carlos de Guatemala

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Volumen 7 Número 2

julio / diciembre 2020

Artículos científicos

Artículos de revisión

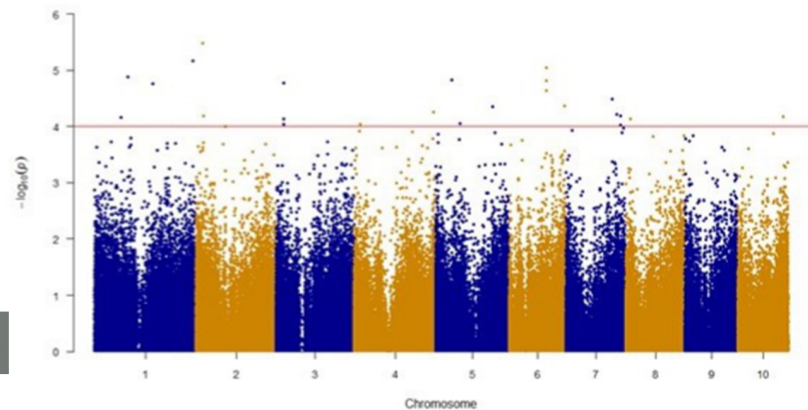
Conferencia de congreso

Ensayos científicos

Resúmenes de congresos

Reporte de casos

Reseñas



USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala



Dirección General
de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala



Coordinadora General
Sistema de Estudios de Postgrado



SENACYT
Secretaría Nacional de
Ciencia y Tecnología
GUATEMALA

Ciencia, Tecnología y Salud es una publicación de la Dirección General de Investigación (Digi), con la colaboración de la Coordinadora General del Sistema de Estudios de Postgrado (CG-SEP), de la Universidad de San Carlos de Guatemala (Usac) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Concyt). Está orientada a divulgar investigaciones originales en las áreas de ciencias, tecnologías y salud humana y animal. Constituye una publicación en formato digital Open Journal System (OJS) en línea, y semestral en forma impresa. Los manuscritos aceptados para publicación son sometidos a procesos de arbitraje por revisores externos, lo que garantiza al lector y autores un alto nivel y rigor académico. Aprobada en el punto Séptimo, Inciso 7.1 del Acta No. 20-2014 de la sesión ordinaria celebrada por el Consejo Superior Universitario, el día miércoles 12 de noviembre de 2014.

500

C569 Ciencia, Tecnología y Salud / Revista Centroamericana de Investigación y Postgrado.
- - Volumen 7, número 2. (jul. / dic. 2020). - - Guatemala : Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Coordinadora General del Sistema de Estudios de Postgrado, Unidad de Publicaciones y Divulgación, 2020.
volumenes : ilustraciones ; 27 cm.

Semestral

ISSN impreso: 2410-6356
ISSN electrónico: 2409-3459

Disponible en: <http://digi.usac.edu.gt/ojsrevistas>

1. Alimentación 2. Agronomía 3. Biología 4. Conservación de los recursos naturales
5. Física 6. Industrias 7. Matemática 8. Medicina 9. Medio ambiente natural
10. Recursos naturales 11. Salud pública 12. Química I. Dirección General de Investigación II. Coordinadora General del Sistema de Estudios de Postgrado

Universidad de San Carlos de Guatemala

Pablo Ernesto Oliva Soto

Rector

Gustavo Enrique Taracena Gil

Secretario General

Félix Aguilar Carrera

Director General de Investigación, Digi

Julio R. Salazar Pérez

Coordinador General de Programas, Digi

Jorge Ruano Estrada

Coordinador General, SEP

La correspondencia debe ser dirigida a:

Armando Cáceres Estrada

Edificio S-11, 3^{er} Nivel, Ciudad Universitaria, Zona 12

Teléfono: 2418 7950

Correo: cts@digi.usac.edu.gt



Imagen de Portada: Carlos Orozco Castillo y David González

Diseñador gráfico: Alexander Alegria

Descripción de la fotografía de portada: Composición de fotografía y gráfica de resultados referente al artículo "Identificación de marcadores moleculares (SNP) y genes candidatos asociados a la tolerancia genética al complejo mancha de asfalto en variedades nativas de maíz (*Zea mays* L.)" de Orozco y Gonzales.

La reproducción total o parcial del contenido e imágenes de esta publicación se rige de acuerdo a normas internacionales sobre protección a los derechos de autor, con criterios especificados en la licencia Creative Commons (CC BY-NC-SA 4.0)

©Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, 2020.
Los textos publicados en este documento son responsabilidad exclusiva de sus autores.

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 7 Num. 2 jul/dic 2020

Directorio / Board-Staff

Director de la revista

Félix Aguilar-Carrera

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Editor en jefe

Félix Aguilar-Carrera

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Editor Adjunto

Armando Cáceres

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Co-editores y Editora Ejecutiva

Augusto S. Guerra-Gutiérrez

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Rosario Godínez

Sistema de Estudios de Postgrado, Usac, Guatemala

Andrea E. Rodas-Morán

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Asistente de Editores

Comité Editorial

Liuba M. Cabrera-Ovalle

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Oscar M. Cóbar-Pinto

Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología

José A. Franco

Universidad del Norte de la Florida

Dennis Guerra-Centeno

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Usac, Guatemala

Hugo R. Muñoz-Roldán

Facultad de Odontología, Usac, Guatemala

Oscar F. Nave

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac, Guatemala

Julio R. Salazar-Pérez

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Hilda E. Valencia-Marroquín

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Erick J. Velásquez-Castillo

Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología

Patricia Velez-Möller

Facultad de Ciencias Médicas, Usac, Guatemala

Consejo Editorial

Ania Torres

Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos (Cencec), Cuba

Mary Almanzar Santos

Universidad Autónoma de Santo Domingo, República Dominicana

Carolina Arévalo Valdéz

Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Guatemala

Byron Calgua

Naciones Unidas, Suiza

Silvia Duran

Universidad Autónoma de Nicaragua (Unan-Leon), Nicaragua

Fernando García-Santamaría

Universidad de Costa Rica (UCR), Costa Rica

Cristian Kraker-Castañeda

Colegio de la Frontera Sur, México

Eduardo López-Bastida

Centro de Estudios de Energía y Medio Ambiente, Cuba

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 7 Num. 2 jul/dic 2020

Directorio / Board-Staff

Carmen E. Madriz

Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica

María C. Monroy

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac, Guatemala

Leonardo Mendoza-Blanco

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (Unan-León),
Nicaragua

Enrique Pazos

Escuela de Física y Matemáticas, Usac, Guatemala

José L. Plazao-Prado

Universidad Nacional de Ingeniería, Nicaragua

María G. Reyes

Universidad Marítima Internacional de Panamá, Panamá

Francisco Romero-Royo

Universidad Tecnológica Nacional, Costa Rica

Benjamin A. Rosales-Rivera

Universidad Nacional de Ingeniería (Uni), Nicaragua

Igor I. Slowing-Umaña

Iowa State University, United States of America

Janzel Villalaz

Universidad de Panamá, Panamá

Unidad de Publicaciones y Divulgación

Marlene P. Pérez-Muñoz

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Asesores de edición

Dara S. Higueros-Pellecer

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

José D. Marroquín

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 7 Num. 2 jul/dic 2020

Contenido / Contents

Editorial / Editorial153

Artículo Científico / Scientific Article

Diversidad genética de materiales nativos de aguacate guatemalteco a través del marcador molecular AFLP

Genetic diversity of native Guatemalan avocado through AFLP molecular marker

José A. Ruiz-Chután, Julio E. Berdúo-Sandoval, Marie Kalousová, Bohdan Lojka, Eloy Fernández, Jana Žiarovská, Amílcar Sánchez-Pérez..... 155

Evaluación anual del fitoplancton y su respuesta a la calidad de agua en el lago de Amatitlán, Guatemala

Annual evaluation of phytoplankton and its answer to water quality in Amatitlán lake, Guatemala

Evelyn Rodas-Pernillo, Camila A. Vasquez-Moscoso..... 170

Suplementación de vacas en lactación con *Crescentia alata* Kunth más urea

*Supplementation of cows in lactation with *Crescentia alata* Kunth plus urea*

Edgardo A. Menéndez-López, Pablo H. Morales-Acevedo, Nery W. Galdámez-Cabrera, Mario R. Suchini-Ramírez 189

Antibiotic-Resistant *Salmonella*, isolated from cloacal swab samples from turtles in Guatemala

Salmonella resistente a antibióticos, aislada de muestras de hisopados cloacales en tortugas de Guatemala

Dennis Guerra-Centeno, Joana Borrayo-Godínez, Carlos Valdez-Sandoval, Manuel Lepe-López, Federico Villatoro, Jacqueline Escobar, Mercedes Díaz-Rodríguez, Ligia Ríos..... 196

Detección de patógenos asociados a la enfermedad punta morada en los cultivos de papa y tomate en Guatemala

Detection of pathogens associated to potato purple top disease in potato and tomato crops in Guatemala

Julio E. Berdúo-Sandoval, José A. Ruiz-Chután, Luis Méndez, Luis Mejía, Douglas Maxwell, Amílcar Sánchez-Pérez 205

Identificación de marcadores moleculares (SNP) y genes candidatos asociados a la tolerancia genética al complejo mancha de asfalto en variedades nativas de maíz (*Zea mays* L.)

*Identification of molecular markers (SNP) and candidate genes associated to genetic tolerance to tar spot complex disease in maize (*Zea mays* L.) landraces*

David O. González-Diéguez, Carlos A. Orozco-Castillo 218

Artículo de Revisión / Review Article

Biomarcadores suPAR y citocinas en la detección temprana de cáncer gástrico

suPAR and cytokines as biomarkers in early detection of gastric cancer

Carmen I. Villagrán-Blanco 236

Envenenamientos por mordedura de serpiente en Guatemala: revisión de literatura

Snakebite envenomings in Guatemala: literature review

Irmgardt A. Wellmann, Dennis Guerra-Centeno 251

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 7 Num. 2 jul/dic 2020

Contenido / Contents

Reporte de Casos / Case Report

Frecuencia de anticuerpos IgG a seis agentes infecciosos en los estudiantes de la carrera de Química Biológica

Frequency of IgG antibodies to six infectious agents in students of the Biological Chemistry degree

Astrid L. Chanquin, Ana G. Hernández, Mynor G. Hernández, Os-mar J. Gamboa, Wendolin J. Samayoa, Lesly C. Suchini, Jorge L. De León, Karla J. Lange, Vivian L. Matta265

Instrucciones para autores

Instructions for authors.....273

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 7 Num. 2 jul/dic 2020

Editorial / Editorial

El reto de la ciencia abierta y las publicaciones científicas

La ciencia abierta más allá de un concepto, es una cultura con diferentes prácticas colaborativas para construir conocimiento, que aborda todo el proceso de investigación, desde la idea hasta su publicación. Representa un cambio de paradigma sobre el cómo construir y compartir el conocimiento a partir de la cooperación. Estos procesos colaborativos se encuentran disponibles a través de licencias libres, lo que hace que puedan ser leídos, distribuidos y reutilizados. Este tipo de enfoque, produce un ecosistema que permite la vinculación y capacitación desde estudiantes, profesores e investigadores a todo nivel. Posee varias aristas como lo son, los datos abiertos en investigación científica, políticas de ciencia abierta, software y código abierto, licencias abiertas, y más conocidos en las publicaciones científicas, acceso abierto y revisión por pares abierta.

La Ciencia Abierta trastoca varios procesos sobre cómo se publica la ciencia y su papel en la difusión y divulgación de este conocimiento para hacerlo más accesible, comprensible y utilizable. Para Guatemala, el rezago científico hace que estos nuevos paradigmas se conozcan e instituyan muy lentamente, por lo que necesario colocarlos en la palestra y el debate académico para sensibilizar a la comunidad científica sobre esta problemática, así como su necesaria y urgente implementación.

Para los editores científicos universitarios, bibliotecarios e investigadores representa un reto cultural en el país, ya que se ha pretendido guardar las buenas ideas solo para personas de confianza, en este caso el poder “abrir” los protocolos de investigación, notas, bases de datos, códigos para analizar datos entre otros, requiere

acciones de permeabilidad, capacitación y construcción de infraestructura digital que facilite todos estos procesos. En el país la publicación en línea se ha ido consolidando poco a poco, pero todavía hay mucho desconocimiento sobre las licencias libres y que significa para la revista contar con acceso abierto a sus documentos. Los temas como preservación digital, repositorios, *preprints*, evaluación por pares abierta, se suman al proceso de mantener la calidad editorial y la reproducibilidad del contenido. Aunque este reto, puede verse desde panorama sombrío debido a la falta de una política específica de ciencia abierta o desde los limitados fondos de investigación, es necesario generar estructuras de colaboración entre revistas, especialmente a nivel universitario.

Para abordar estos temas, como Dirección General de Investigación, que inició desde el 2014 con la publicación de *Ciencia, Tecnología y Salud*, y ha adquirido un bagaje de conocimientos sobre las publicaciones científicas, hemos buscado aliados estratégicos y así, junto con la Biblioteca Central hemos puesto los primeros pasos con un convenio firmado este año, que pretende apoyar desde la Dirección a los editores científicos para mejorar su visibilidad por medio de la obtención de los identificadores de objeto digital (doi por sus siglas en inglés) para los artículos científicos. Esto nos permite además generar vinculación y cooperación con las revistas científicas de la Universidad para que todas podamos crecer en estos nuevos paradigmas y como ocurre en otros países de la región, mejorar la dinámica de hacer ciencia.

Agradecemos a nuestros lectores, colaboradores y autores sus valiosos aportes y la confianza depositada en nosotros para editar y publicar sus trabajos. Como siempre esperamos sus aportes a la ciencia, tecnología y salud.

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 7 Num. 2 jul/dic 2020

Diversidad genética de materiales nativos de aguacate guatemalteco a través del marcador molecular AFLP

Genetic diversity of native Guatemalan avocado through AFLP molecular marker

José A. Ruiz-Chután^{1,2*}, Julio E. Berdúo-Sandoval¹, Marie Kalousová², Bohdan Lojka², Eloy Fernández², Jana Žiarovská³, Amílcar Sánchez-Pérez¹

¹Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

²Department of Crop Sciences and Agroforestry, Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic

³Department of Genetics and Plant Breeding, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

*Autor al que se dirige la correspondencia: josealejandro.ruiz@icloud.com

Recibido: 11 de abril 2019 / Revisión: 16 de enero 2020 / Aceptado: 09 de junio 2020

Resumen

El aguacate es un cultivo de consumo a nivel mundial, y según teorías recientes, se sugiere a la región de la Sierra Nevada, en California, como centro de origen y, a Guatemala, como uno de los principales centros de domesticación. Mediante caracterizaciones morfológicas se ha reportado una alta diversidad genética en el país, pero debido al comportamiento de polinización cruzada e hibridaciones interraciales, no se ha podido detallar el estado genético actual de la especie. Sin embargo, los marcadores moleculares son útiles para este tipo de estudios al enfocarse en las diferencias a nivel del ADN. Este estudio analizó la diversidad genética del aguacate nativo guatemalteco de siete poblaciones geográficas con el marcador molecular AFLP. Los datos de estructura poblacional mostraron un alto grado de diversidad a nivel de individuos ($H_t = 0.1933$, $H_w = 0.1872$) y baja diferenciación entre poblaciones ($H_b = 0.0061$). Los resultados sugieren una alta tasa de migración que influye directamente en el grado de mezcla genética de los materiales analizados. El bajo índice de estructura poblacional apunta a un alto flujo genético entre las poblaciones, por lo que la especie no presenta mayor riesgo ante la deriva genética, minimizándose el riesgo de pérdida de alelos por fijación. Se sugiere el resguardado del recurso fitogenético total y no únicamente de materiales promisorios, evitando así el riesgo de erosión genética de la especie y garantizando la permanencia de la diversidad genética, la cual será la base de futuros programas de mejoramiento.

Palabras claves: Aguacate nativo, AFLP, estructura genética, domesticación, variabilidad genética

Abstract

Avocado is one of the most widely consumed crops worldwide and according to new theories, the Sierra Nevada region in California is suggested as the center of origin and Guatemala as one of the main domestication centers. Through morphological characterizations, a high genetic diversity has been reported in the country, but due to the behavior of cross pollination and interracial hybridizations, it has not been possible to detail the current genetic status of the species. Molecular markers are useful for this type of study by focusing on differences at DNA level. This study analyzed the genetic diversity of the native Guatemalan avocado from seven geographic populations with AFLP molecular marker. Population structure data showed a high degree of diversity at the individual level ($H_t = 0.1933$, $H_w = 0.1872$) and low differentiation between populations ($H_b = 0.0061$). The results suggest a high rate of migration that directly influences the degree of genetic mixing of the analyzed materials. The low index of population structure points to a high genetic flow between populations, so that the species does not present a greater risk due to genetic drift, minimizing the risk of loss of alleles due to fixation. The protection of the total genetic resource is suggested, and not only of promising materials, thus avoiding the risk of genetic erosion of the species and guaranteeing the permanence of genetic diversity, which will be the basis of future breeding programs.

Keywords: Native avocado, AFLP, genetic structure, domestication, genetic variability



Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill.) pertenece a la familia Lauraceae, la cual incluye alrededor de 50 géneros, siendo considerada una de las familias de angiospermas más antiguas (Renner, 1999, 2004). El cultivo del aguacate, característico por acumular aceite en su pulpa en lugar de azúcares, es uno de los frutales de mayor importancia económica y cultural para la región de Mesoamérica. Se caracteriza por ser una especie perenne subtropical, aunque ha sido adaptada a diversos climas (Galindo et al., 2007; Galindo-Tovar & Arzate-Fernández, 2010), por lo cual, su producción se ha extendido prácticamente a todo el continente americano, Asia, África, Medio Este y Europa (Guzmán et al., 2017). Según datos del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (Maga, 2016) Guatemala tuvo una producción en el 2016 de 122,440.91 Tm de aguacate, los cuales fueron cosechados en un área de 11,572 ha, alcanzando un rendimiento de 10.58 Tm/ha. Para el mismo año, tuvo una exportación de 4,028.24 Tm lo que representó un valor de US\$ 1,093,338 siendo El Salvador y Honduras los principales destinos del aguacate guatemalteco.

Respecto al centro de origen de la especie, han existido varias teorías desde que Popenoe (1935) propuso como centro de origen la región comprendida desde México hasta el norte de Sudamérica. Posteriormente, Williams (1977) menciona que el centro de origen del aguacate se localiza en las tierras altas del centro y centro-este de México, así como en las tierras altas de Guatemala. Storey y colaboradores (1986) proponen el área de Chiapas (sur de México) - Guatemala - Honduras como centro de origen basados en la identificación de posibles aguacates silvestres. Años después, Bergh (1992) menciona el área centro sur de México y Guatemala como el lugar donde pudo haberse originado la especie. El origen del aguacate se ha relacionado a las áreas donde actualmente existen poblaciones de gran diversidad o donde se han identificado individuos considerados como silvestres (Bergh, 1992; Storey et al., 1986). No obstante, Galindo-Tovar y Arzate-Fernández (2010) mencionan que no se han considerado los datos paleoclimáticos, ni la relación de la ubicación de los fósiles con la trayectoria del reemplazo biótico y las respuestas a las catástrofes ambientales, lo que según, dichos autores, ubicaría al centro de origen de la especie en una región mucho más al norte.

En el proceso de la reconstrucción de la historia del aguacate Scora y Bergh (1992) mencionan que el

género *Persea* ya se encontraba en Norteamérica hace 56-35 millones de años, concordando con las condiciones de clima subtropical de la Sierra Nevada descritas para ese período (Millar, 1996) y con los fósiles de aguacate reportados por Schröder (1968). Desde este escenario, es posible que al momento de la formación de la Sierra Nevada en el Cenozoico tardío (Liu & Shen, 1998; Wakabayashi & Sawyer, 2001) los primeros aguacates modernos se hayan originado por un proceso de adaptación en esta área y no más al sur en la zona de Chiapas - Guatemala - Honduras, en la cual no existían las condiciones climáticas favorables durante el Mioceno - Plioceno como describe Galindo-Tovar y Arzate-Fernández (2010). Estos autores también mencionan que, durante la última glaciación ocurrida en la Sierra Nevada, el clima cambió a seco y frío, por lo cual los aguacates se desplazaron hacia el sur quedando extintos en el área de origen.

En cuanto a la clasificación actual del aguacate, hasta el momento se reconocen tres razas hortícolas (mexicana, guatemalteca y antillana) (Bergh, 1992), las cuales están distribuidas en la región mesoamericana y, a partir de ellas, se han desarrollado la mayoría de variedades comerciales, aunque hay controversia en cuanto a su diferenciación debido a la alta variabilidad en la progenie (Bergh, 1992; Fiedler et al., 1998; Lavi et al., 2003). Previo a la llegada de los exploradores españoles, se asume que las razas fueron separadas con poca o ninguna movilidad debido a las condiciones topográficas, barreras climáticas y el gran tamaño de la semilla. Actualmente, las razas han sufrido cruzamiento en muchas regiones de América y numerosas colecciones muestran una clara introgresión racial. El hábito de floración y la polinización cruzada del aguacate, junto con su forma prolífica y un bajo conjunto de frutos, son otros factores que impiden la comprensión del linaje de los cultivares y razas actuales (Reyes-Alemán et al., 2016).

El tipo de evolución reticulada y la amplia complejidad genética, han dificultado el estudio de la diversidad y relaciones genéticas de esta especie. Actualmente, los estudios de diversidad genética se auxilian de marcadores morfológicos y moleculares, aunque la primera está sujeta a factores ambientales o fenológicos, siendo esto una fuerte limitante (Azofeifa-Delgado, 2006). Por otra parte, los marcadores moleculares son fenotípicamente neutros, presentan mayor segregación o polimorfismo que los morfológicos, pueden ser evaluados desde los primeros estados de desarrollo de las plántulas, son aplicables a cualquier material vegetal,

no importa la época del año en que se realiza el análisis y están libres de los efectos epistáticos (Azofeifa-Delgado, 2006; Reyes-Alemán et al., 2017; Valadez-Mocetzuma, Samah, & Luna-Paez, 2014).

El desarrollo de los marcadores basados en el ADN ha tenido impacto en las investigaciones relacionadas al aguacate. Los marcadores basados en el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP) se utilizaron en estudios evolutivos, filogenéticos (Furnier et al., 1990) y genealógicos (Davis et al., 1998). Otros tipos de marcadores como los minisatélites fueron utilizados para estudios similares y con los mismos resultados en la identificación de las tres razas hortícolas ya descritas (Mhameed et al., 1997). Estudios similares fueron realizados empleando marcadores basados en el ADN polimórfico amplificado al azar (*Random Amplified Polymorphic DNA*, RAPD) (Fiedler et al., 1998; Álvarez Pecina et al., 2018). El desarrollo de microsátélites para esta especie (Ashworth et al., 2004; Gross-German & Viruel, 2013) ha permitido la caracterización molecular de diversas colecciones, por ejemplo en Ghana (Acheampong et al., 2008), España (Alcaraz & Hormaza, 2007) y México (Guzmán et al., 2017). Estudios a través de ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) también han sido desarrollados con el objetivo de evaluar la variabilidad genética entre la raza mexicana (Cuiris-Pérez et al., 2009) y la diversidad presente entre el género *Persea* (Reyes-Alemán et al., 2017).

Asimismo, marcadores como los basados en el polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (*Amplified Fragment Length Polymorphism*, AFLP) también son útiles, a pesar de ser marcadores de tipo dominantes, debido a su alto poder discriminatorio. Este marcador molecular ha sido utilizado en el estudio de la diversidad genética del aguacate en Colombia (Cañas-Gutiérrez et al., 2015), México (Gutiérrez-Díez et al., 2009), Cuba (Nerdo et al., 2009; Ramírez et al., 2005); así como en la diversidad dentro de la raza mexicana (Cerdeña-Hurtado et al., 2015).

La investigación se planteó debido a la falta de una caracterización profunda a nivel molecular del recurso genético del aguacate guatemalteco, por ser este una fuente invaluable para programas de mejoramiento genético de la especie y por el potencial económico que este cultivo representa para el país. Para esto, se evaluó la diversidad genética de materiales nativos guatemaltecos en siete poblaciones, utilizando el marcador molecular AFLP.

Materiales y métodos

Muestreo y colecta de material vegetal

Basado en la información del atlas guatemalteco de parientes silvestres de plantas cultivadas (Azurdia et al., 2011) y tras el reconocimiento del área para la identificación de individuos nativos, se procedió a la colecta de 169 muestras. Estas fueron organizadas en siete poblaciones geográficas, abarcando cuatro regiones fisiográficas distintas. Las poblaciones fueron ubicadas en los departamentos de Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Totonicapán, Quiché, Huehuetenango, Alta Verapaz y Baja Verapaz; y en las regiones fisiográficas del Sur-Occidente, Nor-Occidente, Norte y Central, como se observa en la Figura 1. Debido a la naturaleza del estudio, de conocer la diversidad genética y la estructura poblacional de la especie, no se colectaron materiales que manifestaran indicios de mejoramiento o de pertenecer a colecciones de materiales seleccionados. El número de individuos por población fue variable debido a la accesibilidad y disponibilidad de materiales en cada una. Las muestras consistieron de cinco hojas frescas tomadas de la parte media de cada árbol, las cuales fueron almacenadas en condiciones de frío y trasladadas al laboratorio de biotecnología vegetal de la Facultad de Agronomía para realizar la extracción de ADN. Cada muestra fue identificada con número correlativo, nombre de la población y coordenadas geográficas.

Extracción de ADN y protocolo de AFLP

Para la extracción del ADN genómico se utilizó el kit comercial Gentra añadiendo algunas modificaciones para evitar la oxidación del material biológico. Se tomó una sección de cada hoja de aproximadamente 4 x 4 mm dentro de un tubo de 1.5 mL al cual se le agregaron 450 µL de Cell Lysis Solution (+ 1% PVP, + 0.3% mercaptoetanol) y se procedió a macerar. Se agregaron 2.25 µL de proteinasa K (100 µg/mL) y se dejó incubar por 3 h a 65 °C realizando mezclas por inversión cada 30 min. Se agregaron 2.5 µL de solución RNasa A (4 mg/mL) y se mezcló por inversión 25 veces dejando incubar nuevamente por 45 min a 37 °C. Posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregaron 150 µL de solución para precipitación de proteínas, se mezcló 150 veces por inversión, se colocó por 20 min a -20 °C, se centrifugó a 14,000 rpm durante 4 min y

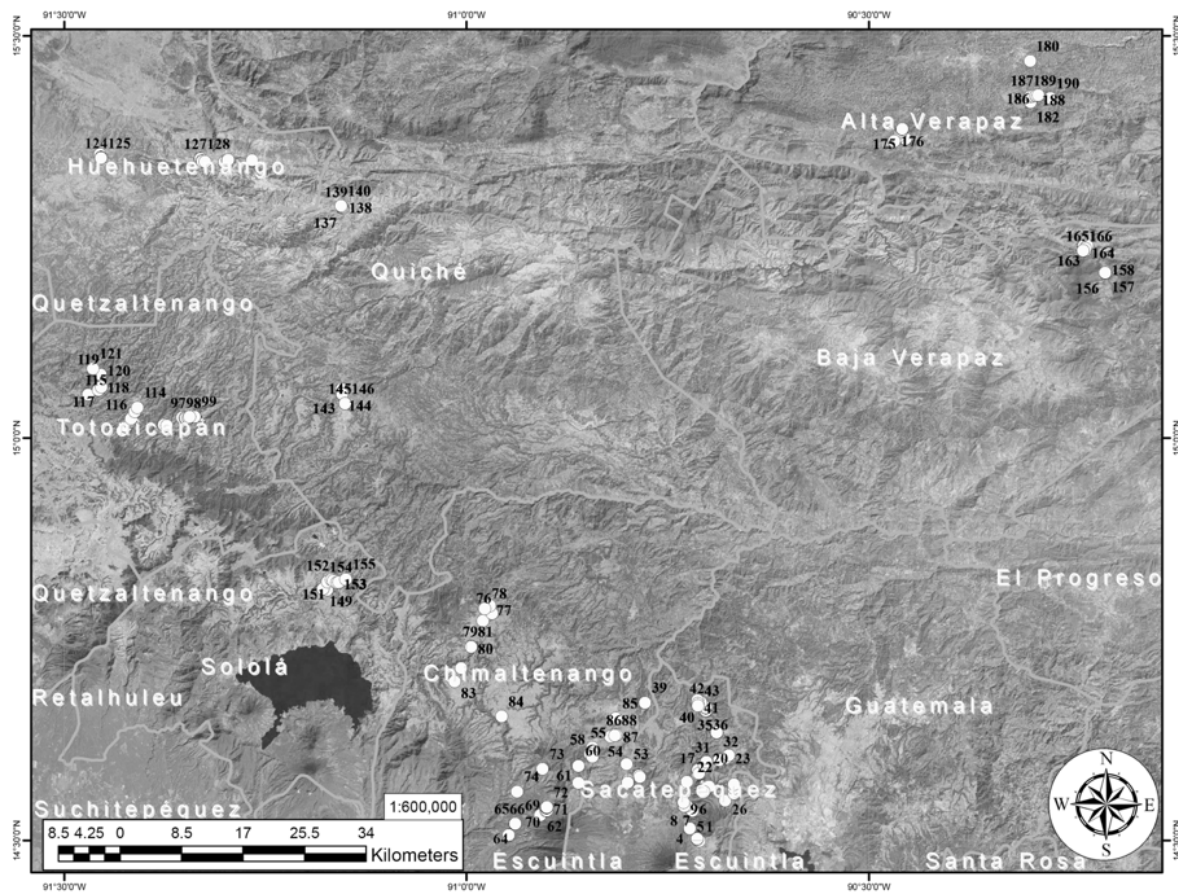


Figura 1. Sitios de colecta de materiales nativos de aguacate guatemalteco.

el sobrenadante fue transferido a un nuevo tubo. Se agregaron 600 µL de una solución fenol:cloroformo:alcohol isoamílico en una relación 25:24:1 se mezcló por inversión, se centrifugó nuevamente a 14,000 rpm por 10 min y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo. Se agregaron 600 µL de cloroformo (24): alcohol isoamílico (1) y se mezcló por inversión, se centrifugó por 10 min a 14,000 rpm y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo. Se agregaron 600 µL de isopropanol y se mezcló por inversión 50 veces, se centrifugó por 3 min a 14,000 rpm, se descartó la fase líquida, se agregaron 500 µL de etanol al 70 %, se mezcló por inversión para lavar la pastilla de ADN, se centrifugó por 3 min a 14,000 rpm invirtiendo el tubo para descartar el etanol y dejando secar por 10 a 15 min sobre papel absorbente. Para la hidratación del ADN se agregaron 50 µL de la solución para hidratación de ADN, se incubó a 65 °C por 1 h y finalmente se almacenó a -20 °C.

El marcador molecular AFLP (Vos et al., 1995) fue utilizado debido a la alta capacidad en la identificación de regiones polimórficas en estudios de diversidad genética de aguacate (Cañas-Gutiérrez et al., 2015; Cerda-Hurtado et al., 2015; Gutiérrez-Díez et al., 2009; Nerdo et al., 2009; Ramírez et al., 2005). El análisis se realizó con el Kit AFLP Análisis System I de Invitrogen® (Zabeau & Vos, 1993). La metodología empleada fue la siguiente: se utilizó ADN genómico a una concentración de 25 ng/µL, el cual fue digerido con las enzimas de restricción EcoR1/MseI y se incubó por 2 h a 37 °C y después a 70 °C por 15 min. La ligación de los adaptadores se llevó a cabo con los reactivos del kit y se incubó durante 2 h a 20 °C. Seguidamente se realizó una preamplificación con la reacción en cadena de la polimerasa; el programa empleado en el termociclador fue el siguiente: 94 °C por 30 s, 56 °C por 60 s, 72 °C por 60 s, por 20 ciclos. Los productos

amplificados se visualizaron en un gel de agarosa al 2%. Se hizo una amplificación selectiva con los cebadores M-CAA + E-AAC del kit los cuales produjeron mayor polimorfismo.

Los productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se visualizaron en un gel de acrilamida al 5% para poder observar las bandas amplificadas. La tinción del gel se realizó con nitrato de plata mediante el siguiente procedimiento: inmersión en solución fijadora de ácido acético glacial 10% v/v durante 35 min, agua destilada durante 20 min, solución de tinción (nitrato de plata 0.15% p/v, formaldehído 0.15% v/v) por 40 min, agua destilada por 10 s, solución de revelado de 5 a 6 min según la aparición de las bandas (carbonato de sodio 6% p/v, formaldehído 0.3% v/v, tiosulfato de sodio 5 ppm), solución fijadora para detener el proceso durante aproximadamente 5 min, finalmente se lavó en agua destilada. Se dejó secar por 2 días y posteriormente se realizó la lectura del perfil de las bandas.

Análisis de datos

Con el perfil de bandas se generó una matriz binaria de presencia (1) ausencia (0) para cada uno de los loci amplificados, a partir de la cual se realizó el análisis de diversidad genética y estructura genética de poblaciones con el programa AFLP-Surv 1.0 (Vekemans et al., 2002). Para dicho análisis se estimaron el número de loci polimórficos (# loc_P), porcentaje de loci polimórfico (PLP), heterocigosidad esperada bajo una proporción genotípica en equilibrio de Hardy-Weinberg (Hj), diversidad genética promedio dentro de las poblaciones (Hw), diversidad genética promedio entre poblaciones (Hb) diversidad genética total (Ht), el índice estadístico de fijación de Wright (Fst) y la matriz de distancias genéticas con el índice de Nei. Para el análisis de inferencia sobre la estructura y división de las poblaciones analizadas a través del método bayesiano se empleó el programa Structure: V 2.3.4 (Pritchard et al., 2000)

Con el programa Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis Past3 (Ryan et al., 2001) se generó una matriz de distancias genéticas con el índice de Nei a partir de la cual se desarrolló un análisis de conglomerados a través del método *Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean* (UPGMA) (Sokal & Michener, 1958) generando un dendrograma a nivel de individuos que fue exportado hacia el programa FigTree v1.4.3 (Rambaut, 2008) para generar el dendrograma de tipo circular. El análisis de conglomerados para generar el

dendrograma a nivel de poblaciones se realizó con el programa R y el complemento "ape" (Paradis et al., 2004).

Resultados

Se analizaron 72 loci; el rango de loci polimórficos fue de 33 para la población de Sololá hasta 56 para la población de Chimaltenango, con un rango de porcentaje de loci polimórficos 45.8 a 77.8 para dichas poblaciones. El valor de heterocigosidad esperada por población estuvo en un rango de 0.13457 a 0.2652 siendo nuevamente la población de Chimaltenango la que presentó el valor más alto y la población de Sololá la que obtuvo el valor más bajo. El resumen de los datos puede observarse en la Tabla 1. El valor de diversidad genética total fue de 0.1933, el valor de diversidad genética promedio dentro de las poblaciones fue de 0.1872, la diversidad genética entre poblaciones fue de 0.0061 y finalmente, el valor de fijación de Wright fue de 0.0313 (Tabla 2.).

Con el análisis de conglomerados se generó un dendrograma (Figura 2), en el cual se observa una alta diversidad genética a nivel de individuos. Este mismo análisis demuestra que el grado de estructura o aislamiento genético entre las poblaciones es bajo. Este hecho se evidencia al existir una mezcla de individuos provenientes de las siete poblaciones analizadas. En este caso, la división en grupos claramente definidos no fue posible debido al alto grado de diversidad, cuantificado a través de los valores de distancias genéticas con el índice de Nei, entre los materiales analizados.

El análisis de conglomerados a nivel de poblaciones (Figura 3), muestra valores de distanciamiento genético muy bajos, indicando que las poblaciones comparten mucho de su material genético. Esta situación se observa claramente a través del índice $H_b = 0.0061$ el cual indica que, a pesar de existir una diferencia genética entre las poblaciones, esta es baja, por lo que no se observa un claro aislamiento genético entre las poblaciones. En el dendrograma las poblaciones se agruparon de la siguiente manera: Alta Verapaz y Baja Verapaz, Chimaltenango y Sacatepéquez, Quiché, Huehuetenango y Totonicapán; dejando como una población fuera de grupo a la proveniente de Sololá.

Esta situación también se reflejó con el análisis de comparación por pares de los valores de distancias genéticas a través del índice de Nei, en el cual se observa que los valores van en un rango de 0 entre las poblaciones de Alta Verapaz y Baja Verapaz, hasta un valor

Tabla 1

Estructura genética de las poblaciones de aguacate nativo analizadas a través del marcador molecular AFLP

Población	N	# loci	#loc_P	PLP	Hj
AV	18	72	39	54.2	0.17290
BV	9	72	43	59.7	0.17198
Hue-Qui	18	72	39	54.2	0.20120
Chimal	10	72	56	77.8	0.26521
Sac-Chimal	74	72	41	56.9	0.17932
Sol	6	72	33	45.8	0.13457
Toto-Qui	28	72	43	59.7	0.18520

Nota. AV = Alta Verapaz, BV = Baja Verapaz, Hue-Qui = Huehuetenango - Quiché, Chimal = Chimaltenango, Sac-Chimal = Sacatepéquez - Chimaltenango, Sol = Sololá, Toto-Qui = Totonicapán - Quiché, N = número de individuos por población, # loci = cantidad de loci analizados, #loc_P = número de loci polimórficos, PLP = porcentaje de loci polimórficos, Hj = heterocigosidad esperada bajo una proporción genotípica en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 2

Estructura genética de las poblaciones de aguacate nativo generada a través del marcador molecular AFLP

N	Ht	Hw	Hb	Fst
7	0.1933	0.1872	0.0061	0.0313
S.E		0.015082	0.001885	0.311799
Var		0.000227	0.000004	0.09

Nota. N = número de poblaciones, Ht = diversidad genética total, Hw = diversidad genética promedio dentro de las poblaciones, Hb = diversidad genética entre las poblaciones, Fst = índice de fijación de Wright.

de 0.0281 entre las poblaciones de Chimaltenango y Sololá. Dichos valores pueden observarse en la Tabla 3.

La división de las poblaciones a través del análisis con el programa Structure mostró una mayor probabilidad en organizar las poblaciones en dos y cuatro grupos genéticos expresados a través del valor K (Figura 4). El grupo genético (K = 2) representado por la tonalidad más oscura, fue el dominante en la población de Sololá, mientras que, el grupo genético representado por la tonalidad clara, está ampliamente representado

en las poblaciones de Chimaltenango y Huehuetenango-Quiché. En el resto de poblaciones, ningún grupo genético prevaleció, por lo que se asume una mezcla de dichos grupos. Cuando el valor K = 4 la población de Sololá fue dominada por el grupo genético representado en blanco, mientras en la población de Chimaltenango prevaleció el grupo genético representado por la tonalidad gris oscuro. Las demás poblaciones no mostraron una clara afinidad por ninguno de los grupos genéticos.



Figura 2. Dendrograma UPGMA generado a partir del marcador molecular amplified fragment length polymorphism (AFLP) utilizando las distancias genéticas de Nei que muestra la diversidad genética de aguacate nativo guatemalteco a nivel de individuos. Al número de cada individuo se antepuso la población de origen para facilitar su ubicación geográfica, AV = Alta Verapaz, BV = Baja Verapaz, Hue-Qui = Huehuetenango - Quiché, Chimal = Chimaltenango, Sac-Chimal = Sacatepéquez - Chimaltenango, Sol = Sololá, Toto-Qui = Totonicapán - Quiché.

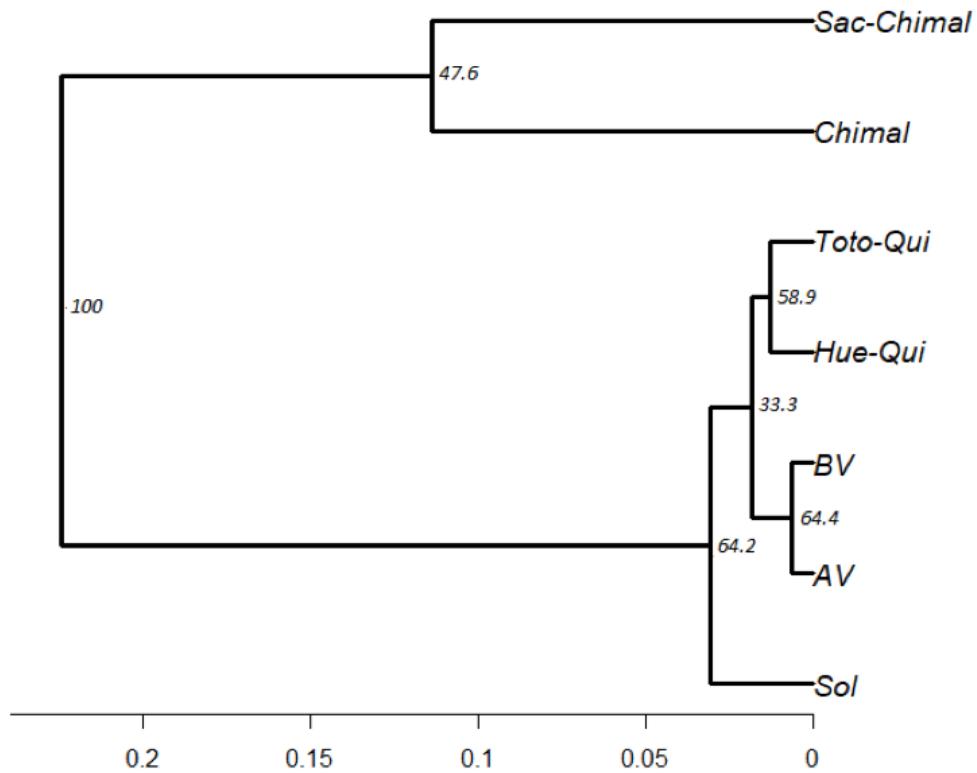


Figura 3. Dendrograma UPGMA generado a partir del marcador molecular *amplified fragment length polymorphism* (AFLP) utilizando las distancias genéticas de Nei que muestra la diversidad genética de aguacate nativo guatemalteco a nivel de poblaciones. Los números en cada uno de los clados muestran el valor de soporte estadístico con el método bootstraps después de 1,000 permutaciones.

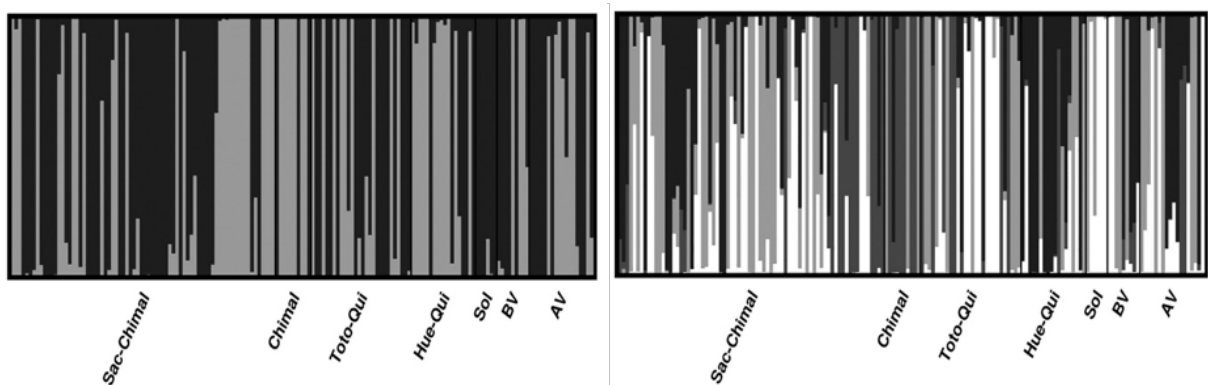


Figura 4. División de los materiales de aguacate nativo en dos ($K = 2$) y cuatro ($K = 4$) grupos genéticos inferidos por el programa Structure en el cual se observa el alto grado de mezcla genética entre las poblaciones.

Tabla 3
Matriz de distancias genéticas generadas a partir del índice de Nei

Población	AV	BV	Hue-Qui	Chimal	Sac-Chimal	Sol	Toto-Qui
AV	0						
BV	0	0					
Hue-Qui	0.0041	0.0079	0				
Chimal	0.0066	0.0098	0.0038	0			
Sac-Chimal	0	0.0014	0.0029	0.0056	0		
Sol	0.0086	0.0038	0.0268	0.0281	0.0169	0	
Toto-Qui	0	0	0.0058	0.0051	0.0004	0.0114	0

Nota. AV = Alta Verapaz, BV = Baja Verapaz, Hue-Qui = Huehuetenango - Quiché, Chimal = Chimaltenango, Sac-Chimal = Sacatepéquez - Chimaltenango, Sol = Sololá, Toto-Qui = Totonicapán - Quiché.

Discusión

Para entender el comportamiento del aguacate nativo dentro del territorio guatemalteco, hace falta comprender que, en términos de genética de poblaciones, si las poblaciones presentan altos niveles de variación genética, esto indica que son muy grandes y/o que existe elevado flujo génico entre ellas. Por el contrario, si las poblaciones de una especie manifiestan marcadas diferencias entre sí, es posible que sean pequeñas y/o que exista poco flujo génico entre ellas (Eguiarte et al., 2013). Para el caso de este estudio, los índices de estructura poblacional apuntan a una alta conectividad entre las poblaciones, existiendo un elevado flujo génico, razón por la cual no se observa un claro aislamiento genético entre las poblaciones. Otro factor a considerar es que, las poblaciones con bajo flujo génico y de tamaño reducido, son susceptibles a sufrir los efectos de la deriva genética, lo que significa la pérdida de alelos por fijación (Labar & Adami, 2017). Sin embargo, debido al flujo génico y la baja diferenciación entre las poblaciones analizadas, el riesgo de sufrir los efectos de la deriva genética, por parte del aguacate nativo, son menores.

Los esfuerzos para determinar el grado de diversidad genética en materiales de aguacate han llevado al uso del marcador molecular AFLP, mostrando ser de

utilidad (Cerde-Hurtado et al., 2015). Además, otros marcadores moleculares de tipo dominantes como RAPD e ISSR (Fiedler et al., 1998; Reyes-Alemán et al., 2013) han permitido la caracterización molecular e identificación de diversidad genética de individuos dentro del género *Persea* y también dentro de la especie *P. americana*. Los resultados obtenidos por Cuiris-Pérez y colaboradores (2009) quienes evaluaron la diversidad genética dentro de la raza mexicana a través del marcador AFLP, obtuvieron un comportamiento muy similar a este estudio cuando se compara el nivel de organización a través del análisis de conglomerados mediante los dendrogramas generados.

La experiencia en la caracterización con el mismo marcador molecular (AFLP), de materiales nativos en el estado de Nuevo León, México (Gutiérrez-Díez et al., 2009), también mostró un alto grado de diversidad genética, aunque este estudio si logra un tipo de arreglo a través del dendrograma, debido a la previa caracterización a nivel de razas de las 42 accesiones analizadas. Sin embargo, debido al alcance del presente estudio, no se contó con la caracterización previa a nivel de razas, por lo que no fue posible establecer una relación como en el estudio antes mencionado, aunque si fue posible profundizar en los índices poblacionales.

Al examinar el comportamiento del aguacate nativo guatemalteco, se observa que el índice Ht (0.1933)

que establece el grado de diversidad total y el índice H_w (0.1872) que mide el grado de diversidad genética entre el total individuos en cada población, refleja un alto grado de diferencia entre ellos. Esta situación es propia de una especie de polinización abierta, así como la condición de protoginia sincrónica que propicia la separación temporal de las funciones sexuales de la flor, favoreciendo así el entrecruzamiento (Bergh, 1974, 1992; Davenport, 1986). Este alto grado de variabilidad también responde al caso especial en su morfología floral denominado heterodicogamia, en el cual dos genotipos diferentes que presentan dicogamia sincronizada, tienen comportamiento de floración recíproca, lo cual significa que mientras las flores de uno de los individuos se encuentra en etapa femenina, las flores del otro se encuentran en la etapa masculina, favoreciendo así la polinización cruzada y aumento de variabilidad genética (Alcaraz & Hormaza, 2011). Esto deja en claro que el aguacate posee un diseño que busca maximizar la polinización cruzada y de este modo incrementar la variabilidad genética y adaptación a la mayor cantidad de ambientes posibles, convirtiéndose en una especie altamente heterogénea.

Otro aspecto que ha ayudado a incrementar la diversidad del aguacate, es la ausencia de barreras de esterilidad entre las razas hortícolas de la especie, por lo cual es frecuente que se presenten hibridaciones interraciales de manera natural o inducida por el hombre (Gross-German & Viruel, 2013). En cuanto a esto, las evidencias etnobotánicas (Storey et al., 1986; Williams, 1977) y los estudios genéticos (Ashworth & Clegg, 2003; Furnier et al., 1990) sustentan el hecho de que las tres razas hortícolas permanecieron separadas durante su proceso de domesticación, pero tras la llegada de los españoles en el siglo XVI, estas entraron en contacto generándose las hibridaciones interraciales a causa del flujo genético originado por la acción humana. Esta situación ayuda a comprender la influencia de la interacción hombre – planta sobre la actual estructura poblacional del aguacate.

Cuando se examina el dendrograma a nivel de individuos (Figura 2) se observa que existe un alto grado de variabilidad entre estos, los cuales no pudieron ser ordenados en un arreglo de conglomerados que mantuviera relación con el origen geográfico de las poblaciones donde fueron colectados. Esta misma situación se presentó con el análisis de Structure (Figura 4) al no poderse establecer una total asignación de los individuos hacia los posibles grupos genéticos inferidos por el programa, observándose una mezcla de dichos grupos

en la mayor parte de los individuos analizados. Este fenómeno, de acuerdo con Ashworth y Clegg (2003) es el resultado de la complejidad del estado híbrido de los aguacates, a lo que Bernal-Parra y colaboradores, 2014 agregan que, las especies alógamas, de amplia distribución geográfica y que están sujetas al intercambio de semillas, como es el caso del aguacate guatemalteco, incrementan considerablemente la variabilidad genética de los materiales.

El estudio de Galindo y colaboradores (2011), agrega que la antigua relación con el hombre y las diferentes condiciones de domesticación del aguacate han dado como resultado una gran diversidad de genotipos de afinidades genéticas muy complejas, como las encontradas en esta investigación, al igual que en el estudio de Cañas-Gutiérrez y colaboradores (2015). Por otra parte, al analizar el comportamiento del aguacate a nivel de poblaciones, es claro que el bajo valor del índice H_b (0.0061), el cual mide el grado de diferenciación genética entre poblaciones analizadas, indica que muchos de los loci identificados por el marcador molecular se encuentran presentes en todas las poblaciones. Dicha situación se interpreta como una alta similitud genética entre las poblaciones, situación que se ve respaldada por los bajos valores encontrados en la heterocigosidad esperada (H_j). Esta situación indica que existe un flujo constante de materiales de aguacate a través de las poblaciones analizadas, lo cual genera dos condiciones, el incremento de la variabilidad genética entre todos los individuos por recombinación y un bajo nivel de estructura poblacional.

Este bajo nivel de estructura o aislamiento genético entre las poblaciones, puede ser claramente observado a través de la matriz de distancias genética (Tabla 3) ya que, para todos los casos de comparación, los valores obtenidos son muy cercanos a 0, lo que se interpreta como una alta similitud genética entre las poblaciones. Esta misma situación también se identifica a través de los bajos valores de diferenciación genética en el dendrograma a nivel de poblaciones (Figura 3). Sin embargo, a pesar de existir un nivel muy bajo de diferenciación, este dendrograma si permite observar una relación positiva entre la cercanía genética y la cercanía geográfica, aunque los valores de bootstrap bajos indican que la estructura de los grupos identificados no están consolidados y pueden variar (Efron, 1979). Esta escasa estructura poblacional resulta, en gran medida, a la movilización de semillas entre los distintos departamentos del país, lo cual responde a la selección continua que realizan los productores nacionales en

función de un idiotipo para satisfacer el mercado local o internacional (Ocampo, Urrea, Wyckhuys, & Salazar, 2013). La comercialización de los frutos, a partir de los cuales se utilizan las semillas para el establecimiento de nuevas plantaciones, también es un factor que afecta la estructura genética.

El estudio de diversidad genética de aguacate realizado por Corona-Jácome, Galindo-Tovar, Lee-Espinosa y Landero-Torres (2016) que incluyó muestras tomadas en la región de Antigua Guatemala, encontró un alto valor de similitud genética entre dicha población y otra población ubicada en la localidad de Aquila, estado de Veracruz, México. Esta situación ayuda a explicar el comportamiento de la similitud genética de las poblaciones de aguacate guatemalteco, ya que los procesos de dispersión que sufrió la especie desde su posible origen en la Sierra Nevada (Galindo-Tovar & Arzate-Fernández, 2010) han ayudado a la interacción entre las poblaciones, a pesar de existir grandes distancias geográficas entre ellas.

La situación genética de los materiales nativos en Guatemala merece especial atención, pues la estructura genética actual es resultado del efecto de la interacción humana a través del proceso de domesticación, el cual habría iniciado con la llega del hombre a Mesoamérica, hace aproximadamente 15,000 años (Goebel, Waters, & O'Rourke, 2008). Desde entonces, las evidencias históricas, peleoecológicas y paleoecológicas indican que después del proceso de domesticación iniciado en México (Galindo-Tovar, Lee-Espinoza, Murgía-González, Leyva-Ovalle, & Landero-Torres, 2013) los materiales de aguacate fueron trasladados hacia la zona de Yucatán, Guatemala y Belice, en donde la cultura maya estableció uno de los tres principales centros de domesticación del aguacate (Colunga-GarcíaMarín & Zizumbo, 2004; Gama & Gomez, 1992). A partir de ahí, las implicaciones religiosas, mitológicas, económicas y medicinales, que tuvo el aguacate en la región de Mesoamérica (Galindo-Tovar, Ogata-Aguilar, & Arzate-Fernández, 2008), fueron fomentando el proceso de migración de materiales de aguacate fuera de sus poblaciones originales. Esta situación persiste en la actualidad y se ha convertido en el principal factor de incidencia en la diversidad y estructura genética de este valioso recurso.

Finalmente, la caracterización molecular con el marcador AFLP, permitió establecer que el germoplasma nativo de aguacate en Guatemala presenta un alto grado de variabilidad a nivel de individuos ($H_t = 0.1933$, $H_w = 0.1872$) y bajo nivel de aislamiento entre

poblaciones. Esta situación es atribuida al proceso de selección, al sistema de polinización cruzada, el intercambio de semillas y al proceso de domesticación, al que aún está sometido el aguacate; los cuales inciden en la variabilidad intraespecífica encontrada. Este estudio evidencia la riqueza genética del aguacate nativo guatemalteco y la importancia de su conservación. Sin embargo, para desarrollar una adecuada estrategia de conservación, es necesario tomar en cuenta que, la riqueza genética actual es producto del flujo génico entre las poblaciones. No obstante, este flujo se ve amenazado con la introducción, de forma extensiva, de variedades comerciales que desplazan a los materiales nativos, reduciendo su tamaño poblacional y dejándolos expuestos a los riesgos de deriva genética y endogamia. Por tanto, se sugiere mantener el tamaño y conectividad poblacional actual. También el resguardo del recurso fitogenético total y no únicamente de materiales seleccionados por alguna característica de interés, evitando así el riesgo de erosión genética de la especie y garantizando la permanencia de la diversidad genética, la cual será la base de futuros programas de mejoramiento.

Agradecimientos

A la Dirección General de Investigación (Digi) por financiar la presente investigación a través de la partida presupuestaria 4.8.63.4.41

Referencias

- Acheampong, A. K., Akromah, R., Ofori, F. A., Takrama, J. F., Saada, D., Bitton, I., & Lavi, U. (2008). Genetic characterization of Ghanaian avocados using microsatellite markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133(6), 801-809.
- Alcaraz, M. L., & Hormaza, J. I. (2007). Molecular characterization and genetic diversity in an avocado collection of cultivars and local Spanish genotypes using SSRs. *Hereditas*, 144, 244-253. <https://doi.org/10.1111/j.2007.0018-0661.02019.x>
- Alcaraz, M. L., & Hormaza, J. I. (2011). Influence of physical distance between cultivars on yield, outcrossing rate and selective fruit drop in avocado (*Persea americana*, Lauraceae). *Annals of Applied Biology*, 158(3), 354-361. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2011.00469.x>

- Álvarez, M.G., Pecina, V., Acosta, E., & Almeyda, I. H. (2018). Evaluación molecular del aguacate criollo (*Persea americana* Mill) en Nuevo León, México. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(2), 38-46. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.69551>.
- Ashworth, V. E. T. M., & Clegg, M. T. (2003). Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): Genealogical relationships among cultivated avocado genotypes. *Journal of Heredity*, 94(5), 407-415. <https://doi.org/10.1093/jhered/esg076>
- Ashworth, V. E. T. M., Kobayashi, M. C., De la Cruz, M., & Clegg, M. T. (2004). Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): Development of dinucleotide and trinucleotide markers. *Scientia Horticulturae*, 101, 255-267. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.11.008>
- Azofeifa-Delgado, Á. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 221-241.
- Azurúa, C., Williams, K. A., Williams, D. E., Van Damme, V., Jarvis, A., & Castaño, S. E. (2011). Atlas of Guatemalan crop wild relatives. Recuperado de <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.html?docid=22225>
- Bergh, B. O. (1974). The remarkable avocado flower. *California Avocado Society Yearbook*, 57, 40-41.
- Bergh, B. O. (1992). The origin, nature, and genetic improvement of the avocado. *California Avocado Society Yearbook*, 76, 61-75.
- Bernal-Parra, N., Ocampo-Pérez, J., & Hernández-Fernández, J. (2014). Caracterización y análisis de la variabilidad genética de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(3), 586-597. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-251/13>.
- Cañas-Gutiérrez, G., Galindo-López, L., Arango-Isaza, R., & Saldamando-Benjumea, C. (2015). Diversidad genética de cultivares de aguacate. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1), 129-143. <https://doi.org/10.15517/am.v26i1.16936>
- Cerda-Hurtado, I., Ojeda-Zacarias, M. Del C., Iracheta-Donjuan, L., Martínez-De la Cerda, J., Torres-Castillo, J. A., & Gutiérrez-Díez, A. (2015). Variabilidad genética de cultivo in vitro de aguacate raza mexicana. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(1), 243-250.
- Colunga-GarínMarín, P., & Zizumbo-Villareal, D. (2004). Domestication of plants in Maya lowlands. *Economic Botany*, 58, S101-110. [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2004\)58\[S101:DOPIML\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2004)58[S101:DOPIML]2.0.CO;2)
- Corona-Jácome, E. C., Galindo-Tovar, M. E., Lee-Espinosa, H. E., & Landero-Torres, I. (2016). Diversidad genética del aguacate (*Persea americana* Mill.) en cuatro zonas de su área de dispersión natural. *Agroproductividad*, 9(6), 80-85.
- Cuiris-Pérez, H., Guillén-Andrade, H., Pedraza-Santos, M., López-Medina, J., & Vidales-Fernández, I. (2009). Genetic variability within mexican race avocado (*Persea americana* Mill.) germplasm collections determined by ISSRs. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(2), 169-175.
- Davenport, T. (1986). Avocado flowering. *Horticultural Reviews*, 8, 257-289.
- Davis, J., Henderson, D., Kobayashi, M., Clegg, M. T., Michael, T., & Allen, P. C. K. (1998). Genealogical relationships among cultivated avocado as revealed through RFLP analyses. *Journal of Heredity*, 89(4), 319-323. <https://doi.org/doi:10.1093/jhered/89.4.319>
- Eguiarte, L. E., Aguirre-Liguori, J. A., Jardón-Barbolla, L., Aguirre-Planter, E., & Souza, V. (2013). Genómica de poblaciones: nada en evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 16(1), 42-56. [https://doi.org/10.1016/s1405-888x\(13\)72077-1](https://doi.org/10.1016/s1405-888x(13)72077-1)
- Efron, E. (1979). Bootstrap methods: Another look at the jackknife. *Annals of Statistics*, 7(1), 1-26.
- Fiedler, J., Bufler, G., & Bangerth, F. (1998). Genetic relationships of avocado (*Persea americana* Mill.) using RAPD markers. *Euphytica*, 101, 249-255. <https://doi.org/10.1023/a:1018321928400>
- Furnier, G. R., Cummings, M. P., & Clegg, M. T. (1990). Evolution of the avocados as revealed by DNA restriction fragment variation. *Journal of*

- Heredity*, 81(3), 183-188. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a110963>
- Galindo-Tovar, M. E., & Arzate-Fernández, A. (2010). Consideraciones sobre el origen y primera dispersión del aguacate Lauraceae. *Cuadernos de Biodiversidad*, 33, 11-15. <http://dx.doi.org/10.14198/cdbio.2010.33.02>
- Galindo-Tovar, M., Arzate-Fernández, A., Ogata-Aguilar, N., & Landero-Torres, I. (2007). The avocado (*Persea americana*, Lauraceae) crop in mesoamerica: 10,000 years of history. *Harvard Papers in Botany*, 12(2), 325-334. [https://doi.org/10.3100/1043-4534\(2007\)12\[325:TAPALC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3100/1043-4534(2007)12[325:TAPALC]2.0.CO;2)
- Galindo-Tovar, M. E., Milagro, P., Alejandre-Rosas, J., Leyva, O., Landero, I., Lee, H., & Murguía, J. (2011). Relaciones genéticas del Aguacate (*Persea americana* Mill.) en siete municipios del centro de Veracruz, caracterizadas con microsatélites. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13, 339-346.
- Galindo-Tovar, M. E., Lee-Espinoza, H. E., Murguía-González, J., Leyva-Ovalle, O. R., & Landero-Torres, I. (2013). Domesticación y distribución geográfica de *Persea americana* Mill. en la época precolombina. *Revista de Geografía Agrícola*, 50-51, 65-70.
- Galindo-Tovar, M. E., Ogata-Aguilar, N., & Arzate-Fernández, A. (2008). Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, 441-450. <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9250-5>
- Gama, L., & Gomez, P. (1992). *An ethnoecological approach for the study of Persea: A case study in the Maya area*. Proceedings II World Avocado Congress (pp. 11-17) Orange, California.
- Gobel, T., Waters, M. R., & O'Rourke, D. H. (2008). The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science*, 319(5869), 1497-1502. <https://doi.org/10.1126/science.1153569>
- Gross-German, E., & Viruel, M. A. (2013). Molecular characterization of avocado germplasm with a new set of SSR and EST-SSR markers: Genetic diversity, population structure, and identification of race-specific markers in a group of cultivated genotypes. *Tree Genetics & Genomes*, 9(2), 539-555. <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0577-5>
- Gutiérrez-Díez, A., Martínez-de la Cerda, J., García-Zambrano, E. A., Iracheta-Donjuan, D., Ocampo-Morales, J. D., & Cerda-Hurtado, I. M. (2009). Estudio de diversidad genética del aguacate nativo en Nuevo León, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(1), 9-18.
- Guzmán, L. F., Machida-Hirano, R., Borrayo, E., Cortés-Cruz, M., Espíndola-Baquera, M. de C., & Heredia, E. (2017). Genetic structure and selection of a core collection for long term conservation of avocado in Mexico. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00243>
- Labar, T., & Adami, C. (2017). Evolution of drift robustness in small populations. *Nature Communications*, 8(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01003-7>
- Lavi, U., Sa'ada, D., Regev, I., & Lahav, E. (2003). *Avocado genetics and breeding - present and future*. World Avocado Congress V, 42, 134-135.
- Liu, M., & Shen, Y. (1998). Sierra Nevada uplift: A ductile link to mantle upwelling under the basin and range province. *Geology*, 26(4), 299-302. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1998\)026<0299:SNUADL>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1998)026<0299:SNUADL>2.3.CO;2)
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. (2016). El Agro en cifras, 2016. Guatemala: Autor
- Mhameed, S., Sharon, D., Kaufman, D., Lahav, E., Hillel, J., & Lavi, U. (1997). Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill) cultivars and between *Persea* species. *Theoretical Applied Genetics*, 94, 279-286. <https://doi.org/10.1007/s001220050411>
- Millar, C. I. (1996). Tertiary vegetation history. Sierra Nevada Ecosystem Project, Final report to Congress, Volume II, Assessments and Scientific Basis for Management Options, Centers for water and Wildland Resources, Report No. 37, University of California, Davis California
- Nerdo, N., Medina, R., Luis, J., Lorenzo, F., Arbelo, O. C., Fiallo, R. F., ... Rohde, W. (2009). Agro-morphologic traits, isoenzyme and DNA

- markers for estimating the polymorphism levels, discriminating capacity and informativeness in avocado. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 40(1), 63-74.
- Ocampo, J., Urrea, R., Wyckhuys, K., & Salazar, M. (2013). Aprovechamiento de la variabilidad genética del maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) como base para un programa de fitomejoramiento en Colombia. *Acta Agronomica*, 62(4), 352-360.
- Paradis, E., Claude, J., & Strimmer, K. (2004). APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20(2), 289-290. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg412>
- Popenoe, W. (1935). Origin of the cultivated races of avocados. *California Avocado Association Yearbook*, 20, 184-194.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x>
- Rambaut, A. (2008). FigTree v1.4.3: Tree figure drawing tool.
- Ramírez, I. M., Fuentes, J. L., Rodríguez, N. N., Coto, O., Cueto, J., Becker, D., & Rohde, W. (2005). Diversity analysis of Cuban avocado varieties based on agro-morphological traits and DNA polymorphisms. *Journal of Genetics and Breeding*, 59(3-4), 241-252. <https://doi.org/10.1051/0004-6361/201117847>
- Renner, S. S. (1999). Circumscription and phylogeny of the Laurales: evidence from molecular and morphological data. *American Journal of Botany*, 86(9), 1301-1315.
- Renner, S. S. (2004). Variation in diversity among Laurales, early Cretaceous to present. *Biologische Skrifter*, 55, 441-458.
- Reyes-Alemán, J. C., Serrano-Hernández, M., Mejía-Carranza, J., Vázquez-García, L. M., Urbina-Sánchez, E., Valadez-Moctezuma, E., & Espíndola-Barquera, M. (2017). A genetic diversity study of *Persea*. *Acta Horticulturae*, (1203), 147-154. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1203.22>
- Reyes-Alemán, J., Valadez-Moctezuma, E., & Barrientos-Priego, A. (2016). Assessment of genetic relationship in *Persea* spp by traditional molecular markers. *Genetic and Molecular Research*, 15(2), 1-11. <https://doi.org/10.4238/gmr.15027359>
- Reyes-Alemán, J. C., Valadez-Moctezuma, E., Simuta-Velázco, L., Barrientos-Priego, A., & Gallegos-Vázquez, C. (2013). Distinción de especies del género *Persea* mediante RAPD e ISSR de ADN. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(4), 517-529.
- Ryan, P. D., Hammer, Ø., & Harper, D. A. (2001). Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 5-7. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.05.025>
- Schröder, C. A. (1968). Prehistoric avocados in California. *California Avocado Association Yearbook*, 52, 29-34.
- Scora, R., & Bergh, B. (1992). Origin of the taxonomic relationships within the genus *Persea*. En *Proceedings II World Avocado Congress* (pp. 505-514). California.
- Sokal, R. R., & Michener, C. D. (1958). A statistical methods for evaluating relationships. *University of Kansas Science Bulletin*, 38, 1409-1448.
- Storey, W. B., Bergh, B., & Zentmyer, G. A. (1986). The origin, indigenous range and dissemination of the avocado. *California Avocado Society Yearbook*, 70, 127-133.
- Valadez-Moctezuma, E., Samah, S., & Luna-Paez, A. (2014). Genetic diversity of *Opuntia* spp. varieties assessed by classical marker tools (RAPD and ISSR). *Plant Systematics and Evolution*, 301(2), 737-747. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1112-y>
- Vekemans, X., Beauwens, M., Lemaire, M., & Ruiz-Roldán, I. (2002). Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size X. *Molecular Ecology*, 11, 139-151. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01415.x>

- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van De Lee, T., Hornes, ... Zabeau, M. (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21), 4407- 4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- Wakabayashi, J., & Sawyer, T. L. (2001). Stream incision, tectonics, uplift, and evolution of topography of the Sierra Nevada, California. *The Journal of Geology*, 109, 539-562. <https://doi.org/10.1086/321962>
- Williams, L. O. (1977). The Avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subg. *Persea*. *Economic Botany*, 31(3), 315-320. <https://doi.org/10.1007/BF02866883>
- Zabeau, M., & Vos, P. (1993). *Selective restriction fragment amplification: A general method for DNA fingerprinting* (European patent application no. 92402629.7), European Patent Office. Recuperado de <https://patentimages.storage.googleapis.com/49/1f/be/97e98216ef4ca3/EP0534858A1.pdf>

Evaluación anual del fitoplancton y su respuesta a la calidad de agua en el lago de Amatitlán, Guatemala

Annual evaluation of phytoplankton and its answer to water quality in Amatitlán lake, Guatemala

Evelyn Rodas-Pernillo^{1*}, Camila A. Vasquez-Moscoso²

¹Doctorado en Ciencias de la Investigación, Universidad Mariano Gálvez, Guatemala y

²Departamento de Biología y Química, Facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías, Universidad de los Llanos, Colombia

*Autor al que se dirige la correspondencia: rodaspernillo@gmail.com

Recibido: 29 de enero 2019 / Revisión: 22 de octubre 2019 / Aceptado: 09 de junio 2020

Resumen

Se realizó un estudio sobre la composición y abundancia del fitoplancton en el lago de Amatitlán, y el efecto de la calidad de agua sobre su biodiversidad. Para ello, se colectaron muestras de agua en cuatro puntos específicos del lago, en la superficie del agua y a profundidades de 5, 10 y 20 m, de manera mensual durante el 2017. Se midieron parámetros fisicoquímicos in situ como temperatura y pH. Igualmente, se identificaron y contabilizaron cianobacterias y microalgas. El índice de estado trófico (IETP) catalogó al lago como eutrófico e hipereutrófico (IETP = 63.80-88.18). Se reportan 34 géneros de fitoplancton distribuidos en 30 familias, 17 órdenes y 10 clases. Los indicadores biológicos, tales como, floraciones algales de *Microcystis* (38.41%), baja diversidad de diatomeas (*Nitzschia*, *Aulacoseira* y *Cyclotella*), presencia de microalgas *Nitzschia* y *Scenedesmus* resistentes a procesos de eutrofización, y alta concentración de coliformes fecales, de hasta 24,000 NMP/100 ml, evidenciaron la baja calidad de agua que se presenta en el lago de Amatitlán. En época seca se encontró más diversidad de microalgas debido a la mayor incidencia de radiación solar, el poco recambio de agua y la acumulación de materia orgánica. Aunque esto varía con los cambios en la concentración de nitrógeno total (NT) y fosforo total (PT), que potencian la proliferación de cianobacterias tóxicas. La biodiversidad del lago fue baja debido al estado hipereutrófico en que se encuentra. Se recomienda poner en funcionamiento plantas de tratamiento de aguas residuales para evitar que esta problemática continúe.

Palabras claves: Microalgas, aguas residuales, floraciones algales, *Microcystis*, eutrofización

Abstract

A study was carried out on the composition and abundance of phytoplankton in Amatitlán lake, and the effect of water quality on its biodiversity. For this, water samples were collected at four specific points in the lake, on the water surface and at depths of 5, 10 and 20 m, in a monthly way during 2017. Physicochemical parameters were measured in situ such as temperature and pH. Likewise, cyanobacteria and microalgae were identified and accounted. The trophic state index (IETP) cataloged the lake as eutrophic and hypertrophic (IETP = 63.80-88.18). 34 genera of phytoplankton distributed in 30 families, 17 orders and 10 classes are reported. Biological indicators, such as *Microcystis* algal blooms (38.41%), low diatom diversity (*Nitzschia*, *Aulacoseira* and *Cyclotella*), presence of *Nitzschia* and *Scenedesmus* microalgae resistant to eutrophication processes, and high concentration of fecal coliforms, up to 24,000 NMP/100 ml, evidenced the low quality of water that occurs in lake Amatitlán. In the dry season, more microalgae diversity was found due to the higher incidence of solar radiation, little water change and the accumulation of organic matter. Even though this varies with changes in the concentration of total nitrogen (NT) and total phosphorus (PT), which enhance the proliferation of toxic cyanobacteria. The lake's biodiversity was low due to its hypereutrophic state. We recommend to put this wastewater treatment plants into operation to prevent this problem to continue.

Keywords: Microalgae, wastewater, algal blooms, *Microcystis*, eutrophication



Introducción

El fitoplancton es un conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos, denominado genéricamente como microalgas, las cuales pueden tener formas unicelulares, coloniales o filamentosas (Gómez, 2007). Su importancia ecológica radica en que son organismos autótrofos, productores primarios y fuente de alimento, rico en proteínas, vitaminas y minerales, para cladóceros, copépodos, larvas de algunos insectos y peces (Rodríguez et al., 2003).

La cuenca del lago de Amatitlán se considera como una de las más contaminadas de Centroamérica, aun así, se permite la pesca y la recreación. Estos niveles de contaminación se han incrementado sustancialmente desde 1950 debido a la deforestación, la agricultura intensiva y las aguas residuales industriales y domésticas que descargan por la corriente del río Villalobos, lo que ha llevado a la eutrofización del lago (Calderón, 2010). Adicionalmente, su efluente, el río Michatoya, es utilizado para producción de energía hidroeléctrica, generando diversos beneficios para la sociedad (Michels et al., 2014).

La eutrofización ocurre cuando hay exceso de concentración de nutrientes en un sistema hídrico, fundamentalmente nitrógeno y fósforo, lo que genera cambios en los factores fisicoquímicos del agua y a su vez en la fauna y flora que lo habitan (Murillo et al., 2010; Prospero et al., 2005). Esto origina un crecimiento desmedido de algunas especies de fitoplancton, en especial de las cianobacterias, las cuales bajo ciertas condiciones ambientales (temperaturas elevadas, alta carga de nutrientes y pH alcalino) desarrollan floraciones (Reynolds, 1984), lo que hace que resulte un grupo competitivamente exitoso con relación a otros del fitoplancton (Paerl & Huisman, 2009; Vera-Parra et al., 2011).

Las cianobacterias son microorganismos procariontes y los fotosintetizadores aeróbicos más antiguos del planeta, cuyas formas coloniales suelen formar agregados macroscópicos que resultan en floraciones, que deterioran la calidad del agua para consumo y fines recreativos (Lucena, 2008; Paerl & Huisman, 2009). Afectan el desarrollo de la flora acuática porque impiden la llegada de luz a algunos sectores del lago, igualmente disminuyen la concentración de oxígeno disuelto necesario para peces e invertebrados. Además, hay especies de floraciones que producen cianotoxinas perjudiciales para la vida acuática y el ser humano, por ejemplo, *Microcystis*, una cianobacteria dominante en

el lago de Amatitlán, se ha reportado como la responsable de grandes floraciones y productora de microcistinas, altamente tóxicas (Romero-Oliva et al., 2014; Falconer, 2005; Harke et al., 2016).

La intervención antrópica que ha sufrido el lago de Amatitlán ha modificado los parámetros fisicoquímicos del agua, al igual que las comunidades de fitoplancton, por lo que una bioevaluación de estos parámetros y su relación con las microalgas es relevante para determinar el estado del lago y establecer posibles soluciones (Gómez et al., 2001). La abundancia, composición y distribución del fitoplancton ha sido catalogado como indicador biológico de la calidad del agua (Plataroti & Patiño, 2010), debido a que poseen un ciclo de vida corto y el recambio de especies es sensible a los cambios ambientales (Quiroz et al., 2004). Es por ello que en el lago de Amatitlán se han efectuado diversos estudios sobre la diversidad del fitoplancton y su potencial en la biotecnología (Calderón 2010; Díaz, 2011; Peckham & Dineen, 1953).

En el presente estudio se caracteriza el fitoplancton a diferentes profundidades de la columna de agua y su relación con algunas variables ambientales, con el fin de obtener las bases para la identificación de especies indicadoras de calidad de agua y proveer datos que permitan el estudio del potencial biotecnológico de las microalgas del lago de Amatitlán.

Materiales y métodos

Área de Estudio

El lago de Amatitlán (14°28'34.6" N 90°35'16.0" O) se ubica en el municipio del mismo nombre a 26 km de la capital de Guatemala. Se encuentra a 1,186 m s.n.m. con una precipitación media anual sobre el lago de 1,220 mm, la temperatura media anual es de 24.5° C, el número de horas de brillo solar es de 1.716 h/año y la radiación solar de 18.6 MJ/m²/día (Díaz, 2011). La cuenca del lago de Amatitlán es de origen vulcano-tectónico y es el cuarto lago con mayor extensión en Guatemala, con un área de 15.2 km² (Gudiel, 2007).

Los muestreos de los parámetros fisicoquímicos para determinar la calidad del agua y el fitoplancton, se realizaron en cuatro puntos de muestreo (Figura 1): Este Centro (EC), Oeste Centro (OC), bahía Playa de Oro (BPO) y río Michatoya (RM), a profundidades de 0, 5, 10 y 20 m. Los sitios de muestreo del presente estudio fueron los puntos de monitoreo establecidos

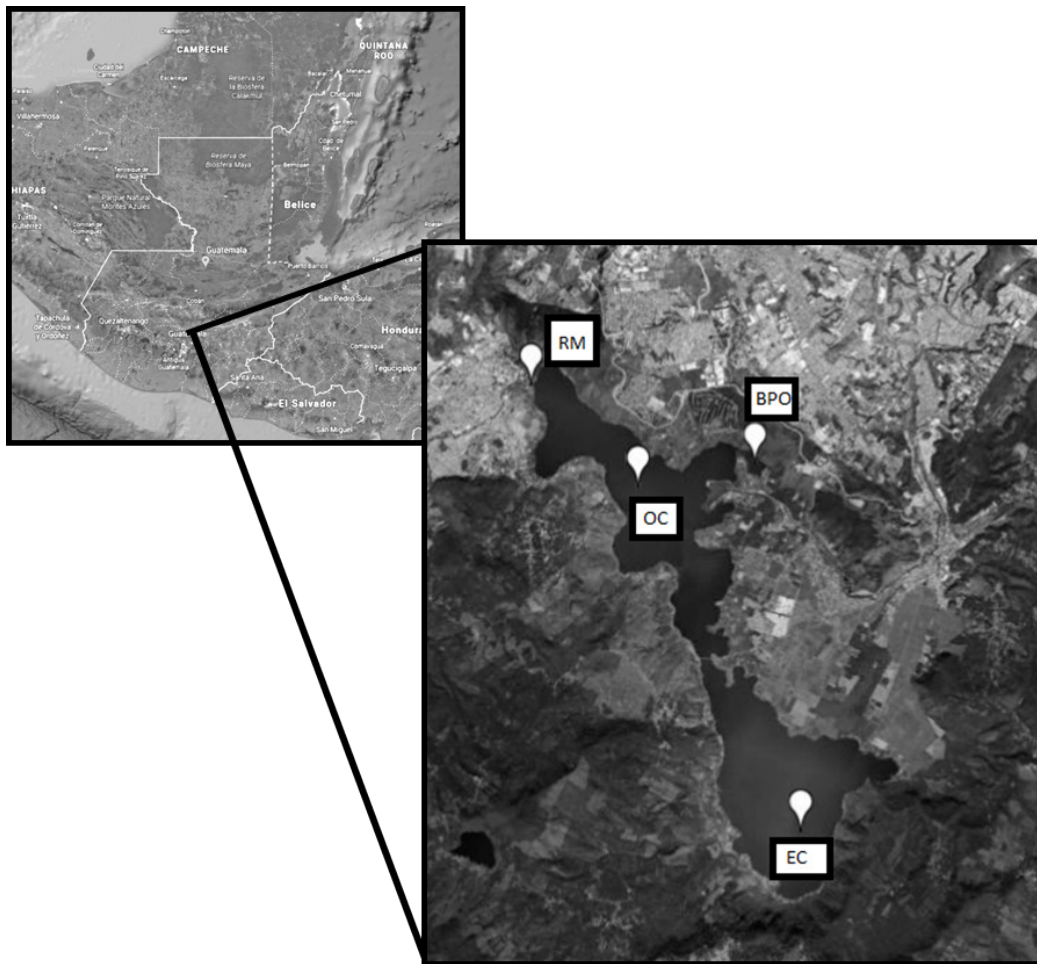


Figura 1. Localización de los sitios de muestro, dentro del Lago de Amatitlán (Guatemala). Este centro (EC): 14°25'52.5" N 90°32'28.2" W; Oeste centro (OC): 14°28'34.6" N 90°35'16.0" W; Bahía Playa de Oro (BPO): 14°29'11.5" N 90°34'11.9" W; Río Michatoya (RM): 14°29'12.3" N 90°36'42.14" W.

previamente por la Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA). El lago presenta dos subregiones divididas por una construcción denominada relleno para paso vehicular, en cada una de estas regiones se eligió su punto medio (EC y OC). La parte este del lago mide 7.12 Km² y la parte Oeste 8.23 Km² (Basterrechea, 1983). EC está ubicado en una parte del lago que tiene escasa comunicación con otros cuerpos hídricos, mientras que OC se encuentra entre el río Villalobos (afluente) y el río Michatoya (efluente), BPO se encuentra cercano a la desembocadura del río Villalobos y RM se ubica en el primer tramo del río Michatoya, cerca de la playa pública (Michels et al., 2014).

Diseño de muestreo

Los muestreos para medir los parámetros físico-químicos y determinar la calidad del agua, y los análisis cualitativos y cuantitativos para estudio de fitoplancton, fueron realizados mensualmente durante el 2017, en los cuatro puntos de muestreo que AMSA ha utilizado para monitorear la calidad de agua, EC, OC, BPO y RM (Figura 1). En los cuatro puntos se tomaron muestras de la superficie directamente. Adicionalmente, en EC y OC se muestreo a 10 y 20 m de profundidad y en BPO a 5 m con una botella Van Dorn de 5 L. Este procedimiento se hizo por triplicado en cada punto de muestreo, llenando dos frascos plásticos de boca ancha

con tapón de rosca de 1 L. Así mismo, se tomaron las muestras en frascos ámbar de 500 mL para el análisis de fitoplancton, y se adicionó lugol al 3%. Seguidamente, todos los frascos fueron almacenados a 4 °C hasta su correspondiente análisis (Bellinger & Sigee, 2015).

VARIABLES FÍSICAS Y QUÍMICAS

Con el objetivo de considerar la variabilidad temporal de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en el lago de Amatitlán, se realizaron análisis *in situ* y además se recolectaron muestras en los cuatro puntos de muestro para analizarlas en el Laboratorio de Control de la Calidad Ambiental de AMSA.

Los parámetros evaluados fueron: Temperatura, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto con la sonda WTW Oxi 1970i; pH con el potenciómetro HQ 30d Marca HACH Flexi y la turbidez con el turbidímetro HACH 20100Q. Por otra parte, el nitrógeno total se midió siguiendo la metodología de Müller y Weideman (1955), fósforo total, ortofosfatos, sólidos totales suspendidos y disueltos, coliformes totales y coliformes fecales fueron analizados siguiendo los métodos estándar (Clesceri et al., 2005). La demanda química de oxígeno (Closed Reflux. 5220 D Colorimetric Method), tensoactivos (Spectroquant, prueba en cubetas tensoactivos aniónicos), clorofila *a* (Henriques, M., Silva, A., & Rocha, J. M., 2007), silicatos (Spectroquant, prueba de silicatos, ácido salicílico), y arsénico por medio de espectrofotometría de absorción atómica-horno de grafito (Clesceri, et al., 2005).

El Índice de Estado Trófico (IETP) se determinó a partir de la concentración de clorofila *a* y fósforo total, del agua más superficial, cuya relación con la transparencia se calculó previamente, siguiendo la metodología propuesta por Carlson (1977).

ANÁLISIS CUALITATIVO DE FITOPLANCTON

Para identificar los géneros de fitoplancton presentes en la muestra se utilizó un microscopio invertido (Labomed TCM400) a un aumento total de 40X y 100X, y se utilizaron las claves de Bellinger y Sigee (2015), Komárková y colaboradores (2016) y Cronberg y Annadotter (2006).

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE FITOPLANCTON

Se efectuó utilizando la cámara Sedgwick-Rafter y un microscopio invertido (Labomed TCM400) a un

aumento total de 40X, contando un total de 100 unidades naturales (colonias, filamentos o células) por muestra, con el objetivo de llegar a un valor estadísticamente significativo (error del $\pm 20\%$, con límites de confianza de 95%). Se escogió este valor, ya que, para reducir dicho error a la mitad, habría que cuadruplicar los recursos para llevar a cabo esta cuantificación (Clesceri et al., 2005). La matriz para el análisis se expresó en abundancias relativas, es decir, el porcentaje de células/mL de cada género reportado, por punto de muestreo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Calidad de agua: El análisis estadístico descriptivo se aplicó a 15 parámetros fisicoquímicos, uno microbiológico (coliformes fecales) y al IETP. Se calcularon los valores promedio, mínimo y máximo para estos parámetros, en cada punto de muestreo y profundidad.

Análisis cualitativo de fitoplancton: Para analizar la diversidad alfa entre sitios y meses de muestreo se calcularon índices de diversidad empleando el programa Past 3.15 (Hammer et al., 2001). Se calculó la diversidad de Shannon-Wiener, dominancia de Simpson y uniformidad de Pielou (Jost, 2006). Para esto se utilizó la matriz que discrimina la abundancia relativa por punto de muestreo (expresada en porcentaje de células/mL) de cada género identificado, y agrupando todos los meses y profundidades (Tabla 4). Los resultados obtenidos se transformaron a números de diversidad de Hill (1973).

Análisis cuantitativo de fitoplancton: Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk, basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal, para determinar el tipo de distribución de los datos. Siguiendo estos resultados, se realizaron pruebas ANOVA para la riqueza e índices de diversidad, mientras que para la abundancia se desarrolló la prueba de Kruskal-Wallis, ya que su distribución no fue normal. Estas pruebas se hicieron con el software Statgraphics Centurion XVI versión 16.1.03.

Efecto de la calidad del agua sobre la biodiversidad del fitoplancton: Se hizo un Análisis de Correspondencia Segmentado (DCA, por sus siglas en inglés) para establecer la técnica de ordenación que mejor se ajustaba a los datos obtenidos de abundancia del fitoplancton, en el software Canoco 4.5 (Leps & Smilauer, 2003). Con base en este resultado se hizo un

análisis de redundancia (RDA) para la ordenación de los géneros, con respecto a las variables ambientales de los sitios muestreados. Para este análisis se utilizaron los 34 géneros de microalgas encontradas durante el 2017 y 18 variables representativas.

Resultados

Variabes fisicoquímicas para determinar la calidad del agua

El promedio anual de pH presentó valores entre 7.7 y 8.9 en los diferentes puntos de muestreo, y la temperatura de 22.2 °C a 25.9 °C (Tabla 1 y Tabla 3). La conductividad presentó los más altos promedios anuales en RM (782.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$) y OC (803.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$), a 0 m (Tabla 1). A profundidades de 5, 10 y 20 m los valores más altos se presentaron en EC (730.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$) y OC (786.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$) (Tabla 3). La concentración de oxígeno disuelto fue mayor en EC, a 0 m, con un valor de 19.4 mg/L. Sin embargo, a 10 y 20 m en este mismo sitio ya se reportaron valores de 0 mg/L.

La turbidez fue más alta en BPO a 0 m (450.0 NTU) y en OC a 10 y 20 m (24.0 NTU). Con respecto al nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) se reportaron los valores más altos en RM, con 260.0 mg/L y 18.2 mg/L respectivamente. El IETP y los coliformes fecales solo se registraron en la superficie, el IETP llegó a los valores más altos en RM (88.2) y los menores en OC (63.8) (Tabla 1). Los coliformes fecales presentaron los valores más altos en OC (24,000 NMP/100 mL) y los más bajos en EC (1.8 NMP/100 mL). Los demás valores de los parámetros fisicoquímicos reportados se muestran en las Tablas 1, 2 y 3.

Análisis cualitativo de fitoplancton

La clase Cyanophyceae (cianobacterias) fue la de mayor riqueza con 13 géneros, mientras que, a nivel de familia, Chlorellaceae fue la más representativa con tres géneros. Las demás familias estuvieron representadas por uno o dos géneros (Tabla 4). Tres puntos de muestreo dentro del lago de Amatitlán mostraron resultados similares en cuanto a riqueza ($p = .98$), RM demostró diferencias significativas de los demás puntos ($p = 8.85\text{E}^{-5}$; Tabla 6). BPO, fue el de mayor riqueza, con 31 géneros; y RM el menor con 18. Así mismo, los meses con mayor número de géneros reportados fueron enero

y febrero, mientras que, los de menor riqueza fueron abril, mayo y septiembre (Figura 2).

Los índices de Shannon-Weaver, Simpson y Pielou (Tabla 5) en EC y OC presentaron igual número de especies, no obstante, OC tuvo mayor valor en el índice de Shannon (H'). RM fue el sitio que mostró valores diferentes en los índices con respecto a los demás sitios, aunque ninguno con diferencia significativa ($p > .05$). Los resultados obtenidos demuestran una baja diversidad en todos los puntos de muestreo (Tabla 6).

Análisis cuantitativo de fitoplancton

Se cuantificaron 34 géneros de microalgas durante el 2017, distribuidas en 30 familias, 17 órdenes, 10 clases, seis divisiones (*phylum*) y tres reinos. Se observa la mayor abundancia de fitoplancton en el mes de septiembre (30.15%), pero no hay diferencias significativas según la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos ($p = .285$; Tabla 6). En septiembre se observa el mayor porcentaje de abundancia de fitoplancton en RM (25.11%). Los meses de menor abundancia relativa fueron enero (2.84%), febrero (1.07%), marzo (0.48%), abril (2.07%) y mayo (4.59%), (Figura 3). Al analizar la abundancia de fitoplancton por profundidades, se observó que la superficie del lago presentó la mayor abundancia relativa en todos los puntos de muestreo (Figura 5), específicamente en el punto RM (32.90%). BPO fue el único sitio donde se tomó muestra a 5 m de profundidad, en donde se observa menor abundancia (9.29%) que en la superficie (12.53%). En OC y EC se tomaron muestras a 10 y 20 m. En OC se evidencia una disminución de la abundancia relativa de 13.97% a 3.69%, conforme aumenta la profundidad; mientras que en EC se presentó la mayor abundancia de fitoplancton a 10 m de profundidad (7.46%).

Con respecto a la abundancia relativa de los géneros, la cianobacteria *Microcystis* (Figura 4) y *Pseudanabaena* dominaron con 38.41 y 34.99% respectivamente, seguidas por *Merismopedia* con 10.74%, mientras que, la abundancia menor (<0.006%) la presentaron los géneros *Cosmarium*, *Characium*, *Pandorina*, *Closterium*, *Oocystis* y *Snowella* (Tabla 4). BPO, EC, y OC comparten la mayoría de las especies, aunque varían en abundancia, mostrando dominancia de *Pseudanabaena* en los tres sitios (35.16% a 59.12%). Por el contrario RM, presentó menos especies y una predominancia de *Microcystis* con 69.08% (Tabla 4).

Tabla 1
 Parámetros fisicoquímicos de los puntos de muestreo en aguas superficiales (0-0.5m)

Parámetro	EC	OC	BPO	RM
	Promedio (Mínimo -Máximo)	Promedio (Mínimo -Máximo)	Promedio (Mínimo -Máximo)	Promedio (Mínimo -Máximo)
pH	8.9 (7.5-9.5)	8.5 (7.4-9.4)	8.4 (7.8-9.2)	8.4(7.2-9.4)
T (°C)	25.0 (22.1-27.6)	25.6 (22.7-28.8)	25.9 (23.0-29.2)	25.1 (23-28.1)
Cond. (µS/cm)	597.8 (566 -632)	723.4 (652-803)	658.5 (604-760)	734 (657-782)
O ₂ (mg/L)	11.2(0.7-19.4)	8.9 (0.8-17.9)	8.7 (2.0-21.2)	7.8 (0.0-17.1)
Turbidez (NTU)	29.5 (9.0-100)	34.7(3-160)	83.8 (13-450)	79.6 (7-270)
DQO (mgO ₂ /L)	82.1 (27 -256)	69.2 (20 -230)	272.2 (26-2046)	445.8 (31-3545)
PT (mg/L)	0.44 (0.08-2.15)	0.76 (0.41-1.59)	1.68 (0.21-9.78)	2.58 (0.33-18.19)
OrtP (mg/L)	0.11(0.01-0.23)	0.43 (0.21-0.69)	0.13 (0.0 -0.2102)	0.44 (0.1395-0.6869)
NT (mg/L)	4.01 (0.66-25)	3.97 (0.94-14.17)	12.53 (0.65-108.40)	25.05(1-260.03)
Sil (mg/L)	26.45 (18 -32.30)	17.56 (2.40-30.40)	68.70 (54-86.7)	15.81 (0.95-29.4)
SST (mg/L)	38.75 (7 -179)	38.79 (3-189.5)	188.29 (7-1546)	401.21 (7.5-2840)
TDS (mg/L)	309.75(281 -372)	362.58 (326 -414)	333(301-382)	362.50(328-394)
TenA (mg/L)	0.24 (0.09-0.57)	0.28 (0.12-0.41)	0.53 (0.1-2.4)	0.38 (0.13-1.50)
Clor (µg/L)	231.59 (21.36- 1378.84)	122.84 (4.01-369.51)	445.58 (39.5-3447.02)	444.90 (10.64- 1948.05)
IETP	69.47 (64.44-81.57)	70.88 (63.80-75.76)	72.75 (66.73-88.41)	73.60 (63.98-88.18)
ColFec (NMP/100 ml)	13.60 (1.80-33)	6323.94 (180 -24000)	191.11 (1.80-1700)	2032.92 (45-9200)
As (mg/L)	0.02 (0.01-0.03)	0.03 (0.02-0.44)	0.03 (0.02-0.03)	0.03 (0.02-0.04)

Nota. Abreviaturas de parámetros: As: arsénico; Clor: clorofila a; ColFec: coliformes fecales; Cond: conductividad; DQO: demanda química de oxígeno; IETP: índice de estado trófico; NT: nitrógeno total; O₂: oxígeno disuelto; OrtP: ortofosfatos; PT: fósforo total; Sil: Silicatos; SST: Sólidos totales suspendidos; T: temperatura; TDS: sólidos totales disueltos; TenA: tensoactivos. Abreviaturas para puntos de muestreo: Lago de Amatitlán este centro (EC), Lago de Amatitlán oeste centro (OC), bahía Playa de Oro (BPO) y río Michatoya (RM).

Efecto de la calidad del agua sobre la biodiversidad del fitoplancton

El RDA para determinar la relación entre géneros y variables fisicoquímicas explicó en sus dos primeros ejes el 91.8 % de la varianza acumulada (suma de valores propios: 0.763). El RDA expone a *Microcystis* como el género más distante del conglomerado, mostrando una relación directa con PT, DQO, NT y TSS, además de encontrarse mayoritariamente en la superficie del lago (P0). Los géneros *Pseudanabaena* (Pse),

Merismopedia (Mer), *Aphanocapsa* (Apha) y *Synechocystis* (Syn), todos de la clase Cyanophyceae, presentaron una relación inversa con el oxígeno disuelto y directa con las profundidades de 5, 10 y 20 m, es decir, fueron más abundantes que en la superficie. Con respecto a las demás especies, no se observa una diferencia entre las profundidades. *Nitzschia* mostró relación directa con el aumento de pH, mientras que *Rhodomonas*, *Spirulina* y *Closterium* mostraron relación inversa con el mismo. Los demás parámetros fisicoquímicos no presentaron una ordenación explicativa (Figura 6).

Tabla 2

Parámetros fisicoquímicos de los puntos de muestreo a 10 m y 20 m

Parámetro	EC(10m)	EC(20m)	OC(10m)	OC(20m)
	Promedio (Mínimo -Máximo)	Promedio (Mínimo -Máximo)	Promedio (Mínimo -Máximo)	Promedio (Mínimo -Máximo)
pH	8.6 (7.7-9.1)	8.1 (7.7-8.5)	8 (7.4-8.6)	7.7 (7.5-8)
T (°C)	23.2 (21 -24.9)	22.2 (20.8-23.4)	23.4 (21.4-24.9)	22.9 (21.2-24.5)
Cond. (µS/cm)	609 (561 -730)	601.3 (283 -669)	715.9 (667 -773)	722.1(669 -786)
O ₂ (mg/L)	2.6(0.0-7.6)	0.7(0.0-2.5)	0.7 (0.05-3.4)	0.3 (0.1-0.6)
Turbidez (NTU)	9.3 (4 -16)	8.5 (5 -13)	13.9(4 -24)	15.7(9 -24)
DQO (mgO ₂ /L)	38.5 (27 -48)	38.7 (26 -55)	40.6 (18 -51)	38.4 (20 -52)
PT (mg/L)	0.21 (0.09-0.30)	0.32 (0.23-0.39)	0.58 (0.12-0.85)	0.73 (0.49-0.9)
OrtP (mg/L)	0.15(0.03-0.24)	0.27(0.18-0.36)	0.54 (0.32-0.73)	0.63 (0.33-0.79)
NT (mg/L)	1.10 (0.45-2.38)	1.92 (0.78-3.04)	2.90 (1.45-4.70)	3.28 (1.55-4.80)
Sil (mg/L)	27.20 (20.70-32.20)	28.19 (26.10-30.60)	21.53 (9.90-31.40)	22.13 (11.70-30.20)
SST (mg/L)	6.46 (3.00-9)	5 (1.50-10.50)	9.54 (2.50-18)	7.42 (1.50-15.50)
TDS (mg/L)	307.42(282 -366)	313.08(282-363)	359.50 (339.00-388.00)	359.67 (331 -394)
TenA (mg/L)	0.06 (0.19-0.46)	0.13 (0.07-0.24)	0.27(0.15-0.40)	0.28(0.12-0.44)

Nota. Abreviaturas de parámetros: As: arsénico; Clor: clorofila a; ColFec: coliformes fecales; Cond: conductividad; DQO: demanda química de oxígeno; IETP: índice de estado trófico; NT: nitrógeno total; O₂: oxígeno disuelto; OrtP: ortofosfatos; PT: fósforo total; Sil: Silicatos; SST: Sólidos totales suspendidos; T: temperatura; TDS: sólidos totales disueltos; TenA: tensoactivos. Abreviaturas para puntos de muestreo: Lago de Amatitlán este centro (EC), Lago de Amatitlán oeste centro (OC), bahía Playa de Oro (BPO) y río Michatoya (RM).

Tabla 3
Parámetros fisicoquímicos de Bahía Playa de Oro (BPO)
a 5 m

Variable	BPO
	Promedio (Mínimo -Máximo)
pH	8.1 (7.7-8.4)
T (°C)	24.3 (21.8-26.3)
Cond. (µS/cm)	656 (592 -769)
O ₂ (mg/L)	1.5(0.1-4.4)
Turbidez (NTU)	23.3 (7 -56)
DQO (mg O ₂ /L)	49.9 (18 -105)
PT (mg/L)	0.33 (0.15-0.71)
OrtP (mg/L)	0.18(0.04-0.37)
NT (mg/L)	1.68 (0.72-4.93)
Sil (mg/L)	68.78 (51.50-82.30)
SST (mg/L)	17.04 (9-48)
TDS (mg/L)	329.50(304 -382)
TenA (mg/L)	0.31 (0.10-1.19)

Nota. As: arsénico; Clor: clorofila a; ColFec: coliformes fecales; Cond: conductividad; DQO: demanda química de oxígeno; IETP: índice de estado trófico; NT: nitrógeno total; O₂: oxígeno disuelto; OrtP: ortofosfatos; PT: fósforo total; Sil: Silicatos; SST: Sólidos totales suspendidos; T: temperatura; TDS: sólidos totales disueltos; TenA: tensoactivos.

Discusión

En el lago de Amatitlán los valores de oxígeno disuelto indicaron un nivel de anoxia (< 2 mg/L) en profundidades de 5, 10 y 20 m, en todos los sitios muestreados. Esto puede estar sucediendo por el in-

cremento en la producción de materia orgánica que es descompuesta por bacterias heterotróficas, las cuales a su vez aumentan la tasa de consumo de oxígeno. En estas condiciones se aumenta la liberación de fósforo de los sedimentos y los fosfatos (PO₄) se vuelven más inestables y disponibles para el crecimiento de fitoplancton. Así, los niveles de oxígeno pueden controlar la forma y disponibilidad de nutrientes esenciales para las microalgas. En situaciones en las que el nivel de oxígeno disminuye, es posible que los nutrientes se acumulen, permaneciendo disponibles para el fitoplancton y estimulando las floraciones, además de generar mortandad de peces y macroinvertebrados. Consecuentemente, el bajo nivel de oxígeno genera preocupación por la salud interna del lago (Chandra et al., 2013).

Otra variable importante a nivel biológico es la temperatura, Basterrechea (1983) reportó temperatura promedio anual de 20 °C en el lago de Amatitlán, hace 36 años. Las temperaturas reportadas en el presente estudio, fueron de 24 °C en promedio anual. El aumento de la temperatura de las aguas superficiales provoca intensificación de las floraciones de cianobacterias, ya que, estas especies se adaptan rápidamente a altas temperaturas (Basterrechea et al., 2019; Raven & Kübler, 2002). Además, las altas temperaturas aumentan la estabilidad de la columna de agua lo que beneficia a las cianobacterias flotantes al reducir la mezcla vertical y, por ende, el equilibrio competitivo entre el fitoplancton (Huisman et al., 2011). Así mismo, los valores de pH alcalinos, de hasta 9.5, obtenidos en el presente estudio favorecieron el desarrollo de las cianobacterias, ya que, estas tienen la capacidad de transformar los iones bicarbonato y carbonato en dióxido de carbono, y de desarrollar biomásas importantes en ambientes naturalmente alcalinos, también poseen una gran capacidad para absorber dióxido de carbono disuelto, aún en concentraciones muy bajas (Basterrechea et al., 2019; Raven & Kübler, 2002).

Existen otras variables fisicoquímicas determinantes del estado trófico de los cuerpos de agua, e importantes para las poblaciones bióticas, como el NT y PT. En el punto RM se presentó la menor riqueza de fitoplancton (18 géneros) y la mayor abundancia de cianobacterias del género *Microcystis* (69.08%; Tabla 4). Esto puede ser debido a que el desarrollo de los procesos eutróficos por el aumento en la concentración de nutrientes está promoviendo la expansión y persistencia de cianobacterias, por su rápida capacidad adaptativa a las condiciones ecológicas cambiantes (Huisman et al., 2011; Komárek et al., 2013; Paerl & Huisman,

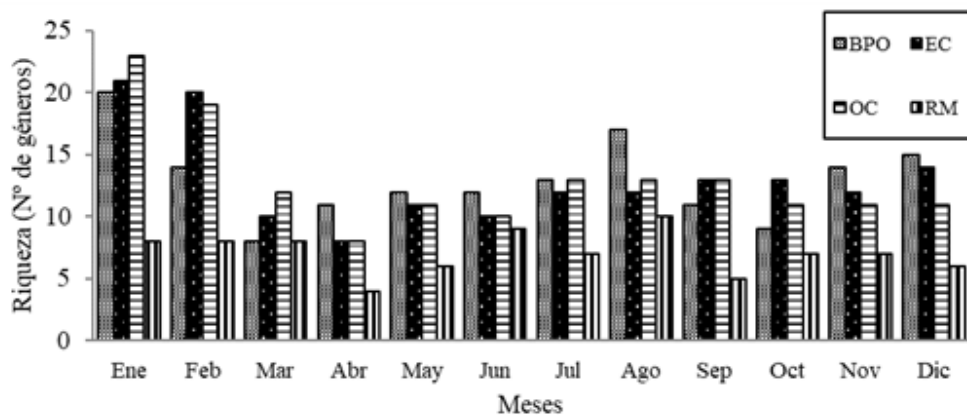


Figura 2. Riqueza expresada en número de géneros por meses y sitios de muestreo. Abreviaturas para puntos de muestreo: Lago de Amatitlán este centro (EC), Lago de Amatitlán oeste centro (OC), bahía Playa de Oro (BPO) y río Michatoya (RM).

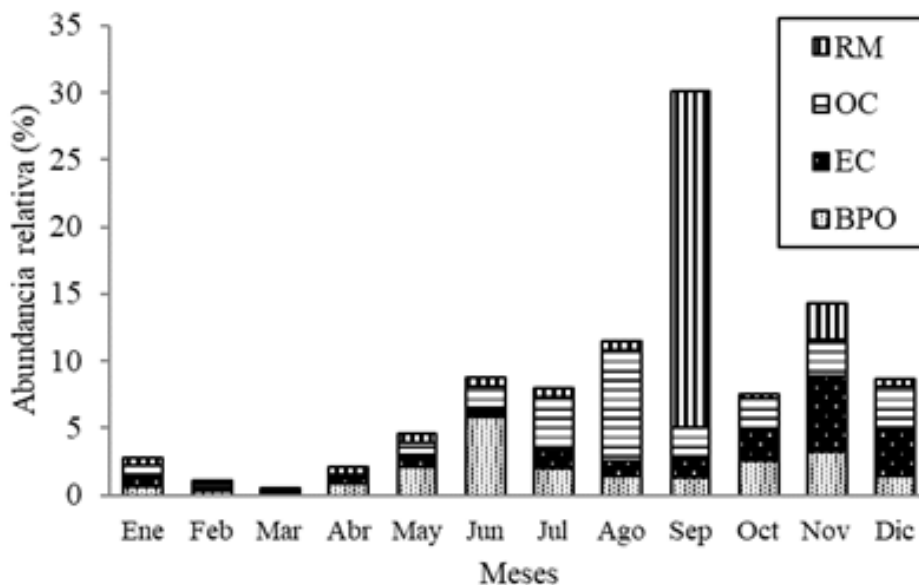


Figura 3. Abundancia relativa de los géneros de fitoplancton encontrado por punto de muestreo y mes del 2017. Abreviaturas para puntos de muestreo: Lago de Amatitlán este centro (EC), Lago de Amatitlán oeste centro (OC), bahía Playa de Oro (BPO) y río Michatoya (RM).

2009). Igualmente, estos procesos de eutrofización tienen por consecuencia la reducción de la biodiversidad del fitoplancton (Fontúrbel, 2005). El IETP (Carlson, 1977) mostró valores entre 63.8 y 88.4 (Tabla 1), lo que determina que el lago de Amatitlán presenta un estado eutrófico a hipereutrófico, probablemente por los vertimientos de aguas residuales industriales y domésticas provenientes de la ciudad de Guatemala (Calderón, 2010).

En los resultados del análisis cuali-cuantitativo de fitoplancton se registraron 34 géneros, mientras que, Díaz (2011) encontró 18 géneros de microalgas en el sector oeste del lago de Amatitlán, y Peckham y Dineen (1953) registraron 38 géneros en el mismo. El sitio BPO presentó la mayor riqueza de microalgas, Díaz (2011) reportó una mejora en la calidad de agua en esta playa, debido a la presencia de vegetación superficial. Entre tanto, EC y OC mostraron una diversidad de fitoplanc-

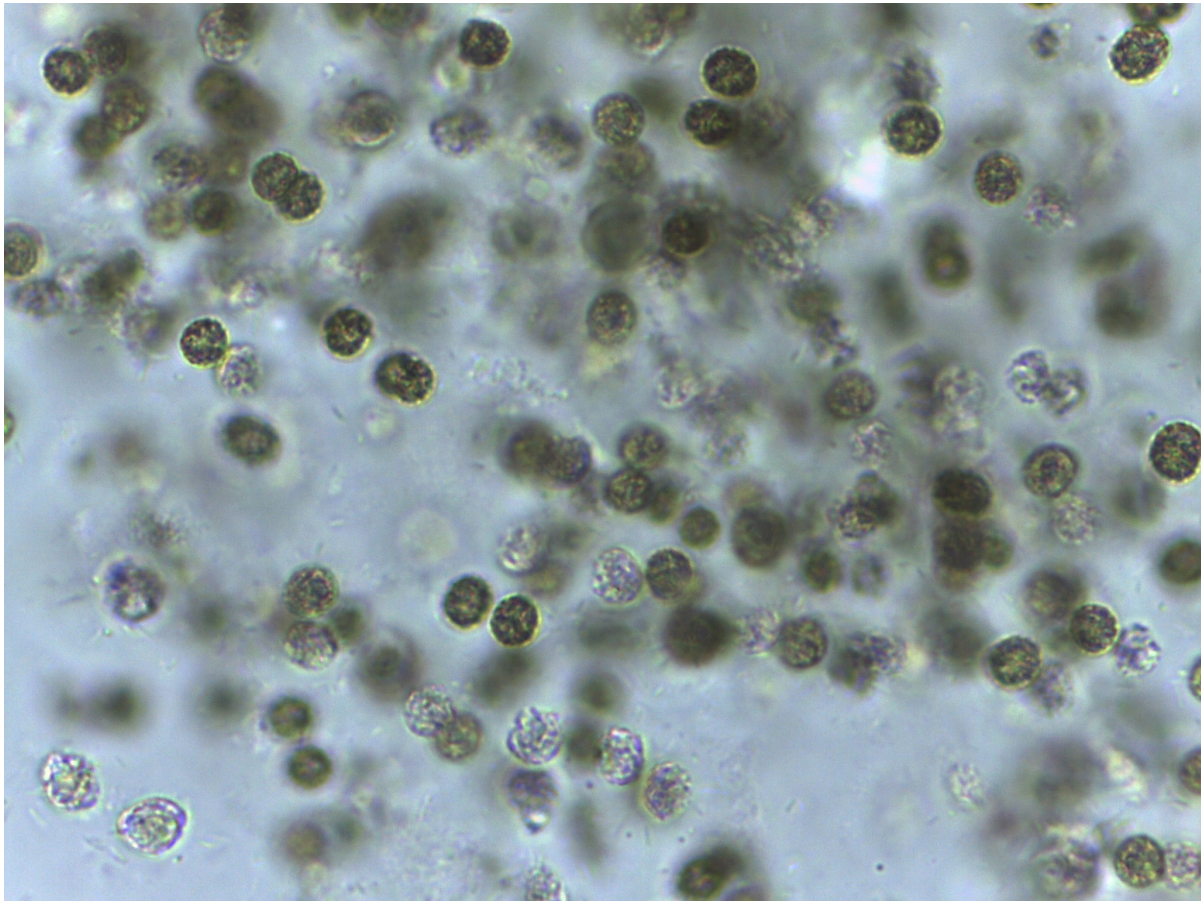


Figura 4. *Microcystis* sp. Foto a 100X, tomada por: Sara Molina.

ton similar, aunque baja en ambos casos. Es posible que la baja riqueza en todos los puntos de muestreo esté relacionada con el aumento de nutrientes debido a descarga de aguas residuales, así se ha demostrado en otros grandes lagos de Guatemala, como el lago de Atitlán (Chandra et al., 2013).

Así mismo, se reportaron 13 géneros de cianobacterias (Tabla 4), mientras que, Peckham y Dineen (1953) reportaron 11 géneros para el lago de Amatitlán, dentro de los cuales no estaba *Microcystis*, el género dominante en el lago actualmente. En estudios más recientes, Calderón (2010) y Díaz (2011) reportaron a las cianobacterias como grupo dominante del fitoplancton del lago de Amatitlán. Sin embargo, las cianobacterias no son las únicas capaces de sobrevivir a estas condiciones ambientales, las algas verdes (Chlorophyta) también están presentes, aunque en menor proporción (0.3% del total del fitoplancton) De estas, el género *Scenedesmus* fue el más abundante (0.026%; Tabla 4),

catalogado con capacidad de remoción de nutrientes y metales pesados, además de poseer adaptación a ambientes residuales en condiciones mixotróficas, por lo que ha sido utilizado en biorremediación (Andrade et al., 2009; Monteiro et al., 2009).

Por otro lado, un componente importante del fitoplancton son las diatomeas, algunas especies son consideradas como bioindicadoras de calidad de agua, en este caso se encontraron tres géneros, que se caracterizan por su alta resistencia y desarrollo en variedad de condiciones tróficas (Denys et al., 2003). Dos de ellas (*Nitzschia* y *Aulacoseira*) son indicativos de aguas ricas en nutrientes, con alta concentración de sólidos totales disueltos y turbidez (Lobo et al., 2015; Taylor et al., 2007). Peckham y Dineen (1953) registraron 11 géneros de diatomeas en el lago de Amatitlán, con dominancia de *Melosira* sp. (54% del total del plancton), pero ninguno coincide con los géneros reportados en este estudio.

Un factor determinante en la composición y estructura del fitoplancton es el periodo hidrológico (Ramírez & Plata-Díaz, 2008; Rodríguez & Bicudo, 2001; Tundisi, 1990). En general los primeros meses del año tuvieron mayor riqueza, esta época corresponde a temporada seca, en la cual, es común encontrar una mayor estabilidad de las comunidades fitoplanctónicas, ya que, factores abrasivos como la velocidad del viento y de la corriente, y el caudal de los afluentes disminuyen (Montoya & Ramírez, 2007; Rodríguez & Bicudo, 2001; Ramírez & Plata-Díaz, 2008). A pesar que se marcan dos estaciones, la seca, que va de noviembre a abril y la lluviosa, entre mayo a octubre, los meses de menor riqueza estuvieron entre marzo y abril siendo aún época seca y los meses más cálidos, y durante septiembre y octubre cuando la época lluviosa va llegando a su fin (Gudiel, 2007).

Las variables climáticas como el viento, las precipitaciones y la turbulencia en la columna de agua, que aumentan en período de lluvias, influyen en la disponibilidad de nutrientes y la radiación solar subacuática de un ecosistema, por lo que se observa una variación en la estructura del fitoplancton (Esteves, 1988). Es otras palabras, en época seca, verano o veranillo, se puede encontrar mayor diversidad de microalgas debido a la mayor incidencia de radiación solar, el poco recambio de agua y la acumulación de materia orgánica y nutrientes, que les permite el aumento de metabolismo, y a su vez, de reproducción celular (Tundisi, 1990).

En RM se presenta un aumento desmedido de abundancia relativa de fitoplancton durante septiembre, llegando a un valor cuatro veces más alto que en el resto de sitios, y hasta 200 veces el valor del promedio de los demás meses en ese mismo sitio (Figura 3). Así mismo, se observan aumentos de abundancia en diferentes meses por cada sitio, que se atribuyen mayoritariamente a proliferaciones de *Microcystis*. Lo que tienen en común los meses donde ocurren dichas proliferaciones son los marcados aumentos de nitrógeno total y fósforo total (datos no mostrados), que aumentan los niveles de eutrofización del lago y son el ambiente propicio para estas cianobacterias (Harke et al., 2012; Chaffin & Bridgeman, 2014).

La baja diversidad de fitoplancton del lago se comprueba con los índices de diversidad calculados de Shannon-Weaver y Simpson (Tabla 5). RM posee los valores más altos de eutrofización (Tabla 1) y los índices más bajos de diversidad (Tabla 5), aunque no se evidencian diferencias significativas ($p > .5$) con respecto a los demás sitios de muestreo (Tabla 6). Este comportamiento se ha demostrado en otros estudios

donde el estado trófico es responsable de la estructura y composición biótica de un ecosistema acuático (Ferrer et al., 2012; Lugioyo et al., 2007).

El índice de diversidad de Shannon (N1) y la dominancia de Simpson indican a los puntos OC y BPO como los de mayor diversidad dentro del lago (Tabla 5), es posible que la marcada dominancia de *Microcystis* esté afectando el valor de estos índices. Los valores de estos índices muestran una baja diversidad de fitoplancton en todos los puntos de muestreo del lago de Amatitlán.

Por su parte, la Equitabilidad de Hill se vio afectada en RM, ya que, es un índice susceptible a especies con dominancia significativa, modificando los valores, y pudiendo generar una interpretación incorrecta (Baev & Penev, 1995). Mientras que, el índice de Pielou mostró a RM como el sitio de menor uniformidad (Tabla 5), en concordancia con los otros índices de diversidad.

Además de la baja riqueza, se observó que el mayor responsable de las floraciones es el género *Microcystis* (38.40% de abundancia relativa). Esta cianobacteria posee mecanismos de adaptación que le permiten dominar en diversos ambientes y condiciones tróficas, tales como: regulación de flotabilidad que le permite moverse verticalmente por la columna de agua en busca de las mejores condiciones; mecanismos celulares para acceder y almacenar nitrógeno y fósforo intracelular; producción de microcistinas, que provocan la muerte de otros microorganismos y así evitan la competencia por nutrientes, luz y espacio (Harke et al., 2016). De igual forma, se reportó la presencia de *Lyngbya* (0.30% de abundancia relativa), otro género productor de cianotoxinas, que junto a *Microcystis* son las responsables de numerosos casos de intoxicación en el mundo (Zacolar & Forastier, 2005).

La otra cianobacteria dominante en el lago fue *Pseudanabaena* (33.60% de abundancia relativa), de este género se tiene menos información disponible. Aunque no suele causar grandes floraciones, se ha reportado como dominante en algunos lagos eutróficos de Latinoamérica (Olvera-Ramírez et al., 2010). *Pseudanabaena* no posee heterocistos para fijación de nitrógeno, pero si presenta vesículas de gas que le permiten moverse por la columna de agua en busca de luz y nutrientes (Damerval et al., 1991). Además, tiene la capacidad de producir cianotoxinas, y otros metabolitos altamente tóxicos para la biota acuática, que puede llegar a modificar la diversidad y dinámica de la cadena trófica (Olvera-Ramírez et al., 2010; Oudra et al., 2002).

Tabla 4

Composición taxonómica y abundancia relativa del fitoplancton colectado en el lago de Amatitlán, por sitios de muestreo. Se agruparon los datos de meses y profundidades

Familia	Géneros	Abundancia relativa (%)				
		BPO	EC	OC	RM	Total
Aphanizomenonaceae	<i>Aphanizomenon</i>	0.283	0.363	0.053	0.000	0.146
	<i>Dolichospermum</i>	0.149	1.646	0.081	0.028	0.387
Aphanothecaceae	<i>Aphanothece</i>	0.055	0.078	0.012	0.000	0.030
Aulacoseiraceae	<i>Aulacoseira</i>	0.551	0.199	0.399	0.009	0.259
Bacillariaceae	<i>Nitzschia</i>	0.203	0.030	0.101	0.049	0.091
Characiaceae	<i>Characium</i>	0.007	0.000	0.002	0.000	0.002
Chlorangiellaceae	<i>Stylosphaeridium</i>	0.003	0.016	0.010	0.000	0.006
	<i>Actinastrum</i>	0.134	0.024	0.182	0.000	0.078
Chlorellaceae	<i>Dictyosphaerium</i>	0.082	0.000	0.000	0.000	0.018
	<i>Micractinium</i>	0.096	0.036	0.000	0.000	0.028
Closteraceae	<i>Closterium</i>	0.006	0.011	0.000	0.009	0.006
Coelosphaeriaceae	<i>Snowella</i>	0.000	0.017	0.002	0.000	0.004
Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i>	0.002	0.000	0.008	0.000	0.002
Dinobryaceae	<i>Chrysococcus</i>	0.008	0.005	0.007	0.000	0.005
Elakatotrichaceae	<i>Elakatothrix</i>	0.113	0.002	0.008	0.000	0.027
Hydrodictyaceae	<i>Tetraedron</i>	0.023	0.028	0.051	0.002	0.024
Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa</i>	3.522	6.061	5.411	2.998	4.312
	<i>Merismopedia</i>	14.575	12.257	11.793	6.690	10.747
Microcoleaceae	<i>Planktothrix</i>	0.094	0.043	0.164	0.005	0.071
Microcystaceae	<i>Microcystis</i>	31.816	10.992	31.382	69.089	38.405

Tabla 4 (Continuación)

Familia	Géneros	Abundancia relativa (%)				
		BPO	EC	OC	RM	Total
Oocystaceae	<i>Chodatella</i>	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000
	<i>Oocystis</i>	0.004	0.001	0.012	0.000	0.004
Oscillatoriaceae	<i>Lyngbya</i>	0.000	0.000	0.117	0.002	0.030
Pseudanabaenaceae	<i>Pseudanabaena</i>	39.506	59.129	35.163	13.882	34.993
Pyrenomonadaceae	<i>Rhodomonas</i>	0.082	0.092	0.073	0.027	0.063
Scenedesmaceae	<i>Scenedesmus</i>	0.093	0.013	0.015	0.000	0.026
	<i>Kirchneriella</i>	0.214	0.063	0.118	0.036	0.100
Selenastraceae	<i>Monoraphidium</i>	0.007	0.012	0.000	0.001	0.004
Spirulinaceae	<i>Spirulina</i>	0.369	0.869	2.100	0.238	0.850
Stephanodiscaceae	<i>Cyclotella</i>	0.056	0.029	0.022	0.019	0.030
Synechococcaceae	<i>Cyanodictyon</i>	3.975	4.834	6.753	3.302	4.601
	<i>Synechocystis</i>	3.949	3.126	5.948	3.616	4.166
Trebouxiophyceae	<i>Crucigenia</i>	0.007	0.024	0.017	0.000	0.010
Volvocaceae	<i>Pandorina</i>	0.016	0.000	0.000	0.000	0.004
Total		100	100	100	100	100

Nota. Abreviaturas para puntos de muestreo: Lago de Amatitlán este centro (EC), Lago de Amatitlán oeste centro (OC), bahía Playa de Oro (BPO) y río Michatoya (RM).

Para evaluar el efecto de la calidad de agua sobre la biodiversidad del fitoplancton se utilizó un análisis de redundancia (RDA). Los tres únicos géneros de diatomeas encontrados en el estudio fueron *Nitzschia* (Nit), *Aulacoseira* (Aul) y *Cyclotella* (Cyc) y mostraron cercanía entre sí en el gráfico de ordenación RDA, asociados positivamente con el aumento de pH y tensoactivos (Figura 6). La diatomea más abundante fue *Nitzschia*, la cual es considerada como indicadora de

una baja calidad de agua por su resistencia a la eutrofización (Lobo et al., 2015). Las diatomeas son un grupo muy diverso dentro de las microalgas, su presencia es común en ambientes conservados, por ello, encontrar solo tres géneros, que son altamente tolerantes a cambios ambientales como el aumento de concentración de nutrientes, es un indicador del impacto antrópico que se está generando (Bicudo et al., 2016; Reynolds, 1984; Vera-Parra et al., 2011).

Tabla 5

Índices de diversidad y números de Hill (1973), calculados con los datos de abundancia absoluta (células/ml) de los géneros de fitoplancton encontrados en el lago de Amatitlán, durante 2017

Sitios de muestreo	Riqueza	Shannon	Simpson	Equitabilidad de Hill	Pielou
	(N0)	(N1)	(N2)		
BPO	31	4.909	1.381	0.281	0.463
EC	29	4.096	1.626	0.397	0.419
OC	29	5.155	1.346	0.261	0.487
RM	18	3.010	1.969	0.654	0.381

Nota. Abreviaturas para puntos de muestreo: Lago de Amatitlán este centro (EC), Lago de Amatitlán oeste centro (OC), bahía Playa de Oro (BPO) y río Michatoya (RM).

Tabla 6

Pruebas de significancia estadística de la composición y diversidad del fitoplancton del Lago de Amatitlán

Índice	Valor-P	Prueba
Riqueza	8.85E-05	ANOVA
Riqueza sin RM	0.9819	ANOVA
Abundancia	0.2857	Kruskal-Wallis
Shannon-W	0.3251	ANOVA
Simpson	0.5674	ANOVA
Pielou	0.2585	ANOVA

Para el caso del análisis RDA de cianobacterias, los géneros agrupados entre sí (*Pseudanabaena*, *Merismopedia*, *Aphanocapsa* y *Synechocystis*) tienen en común ser productores de cianotoxinas. Por otra parte, *Microcystis*, muestra relación directa con el aumento de nutrientes como nitrógeno total, fósforo total y demanda química de oxígeno (Figura 6), confirmando su adaptación a condiciones eutróficas. De igual manera, la profundidad se observa como una variable explica-

tiva ya que en la parte superficial del lago se encuentra la mayor concentración de *Microcystis*, mientras que, en zonas más profundas se encuentran la mayor abundancia de las demás cianobacterias. Probablemente, la capacidad de migración vertical de *Microcystis*, hacia la superficie en busca de luz o hacia zonas más profundas para obtener nutrientes, le permite una ventaja adaptativa sobre las demás cianobacterias (Harke et al., 2016).

En conclusión, los aumentos de coliformes fecales, DQO, NT y PT, potencian las proliferaciones de cianobacterias en el lago de Amatitlán, al igual que lo reportado por Paerl y Huisman (2009) en otros sistemas. Los altos niveles de eutrofización y el consecuente aumento de cianobacterias tóxicas están generando problemáticas ambientales en este lago, al igual que en ecosistemas acuáticos de todo el mundo (Harke et al., 2012), por lo que es necesario conocer las causas y consecuencias del problema y establecer posibles soluciones. Como indicadores biológicos de la contaminación del lago de Amatitlán se encontraron la dominancia de *Microcystis*, la baja diversidad de diatomeas, la presencia de fitoplancton adaptado a procesos de eutrofización, como *Nitzschia* y *Scenedesmus*, y la alta concentración de coliformes fecales.

En este estudio encontramos la presencia de *Scenedesmus*. Algunas especies de este género poseen capacidad de remover nitratos, fosfatos, materia orgánica (Chacón et al., 2004; Parra & Villanueva, 2012) y metales pesados (Monteiro et al., 2009), se

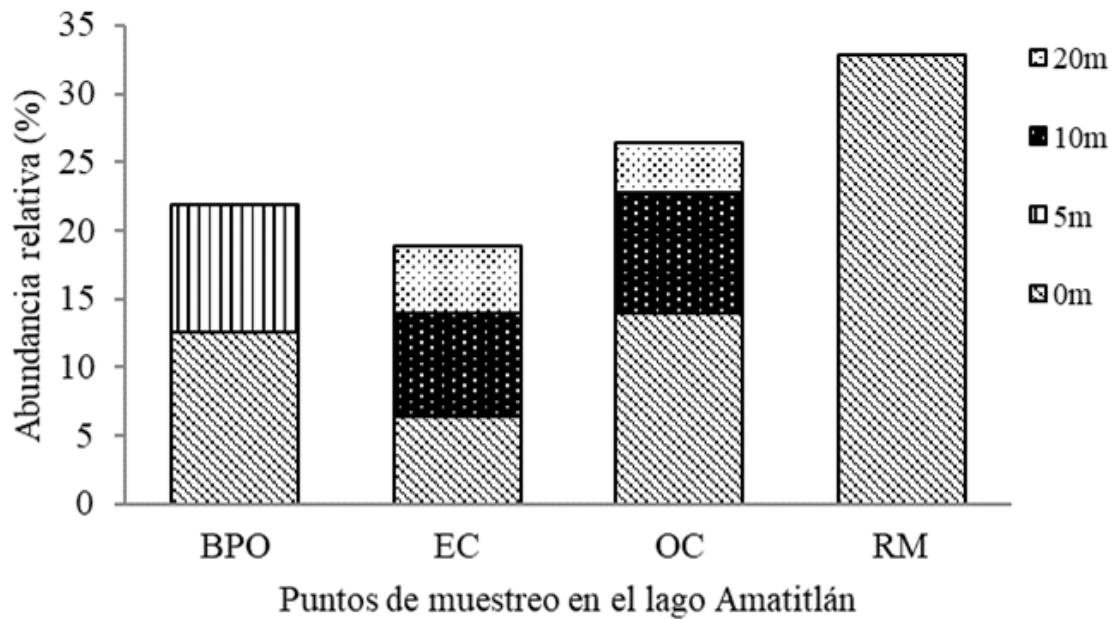


Figura 5. Abundancia relativa de los géneros de fitoplancton a diferentes profundidades, por sitio de muestreo.

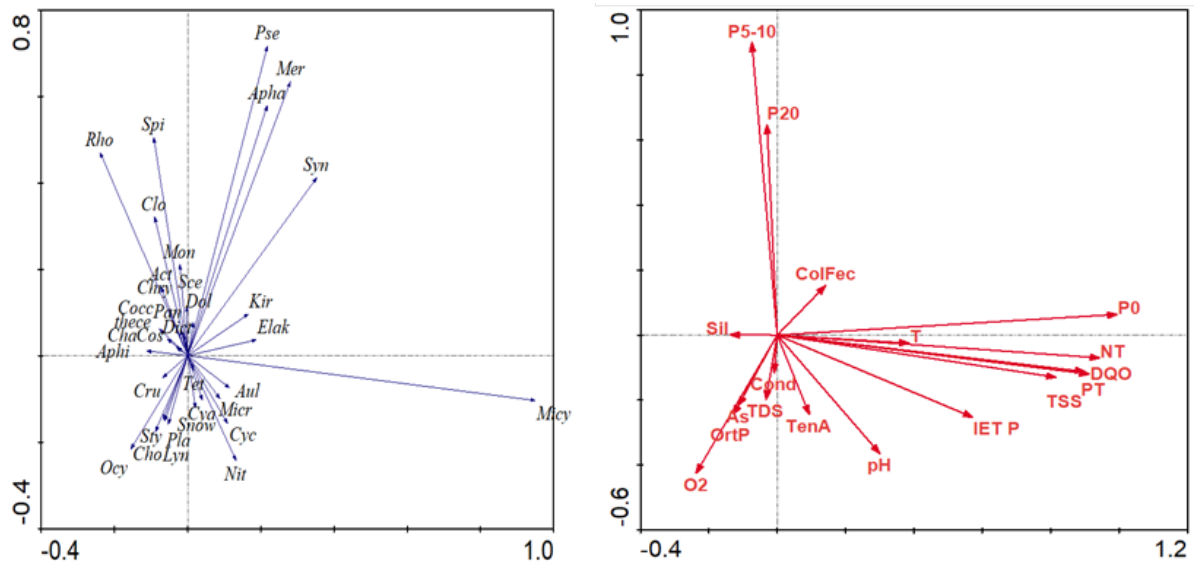


Figura 6. Análisis de redundancia (RDA) de los géneros de microalgas con respecto a las variables ambientales reportadas en el lago de Amatitlán durante el 2017. Abreviaturas de parámetros: As: arsénico; Clor: clorofila a; ColFec: coliformes fecales; Cond: conductividad; DQO: demanda química de oxígeno; IETP: índice de estado trófico; NT: nitrógeno total; O₂: oxígeno disuelto; OrtP: ortofosfatos; PT: fósforo total; Sil: Silicatos; SST: Sólidos totales suspendidos; T: temperatura; TDS: sólidos totales disueltos; TenA: tensoactivos. Abreviaturas de géneros de fitoplancton: Actinastrum: Act; Cyanodictyon: Cya; Nitzschia: Nit; Aphanizomenon: Aphi; Cyclotella: Cyc; Oocystis: Ocy; Aphanocapsa: Apha; Dictyosphaerium: Dict; Pandorina: Pan; Aphanothece: thece; Dolichospermum: Dol; Planktothrix: Pla; Aulacoseira: Aul; Elakatothrix: Elak; Pseudanabaena: Pse; Characium: Cha; Golenkinia: Gol; Rhodomonas: Rho; Chodatella: Cho; Kirchneriella: Kir; Scenedesmus: Sce; Chrysococcus: Chry; Lyngbya: Lyn; Snowella: Snow; Closterium: Clo; Merismopedia: Mer; Spirulina: Spi; Coccoid cell: Cocc; Micractinium: Micr; Stylosphaeridium: Sty; Cosmarium: Cos; Microcystis: Micy; Synechocystis: Syn; Crucigenia: Cru; Monoraphidium: Mon; Tetradron: Tet.

recomienda continuar con la búsqueda de otras especies con potencial para biorremediación en el lago de Amatitlán, y realizar ensayos que comprueben dicha capacidad. Igualmente, se debe tener más control sobre las aguas residuales que llegan al lago y así mitigar la eutrofización que se está presentando actualmente.

Agradecimientos

A Amed Juárez, Director de Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA), a Manuel Cano, Jefe de la División de Control, Calidad Ambiental y Manejo de Lagos y a todos sus colaboradores en el Laboratorio y en la Estación Acuática en especial a Julio R. Juárez, Elena Reyes, Alicia Toledo y Marlon Alonzo. A Sara Molina profesora de la Universidad Mariano Gálvez.

Referencias

- Andrade, C., Vera, A., Cárdenas, C., & Morales, E. (2009). Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 32(2), 126-134.
- Baev, P. V., & Penev, L. D. (1995). BIODIV: Program for calculating biological diversity parameters, similarity, niche overlap, and cluster analysis. Versión 5.1. Pensoft, Sofia, Bulgaria.
- Basterrechea, M. (September 1983). Modelo para Estimar la calidad del Agua en los Lagos: El Lago de Amatitlán. 187-202. *Proceedings of the Tegucigalpa Hydromath Symposium*. (IAHS Publ. No. 152). Recuperado de http://hydrologie.org/redbooks/a152/iahs_152_0187.pdf
- Basterrechea, M., Dix, M., van Tuylen, S., Méndez, Á., Díaz, L., Mayorga, P., & Gil, N. (2019). Calidad del agua en Guatemala. En *Calidad del Agua en las Américas riesgos y oportunidades* (pp. 375-392). IANAS. Recuperado de <https://www.ianas.org/images/books/wb09.pdf>
- Bellinger, E. G., & Sigeo, D. C. (2015). *Freshwater Algae: Identification, enumeration and use as bioindicators* (2nd. ed.). Manchester, UK: Wiley-Blackwell.
- Bicudo, D. C., Tremarin, P. I., Almeida, P. D., Zorzal-Almeida, S., Wengrat, S., Faustino, S. B., ... Morales, E. A. (2016). Ecology and distribution of *Aulacoseira* species (Bacillariophyta) in tropical reservoirs from Brazil. *Diatom Research*, 31(3), 199-215. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2016.1227376>
- Calderón, I. M. (2010). *Green movement against Green water: Using green infrastructure strategies in the lake Amatitlán watershed to promote environmental education in Guatemala Honors* (Tesis de doctorado). Cornell University, Ithaca, New York.
- Carlson, R. E. (1977). A trophic state index for lakes 1. *Limnology and Oceanography*, 22(2), 361-369. <https://doi.org/10.431/lo.1977.22.2.0361>
- Chacón, C., Andradel, C., Cárdenas, C., Araujo, I. & Morales, E. (2004). Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 38(2), 94-108.
- Chaffin, J. D., & Bridgeman, T. B. (2014). Organic and inorganic nitrogen utilization by nitrogen stressed cyanobacteria during bloom conditions. *Journal of Applied Phycology*, 26, 299-309. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0118-0>
- Chandra, S., Dix, M., Rejmánková, E., Mosquera, V., Girón, N., & Heyvaert, A. (2013). El estado ecológico actual del Lago Atitlán y el impacto de la entrada de aguas residuales: Recomendación para exportación de las aguas residuales de la cuenca para restaurar el lago. Recuperado de <http://agualimpiaya.org/wp-content/uploads/2019/01/Reporte-Cientifico-2013x-1.pdf>
- Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., Eaton, A. D., Rice, E. W., & Franson, M. A. H. (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (No. 628.161 S7/2005). Washington, DC: American Public Health Association.
- Cronberg, G., & Annadotter, H. (2006). *Manual on aquatic cyanobacteria: A photo guide and a synopsis of their toxicology*. Copenhagen: International Society for the Study of Harmful Algae-United Educational, Scientific and Cultural Organization.

- Damerval, T., Castets, A. M., Houmard, J., & De Marsac, N. T. (1991). Gas vesicle synthesis in the cyanobacterium *Pseudanabaena* sp.: Occurrence of a single photoregulated gene. *Molecular Microbiology*, 5(3), 657-664. <https://doi.org/10.1111/j.1365.2958.199.tb00737.x>
- Denys, L., Muylaert, K., Krammer, K., Joosten, T., Reid, M., & Rioual, P. (2003). *Aulacoseira subborealis* stat. nov. (Bacillariophyceae): A common but neglected plankton diatom. *Nova Hedwigia*, 77(3/4), 407-427. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2003/0077-0407>
- Díaz, J. M. (2011). *Evaluación de pre-factibilidad técnico-económica de las potencialidades energéticas de las microalgas que contaminan el lago Amatitlán para la obtención de biodiesel* (Fodecyt No. 049-2009). Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Universidad Galileo.
- Esteves, F. (1988). *Fundamentos de Limnología*. Río de Janeiro, Brasil: Interciencia.
- Falconer, I. R. (2005). Is there a human health hazard from microcystins in the drinking water supply? *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 33(1), 64-71. <https://doi.org/10.1002/ahch.200300551>
- Ferrer, N. C., Cony, N. L., Fornerón, C. F., & Piccolo, M. C. (2012). Caracterización del fitoplancton y estado trófico de la laguna Sauce Grande (Provincia de Buenos Aires, Argentina) en el otoño de 2010. *Biología Acuática*, 27, 129-141
- Fontúrbel, F. (2005). Indicadores físicoquímicos y biológicos del proceso de eutrofización del Lago Titikaka (Bolivia). *Ecología Aplicada*, 4(1-2), 135-141.
- Gómez, L. M. (2007). Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, 19(2), 3-20.
- Gómez, L., Larduet, Y., & Abrahantes, N. (2001). Contaminación y biodiversidad en ecosistemas acuáticos. El fitoplancton de la bahía de Santiago de Cuba. *Revista de Investigaciones Marinas*, 22(3), 191-197.
- Gudiel, D. (2007). *Evaluación del efecto de la aireación artificial para mejorar la calidad del agua en el lago de Amatitlán*. (Tesis de pregrado). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala
- Hammer, Ø., Harper, D. A., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 9.
- Harke, M. J., Berry, D. L., Ammerman, J. W., & Gobler, C. J. (2012). Molecular response of the bloom-forming cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to phosphorus limitation. *Microbiology Ecology*, 63(1), 188-198. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9894-8>
- Harke, M. J., Steffen, M. M., Gobler, C. J., Otten, T. G., Wilhelm, S. W., Wood, S. A., & Paerl, H. W. (2016). A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae*, 54, 4-20. <https://doi.org/10.1017/j.hal.2015.12.007>
- Henriques, M., Silva, A., & Rocha, J. M. (2007). Extraction and quantification of pigments from a marine microalga: A simple and reproducible method. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology Formatex*, 2, 586-593.
- Hill, M. O. (1973). Diversity and evenness: A unifying notation and its consequences. *Ecology*, 54, 427-432. <http://doi.org/10.1590/S0100-84042001000300001>
- Huisman, J., Paerl, H. W., Joehnk, K., Van de Waal, D. B., Visser, P. M., & Verspagen, J. M. (2011). Harmful cyanobacteria: Favored by global warming but suppressed by rising CO₂? *8th APGC Symposium, Groningen, the Netherlands*.
- Jost, L. (2006). Entropy and diversity. *Oikos*, 113(2), 363-375. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14714.x>
- Komárek, J., Zapomělová, E., Šmarda, J., Kopecký, J., Rejmánková, E., Woodhouse, J., ... & Komarkova, J. (2013). Polyphasic evaluation of *Limnographis robusta*, a water-bloom forming cyanobacterium from Lake Atitlán, Guatemala, with a description of *Limnographis* gen. nov. *Fottea*, 13(1), 39-52. <https://doi.org/10.5507/fot.2013.004>
- Komárková, J., Montoya, H., & Komárek, J. (2016). Cyanobacterial water bloom of *Limnographis robusta* in the Lago Mayor of Lake Titicaca. Can it develop? *Hydrobiologia*, 764(1), 249-258. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2298-x>

- Leps, J., & Smilauer, P. (2003). *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*. New York: Cambridge University Press.
- Lobo, E. A., Schuch, M., Heinrich, C. G., da Costa, A. B., Düpont, A., Wetzel, C. E., & Ector, L. (2015). Development of the Trophic Water Quality Index (TWQI) for subtropical temperate Brazilian lotic systems. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(6), 354. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4586-3>
- Lucena, E. (2008). Aspectos sanitarios de las cianotoxinas. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 8, 291-302.
- Lugioyo, G. M., Miravet M. E., Pérez R., Álvarez C., & Espinosa G. (2007). Evaluación del estado trófico de las aguas oceánicas adyacentes al sur de Cuba a partir de indicadores microbiológicos y fitoplanctónicos. *Revista de Investigaciones Marinas*, 28(3), 201-207.
- Michels, A., Lloyd, M., Woeller, R., Dionne, J. F., Grande, L., Sorto, M., & Basterrechea, M. (2014). Sedimentation and life expectancy of lake Amatitlán, Guatemala: increased vulnerability under future climate change. En *International Perspectives on Climate Change* (pp. 47-60). Cham: Springer,
- Monteiro, C. M., Castro, P. M. L., & Malcata, F. X. (2009). Use of the microalga *Scenedesmus obliquus* to remove cadmium cations from aqueous solutions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(9), 1573-1578. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0046-y>
- Montoya, Y., & Ramirez, J. (2007). Variación estructural de la comunidad perifítica colonizadora de sustratos artificiales en la zona de ritral del río Medellín, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 55(2), 585-593.
- Müller, R., & Weidemann. (1955). Die Bestimmung des Nitrats in Wasser. *Jahrbuch für Wasserchemie und Wasserreinigungstechnik. Verlag Chemie, Reinbek*, 12, 247-271
- Murillo, M. O., Villanueva, R. A., Morales, R. H., & Heredia, J. D. S. (2010). Evolución trófica de un lago tropical hiposalino en México con base al fitoplancton. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*, 12(2), 75-81.
- nitrogen-stressed cyanobacteria during bloom conditions. *Journal of Applied*
- Olvera-Ramírez, R., Centeno-Ramos, C., & Martínez-Jerónimo, F. (2010). Efectos tóxicos de *Pseudanabaena tenuis* (Cyanobacteria) en los cladóceros *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia*. *Hidrobiológica*, 20(3), 203-212.
- Oudra, B., Loudiki, M., Vasconcelos, V., Sabour, B., Sbiyyaa, B., Oufdou, K., & Mezrioui, N. (2002). Detection and quantification of microcystins from cyanobacteria strains isolated from reservoirs and ponds in Morocco. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(1), 32-39. <https://doi.org/10.1002/tox.10029>
- Paerl, H. W., & Huisman, J. (2009). Climate change: A catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*, 1(1), 27-37. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x>
- Parra, A. L. R., & Villanueva, R. O. C. (2012). Bioremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1), 71-79. <https://doi.org/10.24054/01204211.v1.n1.2012.50>
- Peckham, R. S., & Dineen, C. (1953). Summer Plankton of Lake Amatitlan, Guatemala. *The American Midland Naturalist*, 50(2), 377-381. <https://doi.org/10.2307/2422095>
- Platarotí, M. C., & Patiño, P. (2010). *Caracterización de la calidad del agua de una sección del Río Luján: Efectos sobre el fitoplancton* (Tesis de licenciatura). Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Prosperi, C., Rodríguez, C., Pierotto, M., Mancini, M., Daga, C., & Gonella, M. (2005). Evaluación de la contaminación y eutrofización de aguas superficiales de la provincia de Córdoba. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 2(7), 4.
- Quiroz, H., Mora, L. M., Molina, I., & García, J. (2004). Variación de los organismos fitoplanctónicos y la calidad del agua en el lago de Chapala, Jalisco, México. *Acta Universitaria*, 14(1), 47-58.
- Ramírez, A. M., & Plata-Díaz, Y. (2008). Diatomeas perifíticas en diferentes tramos de dos sistemas lóticos de alta montaña (Páramo de Santurbán, Norte de Santander, Colombia) y su relación con las variables ambientales. *Acta Biológica Colombiana*, 13(1), 199-216.

- Raven, J. A., & Kübler, J. E. (2002). New light on the scaling of metabolic rate with the size of algae. *Journal of Phycology*, 38(1), 11-16. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.01125.x>
- Reynolds, C. S. (1984). *The ecology of freshwater phytoplankton*. New York, USA: Cambridge University Press.
- Rodrigues, L., Bicudo, D. C., & Moschini-Carlos, V. (2003). O papel do perifiton em áreas alagáveis e nos diagnósticos ambientais. En S. M. Thomza & L. M. Bini (Eds.), *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas* (pp. 211-230). Maringá: Eduem.
- Rodriguez, L., & Bicudo, D. de C. (2001). Similarity among periphyton algal communities in a lentic-lotic gradient of the upper Paraná river floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 24(3), 235-248.
- Romero-Oliva, C. S., Contardo-Jara, V., Block, T., & Pflugmacher, S. (2014). Accumulation of microcystin congeners in different aquatic plants and crops—A case study from lake Amatitlán, Guatemala. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 102(1), 121-128. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.01.031>
- Taylor, J. C., Harding, W. R., & Archibald, C. G. M. (2007). *An illustrated guide to some common diatom species from South Africa*. Pretoria: Water Research Commission.
- Tundisi, J. G. (1990). Distribuição espacial, seqüência temporal e ciclo sazonal do fitoplâncton em represas: Fatores limitantes e controladores. *Revista Brasileira de Biologia*, 50(4), 937-955.
- Vera-Parra, N. F., Marciales-Caro, L. J., Otero-Paternina, A. M., Cruz-Casallas, P. E., & Velasco-Santamaría, Y. M. (2011). Impacto del agua asociada a la producción de una explotación petrolera sobre la comunidad fitoperifítica del río Acacias (Meta, Colombia) durante la temporada de lluvias. *Orinoquia*, 15(1), 31-40.
- Zacolar, Y. & Forastier, M. E. (2005). Biodiversidad de Cyanophyceae (Cyanobacteria) y especies toxigénicas del litoral fluvial argentino. *Miscelánea*, 14, 213-228.

Suplementación de vacas en lactación con *Crescentia alata* Kunth más urea

Supplementation of cows in lactation with Crescentia alata Kunth plus urea

Edgardo A. Menéndez-López, Pablo H. Morales-Acevedo, Nery W. Galdámez-Cabrera,

Mario R. Suchini-Ramírez*

Carrera de Zootecnia del Centro Universitario de Oriente (Cunori),
Universidad de San Carlos de Guatemala (Usac)

*Autor al que se dirige la correspondencia: mrsuchini@yahoo.es

Recibido: 29 de agosto 2018 / Revisión: 16 de enero 2020 / Aceptado: 16 de marzo 2020

Resumen

La escasez de recursos alimenticios en época seca afecta negativamente la producción lechera del hato bovino. El fruto de morro (*Crescentia alata* Kunth) es una opción en la zona oriental de Guatemala para la suplementación de vacas en lactación. Se evaluó el efecto del morro fresco más urea sobre el consumo total de materia seca (MS) del suplemento y la producción de leche total vaca/día, aplicándose el diseño cuadrado latino en sobre cambio con cuatro tratamientos y tres repeticiones, utilizándose 12 vacas encastadas de doble propósito, en el cuarto parto y el segundo mes de lactación con promedio de 8 kg leche/día. Los tratamientos fueron: TI = napier morado picado (3.12 kg MS), alimento balanceado comercial (1.21 kg MS) y melaza; TII = TI más morro (1.0 kg MS), TIII = TII más urea (0.1 kg) y TIV = TI más morro (2.0 kg MS) más urea (0.1 kg). Después de 60 días, se observó un efecto sustitutivo parcial y un efecto descendiente sobre el consumo de MS de napier morado, respectivamente. Así mismo, se observó un incremento en el consumo total de MS del suplemento cuando se aumentaron los niveles de morro, no así al adicionar urea en la misma. La producción de leche aumentó significativamente cuando se incrementaron los niveles de morro. Sin embargo, a un mismo nivel de morro, la inclusión de urea causó una reducción baja (3%) pero significativa ($p < .001$) sobre el consumo de MS total del suplemento.

Palabras claves: Alimentación, urea, vacas, producción, leche

Abstract

The shortage of food resources in the dry season negatively affects the milk production of the herd. The fruit of morro (*Crescentia alata* Kunth) is an option in the eastern region of Guatemala for the supplementation of cows in lactation. The effect of the use of fresh morro plus urea on the total Dry Matter consumption (DM) of the supplement and the production of total milk of cows/day. A Latin Square statistical design was used with four treatments and three replications, using 12 crossbreed cows in the fourth childbirth and the second month of lactation with an average production of 8 kg milk/day. The treatments were: TI = minced purple napier (3.12 kg DM), commercial balanced feed (1.21 kg DM) and molasses; TII = TI plus nose (1 kg DM), TIII = TII plus urea (0.1 kg) and TIV = TI plus morro (2 kg MS) plus urea (0.1 kg). After 60 days, a partial replacement effect and a decreasing effect on the consumption of purple napier DM were observed, respectively. Likewise, an increase in the total consumption of DM of the supplement was observed when the morro levels were increased, but not when urea was added to it. Milk production increased significantly when morro levels increased. However, at the same morro level, the inclusion of urea caused a low (3%) but significant ($p < .001$) reduction on the total DM consumption of the supplement.

Keywords: Feeding, urea, cows, production, milk



Introducción

La prolongada época seca que generalmente oscila entre los seis y los siete meses es la principal limitante que atraviesan los ganaderos de la región oriental de Guatemala para la producción de leche (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, 2012; Sepúlveda & Muhammad, 2009). En este período, la disponibilidad de forraje es escasa y de mala calidad, disminuyendo considerablemente en comparación con la época lluviosa (Preston & Leng, 1990). Esto ocasiona a los ganaderos pérdidas económicas, ya que deben mantener sus hatos utilizando mayor cantidad de alimentos balanceados comerciales, los cuales tienen un alto precio, reduciendo con ello las utilidades (Gutiérrez & Häubi, 2010). La búsqueda de alternativas alimenticias que mejoren la situación actual de la ganadería lechera en la región es necesaria para mejorar la productividad de las mismas (Pallares, 2016).

Por otra parte, los productores de la región no han adoptado nuevas tecnologías que contribuyan a mejorar la problemática en cuanto a alimentación en época seca (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [CONACyT], 2015), tales como el uso de ensilaje y la henuficación de diferentes forrajes, que permitan mejorar la disponibilidad y calidad nutricional de alimento (Sepúlveda & Muhammad, 2009). Estas tecnologías pueden utilizarse durante la época lluviosa donde la abundancia de forrajes lo permite, garantizando con ello la concentración de los nutrientes y la oferta de estos para la dieta base de las vacas en la época antes mencionada (Pirela et al., 2010). Además, algunas formas de suplementación como el uso de urea no son practicadas, principalmente, por el desconocimiento de la forma de utilizarlas sin que causen daños a los animales (López, 1995).

La conservación de forrajes o la utilización de otras alternativas alimenticias para la época de escasez a través del uso de las diferentes tecnologías, permitiría mejorar el balance energético proteico en la dieta de las vacas en producción de leche de la zona. Así mismo, Zamora y colaboradores (2001) indican que existe disponibilidad de varios recursos alimenticios que se utilizan como suplemento para vacas en producción, entre los cuales tenemos el fruto de morro (*Crescentia alata* Kunth) que es utilizado actualmente en la época seca. Los árboles del género *Crescentia* de la familia Bignoniácea, son abundantes en el bosque seco tropical. También recibe otros nombres comunes en toda América como: jícara, jícara o morro entre ellos; se caracterizan por presentar una forma irregular, copa ligera y muchos intersticios entre las ramas y siguen

un patrón dicotómico en su tronco (Jarquín, 2012; Jiménez, 2008). Figueroa y Bressani (2000) indican que la composición química del fruto de morro en cuanto a proteína cruda de la pulpa más semilla es de 18.6%, en la pulpa de 12.9% y en la semilla de 26.4%. En tanto que, la semilla muestra el mayor contenido de extracto etéreo (39.9%) y la pulpa es la fracción que contiene mayor cantidad de cenizas (8.1% en base seca). Así mismo, Rojas-Rodríguez (2014) evaluaron la composición nutricional del ensilado de frutos (pulpa más semilla) del *C. alata*, determinando que el contenido de proteína cruda fue del 15.5%, extracto etéreo el 13.8%, la fibra detergente neutro de 53% y la fibra detergente ácido de 40.5% con un pH de 4.1. El uso del fruto de morro como alimento para ganado se puede dar en forma de harina de pulpa, harina de pulpa más semilla seca (Jochims, 2008) y en fresco (Olivares-Pérez et al., 2018) y como ensilado de frutos (Rojas-Rodríguez, 2006). La utilización de la pulpa y semilla del morro en fresco constituye una opción alimenticia para superar la limitante energética proteica en la dieta de los rumiantes durante la época seca y a bajo costo (Salinas, 2013).

El costo del fruto de morro es relativamente bajo, dado que los árboles crecen en los potreros en forma silvestre sin que se invierta dinero para su cosecha. Sin embargo, es necesario conocer la mejor forma de utilizarlo para optimizar el uso de este recurso dentro de las ganaderías (Solares, 2004).

Por lo anteriormente expuesto, se evaluó la factibilidad biológica de utilizar el fruto maduro de morro, solo y con urea como suplemento para vacas doble propósito en lactación en la época seca, en términos de consumo de suplemento (kg MS vaca/día) y producción de leche total (kg vaca/día), en el municipio y departamento de Chiquimula, por un período de dos meses (marzo y abril).

Materiales y métodos

El estudio se realizó en la finca Ticantó, ubicada en la aldea Petapilla del municipio de Chiquimula, Guatemala. Se utilizaron 12 vacas encastadas de Holstein – Brown Swiss con razas cebuinas, propias del sistema de explotación de doble propósito del área oriental de Guatemala, en el cuarto parto y el segundo mes de lactación y con promedio de 8 kg vaca/día de leche. Los tratamientos evaluados fueron las suplementaciones ofrecidas a razón de TI = napier morado (*Pennisetum purpureum* Schumacher) picado (3.12 kg MS), alimento balanceado comercial (1.21 kg MS) y melaza; TII =

TI más morro (1.0 kg MS), TIII = TII más urea (0.1 kg) y TIV = TI más morro (2.0 kg MS) más urea (0.1 kg). El fruto de morro se cortó de forma manual para su maduración y se colocó en lugar fresco, seco y sombreado. Previo al inicio de la investigación, las vacas se adaptaron al consumo de nitrógeno no proteico (urea 46%) por un período de 21 días, suministrándoseles por períodos de siete días las cantidades de 0.028, 0.057 y 0.100 kg vaca/día, respectivamente.

El manejo de las vacas se dio en tres momentos durante el día, en el ordeño por la mañana, ofreciéndose 0.40 kg en MS de alimento balanceado comercial; posteriormente, trasladadas a pastoreo durante la mañana, por un período de ocho horas en potreros con poca disponibilidad de forraje y de mala calidad, finalmente son trasladadas al establo para la suplementación con los tratamientos evaluados. Los terneros permanecieron con las vacas por un período de 4 h al día, inmediatamente después del ordeño. La suplementación se ofreció por la tarde. Las vacas fueron sujetadas en su respectivo comedero. Al momento de la suplementación, se completó la ración de alimento balanceado comercial para todos los tratamientos a razón de 0.81 kg de MS vaca/día, de la misma forma, se ofrecen los 3.12 kg de MS de napier morado picado y se agrega los 0.50 kg vaca/día de melaza. Esta suplementación se consideró como el tratamiento I y la base de los tratamientos II, III y IV, respectivamente. Los últimos completados con las cantidades de morro fresco (pulpa más semilla) y urea, descritas anteriormente.

La investigación tuvo una duración de 60 días, divididos en cuatro períodos de 15 días cada uno, distribuidos en nueve días para la adaptación al cambio de dieta y seis días para la toma de datos. El diseño experimental utilizado fue un cuadrado latino de sobrecambio replicado tres veces. La unidad experimental la constituyó una vaca, la cual fue expuesta a todos los tratamientos siguiendo una secuencia determinada aleatoriamente. Los períodos de tiempo constituyeron las hileras de los cuadrados y las vacas las columnas. El modelo estadístico utilizado fue: $Y_{ijkl} = \mu + C_i + P_j + A(C)_{ik} + D_l + \epsilon_{ijkl}$. Los resultados obtenidos para cada una de las variables evaluadas fueron sometidos a un Análisis de Varianza (Andeva), además, se realizaron contrastes ortogonales para establecer el efecto de la inclusión del fruto de morro fresco (1 kg MS), así como, uno que permitió determinar el efecto de la inclusión de nitrógeno no proteico (urea 46%) con el morro fresco, y por último, un contraste que permitió establecer el efecto de duplicar el nivel de inclusión de morro fresco con el mismo nivel de nitrógeno no proteico,

sobre la variable consumo de MS total del suplemento, respectivamente. Así mismo, se realizaron análisis de regresión lineal para establecer la relación sobre el efecto de la suplementación con fruto de morro fresco sobre el consumo de MS total del suplemento y sobre la producción de leche por vaca por día, respectivamente.

Resultados

La suplementación con morro generó efecto sobre el consumo de materia seca del suplemento completo en 1.11^d, 1.34^b, 1.30^c y 1.57^a (kg/100 kg de PV) y sobre la producción de leche por vaca en 7.78^c, 8.30^b, 8.55^{ab} y 8.80^a (kg/día), respectivamente (Tabla 1) a un nivel de significancia de $p < .001$. Además, se mostraron diferencias significativas para el consumo de materia seca de napier morado picado entre tratamientos ($p < .001$). Estableciéndose una disminución significativa ($p < .001$) en el consumo de MS de napier morado cuando se ofreció morro fresco en la suplementación de las vacas. No obstante, cuando se adicionó urea a la dieta, se produjo un efecto en detrimento del consumo de MS del forraje ofrecido. Esto se observó al comparar el tratamiento donde se adicionó 1.0 kg de morro en comparación con el que incluyó 1.0 kg de morro más 0.1 kg de urea ($p = .005$). En tanto que, cuando se compararon los tratamientos que incluyeron el mismo nivel de morro en comparación con el tratamiento con 2.0 kg no existieron diferencias significativas ($p = .618$) en el consumo de MS de napier morado. La cantidad de concentrado ofrecido fue igual en todos los tratamientos, (1.21 kg de MS/vaca/día). El consumo fue total en todos los tratamientos durante los períodos evaluados. El consumo de MS total del suplemento mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p < .001$). El incremento en los niveles de morro en la dieta produjo un aumento lineal ($y = 1.1075 + 0.225 x$; $R^2 = 0.99$; $p < .001$) del consumo total de MS del suplemento (Figura 1). Los contrastes 1 y 3 (TI vs. TII y TII, TIII vs TIV, respectivamente) para la variable consumo de MS total, resultaron significativos ($p < .001$), manifestándose de igual manera en la regresión para dicha variable.

La producción de leche mostró diferencias significativas ($p < .001$); observándose un aumento lineal ($y = 7.847 + 0.51 x$; $R^2 = 0.91$; $p < .005$) cuando los niveles de morro se incrementaron en la suplementación de las vacas (Figura 2). Los promedios de producción con relación al testigo (sin morro), se acrecentaron en 6.35 y 11.65% para los tratamientos con 1.0 y 2.0 kg MS de morro, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1

Peso vivo, consumo promedio de MS del suplemento y producción de leche por vaca de doble propósito en la época seca, Chiquimula, Guatemala

Variable	Tratamientos			
	A	B	C	D
Peso vivo promedio (kg/vaca)	364.61	364.61	364.61	364.61
Consumo de MS (kg/100 kg de PV)				
Napier morado	0.78 ^a	0.74 ^b	0.69 ^c	0.70 ^{bc}
Concentrado	0.33	0.33	0.33	0.33
Morro más urea	0.00	0.27	0.28	0.54
Suplemento completo	1.11 ^d	1.34 ^b	1.30 ^c	1.57 ^a
Producción de leche (kg/vaca/día)	7.78 ^c	8.30 ^b	8.55 ^{ab}	8.80 ^a

Nota. Letras diferentes entre filas denotan diferencias significativas ($p < .005$).

Tabla 2

Valor nutricional promedio de napier morado, morro fresco y concentrado, como suplemento alimenticio de vacas en lactación de doble propósito durante la época seca, Chiquimula, Guatemala

Alimento	Trat.	Valores Bromatológicos				
		MS (%)	PC (%)	FAD (%)	TND (%) ^c	EM (Mcal/kg) ^d
Napier ofrecido ^a	A,B,C,D	19.59	6.50	42.83	46.75	1.70
Napier rechazado ^a	A	20.33	6.38	42.88	46.25	1.67
Napier rechazado ^a	B	21.64	6.21	42.85	46.00	1.67
Napier rechazado ^a	C	20.44	7.24	40.19	47.62	1.72
Napier rechazado ^a	D	22.40	6.78	42.50	46.62	1.69
Morro fresco ^a	B,C,D	27.26	15.00	12.05	62.00	2.24
Concentrado ^b	A,B,C,D	89.00	18.00			2.70

a = Análisis bromatológicos realizados en Brigham Young University, Utah, EUA (2000).

b = Análisis proximal elaborado por la casa comercial fabricante de este producto.

c = TND = $50.0 [1.08 + 0.015 (PC) - 0.0059 (FAD)]$ Brigham Young University (1992).

d = EM (Mcal/kg) = ED * 0.82, donde la ED se calculó matemáticamente usando la ecuación ED = TND * 4.41/100 (National Research Council, 1996).

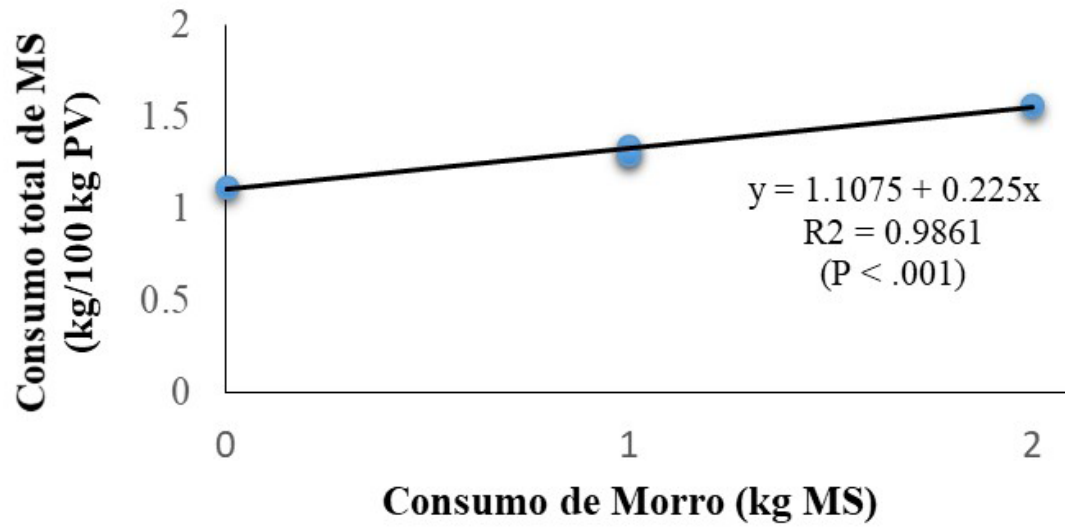


Figura 1: Efecto de la suplementación con morro sobre el consumo de MS total del suplemento.

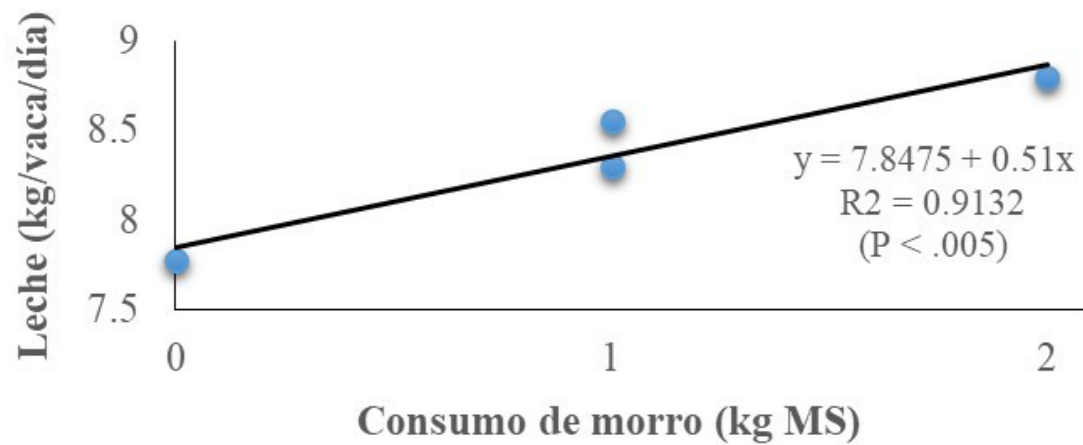


Figura 2: Efecto de la suplementación de morro sobre la producción de leche en vacas.

Discusión

El efecto de la sustitución parcial de la dieta con morro, sobre el consumo de MS de napier morado observado en este estudio, coincide con lo reportado por Wattiaux (1995), quien expresa que al ofrecer suplementos de mayor palatabilidad que el forraje, se observa una reducción en la ingestión de estos últimos. Así mismo, Gracia (1983) indica que al incluir suplementos energéticos en las dietas del ganado se observa un efecto sustitutivo sobre el consumo de forraje. Además, el efecto sobre el consumo de MS obtenido en la presente investigación coincide con lo expresado por Wattiaux (1995) quien indica que al incrementar la cantidad de alimentos concentrados en la dieta se observa un aumento en la ingestión total de MS ya que el suplemento es más denso y la restricción física de la ingestión es menor.

Se establece que el incremento en la cantidad de morro consumido provocó un efecto sustitutivo en el consumo de Napier y un efecto aditivo en el consumo de suplemento total. Este efecto puede asociarse a la baja palatabilidad de la urea, tal como lo reporta López (1995) quien obtuvo una baja ostensible en el consumo de banano verde por efecto de la adición de urea, en un experimento con novillos de engorde en pastoreo.

De acuerdo con Wattiaux (1995), el aumento en la producción de leche resulta debido a la mayor densidad de energía en el suplemento con lo cual se proporciona más energía a la vaca. Con base a lo anterior se podría esperar que el efecto del morro sobre la producción de leche hubiese sido más notorio de no haberse incluido el suplemento concentrado en los tratamientos evaluados. Además, el incremento en la producción de leche está muy relacionado con los consumos de MS que se observaron en los tratamientos evaluados. En este sentido Bondi (1988) menciona que las vacas de alta producción responden produciendo más leche por cada unidad de alimento adicional. Lo anterior puede estar asociado al incremento de energía digestible, consumida a partir del suplemento, a medida que se incrementaba el nivel de morro. La utilización de urea a un mismo nivel de morro no causó un aumento significativo ($p = .240$) sobre la producción de leche.

Se concluyó que el fruto de morro fresco, constituye uno de los recursos alimenticios de mayor disponibilidad para suplementar vacas en lactación durante la época seca en la región oriente de Guatemala. Además, posee valores nutricionales aceptables (15% proteína cruda y 2.24 energía metabolizable) y tiene muy buena

palatabilidad. Así mismo, la utilización de morro fresco como complemento en la suplementación de vacas en lactación de doble propósito mejoró el consumo total de MS y aumentó la producción de leche.

Se recomienda evaluar la respuesta biológica y financiera de la utilización del morro recién cosechado en harina en vacas en producción, bajo las condiciones del presente estudio y con exclusión del suplemento concentrado.

Agradecimientos

Agradecimiento especial al propietario de la finca Ticantó por facilitar los bovinos y el material vegetativo utilizado en este estudio.

Referencias

- Bondi, A. A. (1988). *Nutrición animal*. Zaragoza, España: Acribia.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (2015). *Libro técnico. Estado del arte sobre investigación e innovación tecnológica en ganadería bovina tropical*. México: Autor.
- Figueroa, S. A., & Bressani, R. (2000). Recursos alimenticios vegetales con potencial de explotación agroindustrial de Guatemala. Elaboración de leche vegetal a partir de la semilla del fruto de morro (*Crescentia alata*). *Revista de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*. 50(2), 164-170.
- Gracia, M. S. (1983). Suplementación energético-proteica. En A. R. Novoa (Ed.), *Aspectos nutricionales en la producción de leche*. Turrialba, Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.
- Gutiérrez, M. A. (1996). *Pastos y forrajes en Guatemala; su manejo y utilización, base de la producción animal* (Tesis de licenciatura.) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Guatemala.
- Gutiérrez, J. L., & Häubi, C. U. (2010). *Menos bocas, más vacas: Pasando de la precariedad a la rentabilidad en el campo hidrocálido*. Aguascalientes, México: Fundación Ahora.

- Hernández, E., & Campos, A. (2007). *Utilización del zumo de jícara (Crescentia cujete L) en el tratamiento de la dermatomycosis en terneros de la raza reina en la finca Santa Rosa de la UNA* (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Agraria. Facultad de Ciencia Animal. Departamento de Veterinaria, Nicaragua.
- Jarquín, J. M. (2012). Propuesta de inversión en sistemas silvopastoriles sostenibles en bosques de trópico seco. *Revista Desarrollo Social Sostenible*, 5(15), 3-12.
- Jiménez, O. E. (2008). Índice de confort de la vegetación. *Revista Nodo*, 3(5), 49-70.
- Jochims, K. (2008). *Ideas Nicaragua innovación para el desarrollo*. Managua, Nicaragua: Recuperado de <http://www.file:///C:/Users/Familias%20NRSLB/Documents/d6c40ent6s/JICARO/viewer.html>
- López, C. (1995). *Utilización del banano verde de rechazo y urea como suplemento en la alimentación de novillos de pastoreo, durante la época seca, en el municipio de Morales, Departamento de Izabal* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Guatemala.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. (2012). *Política ganadera bovina nacional. Gobierno de Guatemala*. Guatemala: Recuperado de [https://www.maga.gob.gt/download/politica-ganadera\(2\).pdf](https://www.maga.gob.gt/download/politica-ganadera(2).pdf)
- Olivares, J., Rojas, F., Quiroz, L., Camacho, M., Cipriano, M., Damián B., Villa-Mancera, A. (2018). Diagnóstico de los usos, la distribución y características dasométricas del árbol cirrián (*Crescentia alata* Kunth) en el municipio de Pungarabato, Guerrero, México. *Revista Polibotánica*, 45(14), 191-204.
- Pallarez, M. (2012). *Alternativas modernas tradicionales para alimentación del ganado. Contexto ganadero*. Recuperado de https://www.contextoganadero.com/ganaderia-Sostenible/alternativas-modernas-y-tradicionales-para-la-alimentacion-del-ganado_
- Pirela, M., Perozo, A., Montero, M., Contreras, G., Valbuena, E., & Zambrano, S. (2010). Producción y calidad de la leche de vacas Criollo Limonero suplementadas con harina de frutos de samán (*Pithecellobium saman* (Jacq.) Benth). *Revista Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 27(4) 607-625.
- Preston, T. R. (1990). *Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico*. Riobamba, Ecuador: Círculo impresores.
- Rojas-Rodríguez, F. (2006). Árboles: Mucho más que madera. *Kurú, Revista Forestal*. 3(8), 1-13.
- Salinas, R. N. (2013). *Obtención y evaluación físico-química de leche vegetal a partir de semilla de jícara sabanero (Crescentia alata (H.B.K)* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua Unan- León, Facultad de Ciencias Químicas, Nicaragua.
- Sepúlveda, C. J., & Muhammad, I. (Eds.). (2009). *Políticas y sistemas de incentivos para el fomento y adopción de buenas prácticas agrícolas como una medida de adaptación al cambio climático en América Central* (Informe No. 377). Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.
- Solares, F. (2004). Etnobotánica y usos potenciales del Cirián (*Crescentia alata*, H.B.K.) en el estado de Morelos. *Revista Polibotánica*, (18), 13-31.
- Wattiaux, M. A. (1995). *Nutrición y alimentación* (2.^a ed.). Wisconsin, USA: Instituto Babcock.
- Zamora, S., García, J., Bonilla, G., Aguilar, H., Harvey, C. A., & Ibrahim, M. (2001). ¿Cómo utilizar los frutos de guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*), guácimo (*Guazuma ulmifolia*), genízaro (*Pithecellobium saman*) y jícara (*Crescentia alata*) en alimentación animal? *Revista Agroforestería en las Américas*, 8(31), 45-49.

Antibiotic-Resistant *Salmonella*, isolated from cloacal swab samples from turtles in Guatemala

Salmonella resistente a antibióticos, aislada de muestras de hisopados cloacales en tortugas de Guatemala

Dennis Guerra-Centeno^{1*}, Joana Borrayo-Godínez¹, Carlos Valdez-Sandoval¹, Manuel Lepe-López¹, Federico Villatoro¹, Jacqueline Escobar², Mercedes Díaz-Rodríguez¹, Ligia Ríos¹

¹ Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud y ² Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: Dennis Guerra Centeno, phd.dennisguerra@gmail.com

Recibido: 08 de octubre 2019 / Revisión: 17 de junio 2020 / Aceptado: 01 de agosto 2020

Resumen

Salmonellosis is a relevant public health threat worldwide. Reptiles are commonly involved in human cases. A microbiological survey was conducted from August to October 2018 to isolate *Salmonella* bacteria and determine if they were resistant to regularly used antibiotics in eight species of pet turtles (*Kinosternon acutum* sp., *K. leucostomum*, *K. scorpioides*, *Rhinoclemmys areolata* sp., *R. pulcherrima*, *Staurotypus salvinii* sp., *Trachemys scripta* and *T. venusta*) in Guatemala city, San Lucas Sacatepéquez and Antigua Guatemala. Cloacal swabs were taken from 63 turtles and cultivated in the Microbiology Laboratory at the Veterinary Medicine and Animal Husbandry Faculty, University of San Carlos of Guatemala, in Guatemala City. Three samples were positive to the presence of *Salmonella* sp. One of these isolates (from *Trachemys scripta*) was resistant to gentamicin, penicillin and amikacin, other isolate (from *T. scripta*) was partially resistant to amoxicilin + clavulanic acid and penicillin, and other (from *T. venusta*) to penicillin. These findings highlight the need for better biosecurity practices and show the capacity of bacteria to develop survival strategies that involve resistance to harmful substances like antibiotics.

Palabras claves: Salmonellosis, public health, epidemiology, zoonoses, multiresistant Gram negative bacteria

Abstract

La salmonelosis es una importante enfermedad zoonótica considerada una amenaza a la salud pública a nivel mundial. Los reptiles están comúnmente involucrados en la transmisión animal-humano. Con el objetivo de determinar la presencia de *Salmonella* y determinar su resistencia a antibióticos de uso común, se realizó un estudio exploratorio en ocho especies de tortugas (*Kinosternon acutum* sp., *K. leucostomum*, *K. scorpioides*, *Rhinoclemmys areolata* sp., *R. pulcherrima*, *Staurotypus salvinii* sp., *Trachemys scripta* y *T. venusta*) en Guatemala y en San Lucas Sacatepéquez. Se tomaron hisopados cloacales de 63 especímenes y se cultivaron en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Tres muestras fueron positivas a la presencia de *Salmonella* sp. Uno de los aislados (de *Trachemys scripta*) fue resistente a gentamicina, penicilina y amikacina, otro aislado (de *T. scripta*) fue parcialmente resistente a amoxicilina + ácido clavulánico y a penicilina y un tercer aislado (de *T. venusta*) a penicilina. Estos hallazgos resaltan la necesidad de mejores prácticas de bioseguridad y muestran la capacidad de las bacterias para desarrollar estrategias de sobrevivencia que involucran la resistencia a sustancias que les son nocivas, como los antibióticos.

Keywords: SSalmonellosis, salud pública, epidemiología, zoonosis, bacterias Gram negativas multirresistentes



Introducción

Nontyphoidal *Salmonella* is an important public health threat, causing an estimated of 93.8 million cases of gastroenteritis globally, including 155,000 deaths (Majowicz et al., 2010). Over 2,500 *Salmonella* serotypes have been identified and more than half of them belong to *Salmonella enterica* subspecies *enterica* which causes most *Salmonella* infections in humans (Eng et al., 2015). Not only is salmonellosis one of the diseases affecting socio-economic development worldwide (World Health Organization, 2015), but is also a major contemporary concern due to its dynamic epidemic behavior (Ao et al., 2015; Besser, 2018) and to the growing ability of the causing bacteria serotypes to develop multiple resistance to antibiotics (Blair et al., 2015; Ventola, 2015; Wong et al., 2015).

Many animal species, both domestic and wild, are reservoirs of *Salmonella* and harbor these bacteria in their gastrointestinal tracts with no apparent signs of illness (MacDonald et al., 2019; Oludairo et al., 2013; Sanchez et al., 2002). Salmonellosis outbreaks are often associated with exotic pet ownership (Woodward et al., 1997). Turtles, specially inland species, were common sources of *Salmonella* in many of these outbreaks in United States (Bosch et al., 2016; Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2007; Harris et al., 2009; Harris et al., 2010; Warwick et al., 2001), Spain (Hernández et al., 2012; Hidalgo-Vila et al., 2007) and Japan (Nagano et al., 2006). By 1971, 280,000 turtle-associated cases were estimated to occur only in the United States (Lamm et al., 1972) and although some public health measures have been taken since then, turtles are still common sources of *Salmonella* infections (Bosch et al., 2016; Cummings et al., 2012; Hale et al., 2012). This, because turtles are the second most popular pets after birds (Bush et al., 2014) and sometimes live in frequent physical contact with their owners (Siegmund & Biermann, 1988).

Although salmonellosis is an important zoonosis in Latin America (Gil & Samartino, 2001), very few studies have addressed the role of domestic turtles in the cases or outbreaks in this region (Braun et al., 2015; Sacristán-Rodríguez et al., 2014; Tauxe et al., 1985). Considering the role of pet turtles in the epidemiology of salmonellosis in other parts of the world (Hoelzer et al., 2011; Sodgari et al., 2020), the objectives in this exploratory survey were to look for *Salmonella* organisms in turtle cloacal swab samples and to test the isolates

for antibiotic resistance. The findings provide the first report on the circulation of *Salmonella*, including antibiotic-resistant isolates, in pet turtles in Guatemala.

Materials and methods

Study site

Samples were taken from households in Guatemala City and San Lucas Sacatepéquez, and from a rescue center in Antigua Guatemala. Turtle owners were contacted through a call placed in social networks and in the Veterinary Faculty of University of San Carlos of Guatemala website. A maximum of three specimens were collected from each sampling site except in the rescue center where nine samples were taken from turtles that had recently been brought from a domestic environment. Figure 1 shows the sampling sites distribution.

Sample collection

In a period of three months (August to October 2018) 63 cloacal swabs were taken from turtles of eight species (1 *Kinosternon acutum*, 3 *K. leucostomum*, 4 *K. scorpioides*, 14 *Rinoclemmys pulcherrima*, 3 *R. areolata*, 3 *Staurotypus salvinii*, 22 *Trachemys scripta* and 13 *Trachemys venusta*). The sampled turtles were kept either in backyards or in aquaria and all were being fed commercial food for turtles and, occasionally, vegetables.

Samples were collected from the cloaca, using a sterile peptone water-soaked swab, and transported in test tubes with peptone water to the Microbiology Laboratory of the Veterinary Faculty of University of San Carlos of Guatemala. Samples were received for processing when they had less than 4 hours of being taken.

Laboratory procedures for *Salmonella* isolation

Salmonella isolation was performed according to the ISO 6579 International Standard for *Salmonella* spp. detection (International Organization for Standardization, 2002). The samples were processed in duplicate to improve the chances of *Salmonella* isolation. Since this was an exploratory investigation, *Salmonella* serovars were not identified.

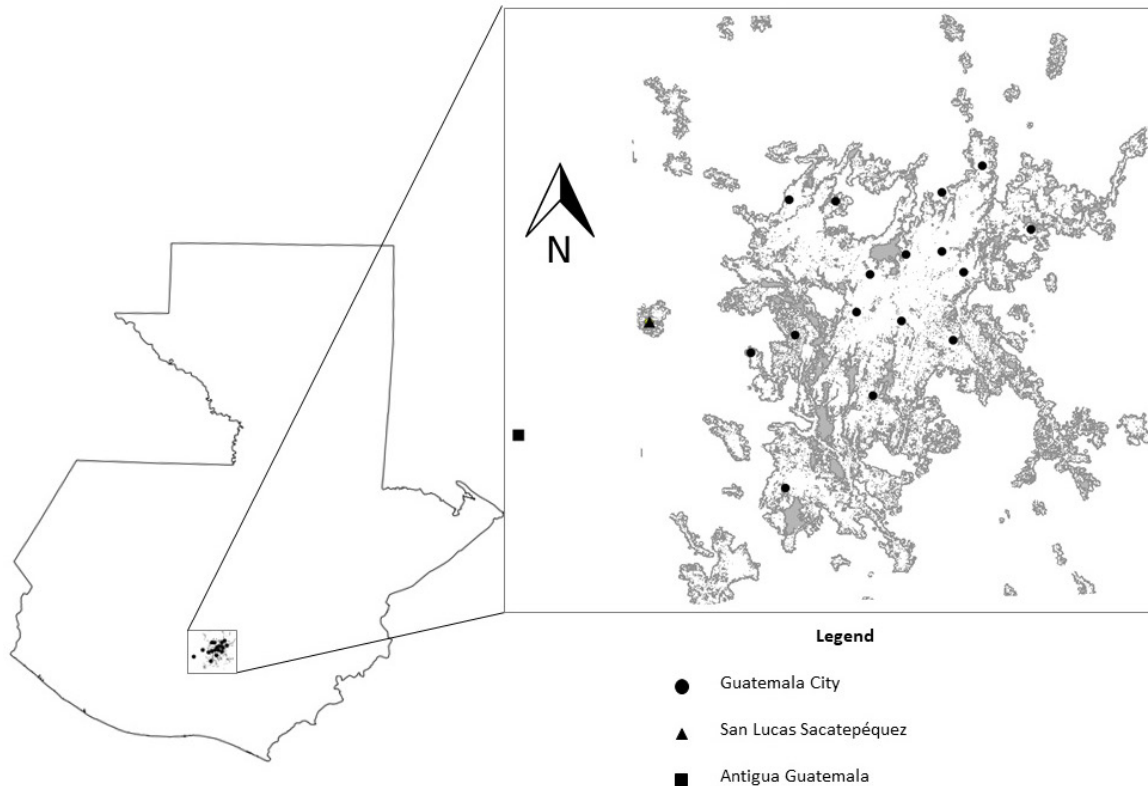


Figure 1. Turtle sampling sites in Guatemala City, San Lucas Sacatepéquez and Antigua Guatemala.

Antibiotic resistance test

The *Salmonella* isolates were tested for resistance against amoxiciline + clavulanic acid, cefotetan, oxytetracycline, gentamicine, penicillin, amikacin, nalidixic acid, doxycycline, and ceftriaxone, following the disk sensitivity test procedures presented by Sacsquispe and Velásquez (2002).

Results

Salmonella bacteria was isolated from three of the 63 cloacal swabs. Even though the samples were taken from eight turtle species reported for Guatemala (Acevedo et al., 2010) the three isolates came only from turtles of the genus *Trachemys* (Table 1). Although not an objective of this study, *Escherichia coli*, *Proteus* sp., and *Enterobacter* sp. were common findings in all cloacal swabs.

The *Salmonella* isolates were resistant or partially resistant to at least one antibiotic. The first isolate (from *Trachemys scripta*) was resistant to amikacin, gentamicin and penicillin. The second isolate (from *T. venusta*) was partially resistant to amoxicillin/clavulanic acid and penicillin. The third isolate (from *T. scripta*) was partially resistant to penicillin.

Discussion

The prevalence of *Salmonella* isolates in our sample was rather low (4.7%). This level of detection is consistent with other investigations in turtle populations where the prevalence was close to zero (Brenner et al., 2002; Mitchell & McAvoy, 1990; Richards et al., 2004; Saelinger et al., 2006; Way & Allender, 2011). However, other studies have detected prevalences ranging from 8 to 18.75% (Charles-Smith et al., 2009; Readell et al., 2010; Sharma et al., 2020; Tomastikova et al., 2010).

Tabla 1
Distribution of *Salmonella* isolates in the sampled turtle specimens

Species	<i>n</i>	Number of isolates
<i>Kinosternon acutum</i>	1	0
<i>Kinosternon leucostomum</i>	3	0
<i>Kinosternon scorpioides</i>	4	0
<i>Rhinoclemmys areolata</i>	3	0
<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i>	14	0
<i>Staurotypus salvinii</i>	3	0
<i>Trachemys scripta</i>	22	2
<i>Trachemys venusta</i>	13	1
Total	63	3

Zhang et al., 2016). It is known that *Salmonella* shedding could be intermittent (Kaufmann et al., 1967) and stress-related in reptiles (Burnham et al., 1998; Chiodini & Sundberg, 1981; DuPont et al., 1978), so, this apparent prevalence should be taken with caution. Cloacal swab sampling could as well not be the best technique for *Salmonella* detection in comparison to better –but more invasive– methods like mucosa scrapings. On the other hand, *Salmonella* has been a common finding in imported turtles from captive breeding facilities, mostly from the USA (D'Aoust et al., 1990; Lukac et al., 2015; Shane et al., 1990).

It should be noted that *Trachemys* turtles were the only source of the *Salmonella* isolates in this study. *Trachemys scripta* is a common pet turtle worldwide. In Guatemala, it is sold at a very affordable price (around 2.5 US \$ each) in most pet stores around the country. Over 36,000 *T. scripta* turtles were imported to Guatemala in 2018 to supply the pet market (R. De León, personal communication, April 20, 2019). This turtle species has been considered one of the most common sources of *Salmonella* to humans (Hidalgo-Vila et al., 2008; Lamm et al., 1972; Nagano et al., 2006; Pasmans et al., 2002; Readell et al., 2010; Shen et al., 2011) and also an alien invasive species (Kuzmanova et al., 2018; Ma & Shi, 2017; Zhang et al., 2020).

Based on the premises that some of the sampled turtles in the present investigation were shedding *Salmonella* bacteria with some degree of antibiotic resistance and that thousands of turtles are being imported

annually to Guatemala for the pet market, we can assume that there is some risk of acquiring salmonellosis from the contact with these animals or their environment. It has been stressed out that the risk of turtles as a source of human salmonellosis, especially for young children, should not be underestimated (Sodagari et al., 2020). Furthermore, not only could *Salmonella* cause highly pathogenic cases in humans (Nagano et al., 2006), but also hard to treat cases due to antibiotic resistance (Eng et al., 2015; Liang et al., 2015).

Resistance to commonly use antibiotics –such as erythromycin, sulfisoxazole, gentamycin, amoxicillin and ampicillin– by *Salmonella* isolates have been previously reported for various species of reptiles (Ebani et al., 2005). *Salmonella* strains from turtles imported from the USA have shown to be resistant to gentamicin and other antibiotics commonly used for treating turtles after the 1974 small turtle trade ban (Shane et al., 1990). Antibiotic use as supplement in livestock and other captive bred animals like turtles has been identified as one of the main causes of the antibiotic resistance crisis (Angulo et al., 2014; Eng et al., 2015; Ventola, 2015). As the household size become smaller in modern societies, people look for more suitable pets like turtles to fit small apartments. Children could then be the more exposed age group to become infected with *Salmonella* from turtles because they use to play with their pets (Kaibu et al., 2006; Pees et al., 2013; Siegmund & Biermann, 1988) and because turtles are one of the most commercialized pets worldwide (Bush et al., 2014).

Our preliminary data suggests that only *Trachemys* turtles harbor *Salmonella* bacteria amongst inland turtle species in Guatemala. Interesting also, is the fact that we found the bacteria in imported (*T. scripta*) and native (*T. venusta*) specimens of this genus of turtle. This could be the result of inter-species transmission between imported *T. scripta* and native *T. venusta* housed together or coexisting in free ranging conditions. *Salmonella* was already found in wild populations of naturalized *T. scripta* in China (Gong et al., 2013). *Salmonella* shedding and transmission to naturalized turtles could even threaten native turtle populations. More research needs to be done to understand the ecology of *Salmonella* bacteria across the inland and marine species of turtles in Guatemala in domestic or wild environments.

The results of this investigation reinforce the idea that captive raising of farm or wild animals could provide the necessary conditions for the establishment and dissemination of *Salmonella*. Furthermore, the practice of administering preventive or therapeutic antibiotics to captive populations favors the evolution of multi-resistant bacteria strains which represent a contemporary public health issue (Kariuki et al, 2015; Medalla et al., 2017; Ventola, 2015).

Acknowledgements

We thank Martin Cutzán of the Microbiology Laboratory, Veterinary and Animal Husbandry Faculty, University of San Carlos of Guatemala for processing the cloacal samples for *Salmonella* isolation and antibiotic resistance.

References

- Acevedo, M., Wilson, L. D., Cano, E. B., & Vasquez-Almazán, C. (2010) Diversity and conservation status of the Guatemalan herpetofauna. In L. Wilson, J. Townsend & J. Johnson (Eds), *Conservation of Mesoamerican amphibians and reptiles* (pp. 407-434). Eagle Mountain, Utah: Eagle Mountain Publishing, LC.
- Angulo, F. J., Baker, N. L., Olsen, S. J., Anderson, A., & Barrett, T. J. (2004, April). Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans. *Seminars in Pediatric Infectious diseases*, 15(2), 78-85. <https://doi.org/10.1053/j.spid.2004.01.010>
- Ao, T. T., Feasey, N. A., Gordon, M. A., Keddy, K. H., Angulo, F. J., & Crump, J. A. (2015). Global burden of invasive nontyphoidal *Salmonella* disease, 2010. *Emerging Infectious Diseases*, 21(6), 941. <https://doi.org/10.3201/eid2106.140999>
- Besser, J. M. (2018). *Salmonella* epidemiology: A whirlwind of change. *Food Microbiology* 71, 55-59. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.08.018>
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42-51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Bosch, S., Tauxe, R. V., & Behravesch, C. B. (2016). Turtle-associated salmonellosis, United States, 2006–2014. *Emerging Infectious Diseases*, 22(7), 1149-1155. <https://doi.org/10.3201/eid2207.150685>
- Braun, S., Spalloni, W., Ferreccio, F., Postigo, J., Fernández, A., Porte, L., ... Triantafilo, V. (2015). Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en tres lactantes asociada a contacto con tortugas acuáticas. *Revista Chilena de Infectología*, 32, 334-338. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000400013>
- Brenner, D., Lewbart, G., Stebbins, M., & Herman, D. W. (2002). Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 33(4), 311-317. [https://doi.org/10.1638/1042-7260\(2002\)033\[0311:HSOWAC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1638/1042-7260(2002)033[0311:HSOWAC]2.0.CO;2)
- Burnham, B. R., Atchley, D. H., DeFusco, R. P., Ferris, K. E., Zicarelli, J. C., Lee, J. H., & Angulo, F. J. (1998). Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* organisms among captive green iguanas and potential public health implications. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(1), 48-50.
- Bush, E. R., Baker, S. E., & Macdonald, D. W. (2014). Global trade in exotic pets 2006–2012. *Conservation Biology*, 28(3), 663-676. <https://doi.org/10.1111/cobi.12240>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2007). Turtle-associated salmonellosis in humans-United States, 2006-2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 56(26),649.

- Charles-Smith, L. E., Lewbart, G. A., Aresco, M. J., & Cowen, P. (2009). Detection of Salmonella in Gopher Tortoises (*Gopherus polyphemus*) during two relocation efforts in Florida. *Chelonian Conservation and Biology*, 8(2), 213-216. <https://doi.org/10.2744/CCB-0771.1>
- Chiodini, R. J., & Sundberg, J. P. (1981). Salmonellosis in reptiles: a review. *American Journal of Epidemiology*, 113(5), 494-499. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a113124>
- Cummings, P. L., Sorvillo, F., & Kuo, T. (2012). The burden of salmonellosis in the United States. En B. S. Mahmoud. (Ed.), *Salmonella a dangerous foodborne pathogen* (pp. 1-20). Rijeka, Croatia: In Tech.
- D'Aoust, J. Y., Daley, E., Crozier, M., & Sewell, A. M. (1990). Pet turtles: A continuing international threat to public health. *American Journal of Epidemiology*, 132(2), 233-238. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115652>
- DuPonte, M. W., Nakamura, R. M., & Chang, E. M. (1978). Activation of latent Salmonella and Arizona organisms by dehydration of red-eared turtles, *Pseudemys scripta-elegans*. *American Journal of Veterinary Research*, 39(3), 529-530.
- Ebani, V. V., Cerri, D., Fratini, F., Meille, N., Valentini, P., & Andreani, E. (2005). Salmonella enterica isolates from faeces of domestic reptiles and a study of their antimicrobial in vitro sensitivity. *Research in Veterinary Science*, 78(2), 117-121. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2004.08.002>
- Eng, S. K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Ser, H. L., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015). Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284-293. <https://doi.org/10.1080/21554769.2015.1051243>
- Gil, A., & Samartino, L. (2001). Zoonosis en los sistemas de producción animal de las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Roma: FAO.
- Gong, S., Wang, F., Shi, H., Zhou, P., Ge, Y., Hua, L., & Liu, W. (2013). Highly pathogenic Salmonella Pomona was first isolated from the exotic red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) in the wild in China: Implications for public health. *Science of the Total Environment*, 468, 28-30. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.025>
- Hale, C. R., Scallan, E., Cronquist, A. B., Dunn, J., Smith, K., Robinson, T., ... & Clogher, P. (2012). Estimates of enteric illness attributable to contact with animals and their environments in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 54(suppl_5), S472-S479. <https://doi.org/10.1093/cid/cis051>
- Harris, J. R., Bergmire-Sweat, D., Schlegel, J. H. Winpisinger, K. A., Klos, R. F., Perry, C., ... Sotir, M. J. (2009). Multistate outbreak of Salmonella infections associated with small turtle exposure, 2007-2008. *Pediatrics*, 124(5), 1388-1394. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-0272>
- Harris, J. R., Neil, K. P., Behravesh, C. B., Sotir, M. J., & Angulo, F. J. (2010). Recent multistate outbreaks of human *Salmonella* infections acquired from turtles: A continuing public health Challenge. *Clinical Infectious Diseases*, 50(4), 554-559. <https://doi.org/10.1086/649932>
- Hernández, E., Rodriguez, J. L., Herrera-León, S., García, I., De Castro, V., & Muniozgueren, N. (2012). Salmonella Paratyphi B var Java infections associated with exposure to turtles in Bizkaia, Spain, September 2010 to October 2011. *Eurosurveillance*, 17(25), 20201. <https://doi.org/10.2807/ese.17.25.20201-en>
- Hidalgo-Vila, J., Díaz-Paniagua, C., de Frutos-Escobar, C., Jiménez-Martínez, C., & Pérez-Santigosa, N. (2007). Salmonella in free living terrestrial and aquatic turtles. *Veterinary Microbiology*, 119(2-4), 311-315. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.08.012>
- Hidalgo-Vila, J., Díaz-Paniagua, C., Pérez-Santigosa, N., de Frutos-Escobar, C., & Herrero-Herrero, A. (2008). *Salmonella* in free-living exotic and native turtles and in pet exotic turtles from SW Spain. *Research in Veterinary Science*, 85, 449-452. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.01.011>
- Hoelzer, K., Switt, A. I. M., & Wiedmann, M. (2011). Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Veterinary Research*, 42(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-34>
- Kaibu, H., Iida, K., Ueki, S., Ehara, H., Simasaki, Y., Anzai, H., ... Shirono, S. (2006). Salmonellosis of infants presumably originating from an infected turtle in Nagasaki, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 59(4), 281.

- Kariuki, S., Gordon, M. A., Feasey, N., & Parry, C. M. (2015). Antimicrobial resistance and management of invasive *Salmonella* disease. *Vaccine*, *33*, C21-C29. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.03.102>
- Kaufmann, A. F., Feeley, J. C., & DeWitt, W. E. (1967). *Salmonella* excretion by turtles. *Public Health Reports*, *82*(9), 840. <https://doi.org/10.2307/4593144>
- Kuzmanova, Y., Natcheva, I., Koleva, V., Popgeorgiev, G., Slavchev, M., & Natchev, N. (2018). Public awareness of risks and recent marketing dynamics of Pond sliders (*Trachemys scripta*, Schoepff, 1792) in NE Bulgaria. *Zoology and Ecology*, *28*(4), 329-336. <https://doi.org/10.1080/021658005.2018.1521675>
- International Organization for Standardization. (2002). ISO 6579: Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Geneva: Author.
- Lamm, S. H., Taylor, A., Gangarosa, E. J., Anderson, H. W., Young, W., Clark, M. H., & Bruce, A. R. (1972). Turtle-associated salmonellosis. I. An estimation of the magnitude of the problem in the United States, 1970-1971. *American Journal of Epidemiology*, *95*(6), 511-517. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a121418>
- Liang, Z., Ke, B., Deng, X., Liang, J., Ran, L., Lu, L., ... & Yu, H. (2015). Serotypes, seasonal trends, and antibiotic resistance of non-typhoidal *Salmonella* from human patients in Guangdong Province, China, 2009-2012. *BMC Infectious Diseases*, *15*(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0784-4>.
- Lukac, M., Pedersen, K., & Prukner-Radovic, E. (2015). Prevalence of *Salmonella* in captive reptiles from Croatia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *46*(2), 234-240. <https://doi.org/10.1638/2014-0098R1.1>
- Ma, K., & Shi, H. (2017). Red-eared slider *Trachemys scripta elegans* (Wied-Neuwied). In F. Wan, M. Jiang & A. Zhan (Eds.), *Biological invasions and its management in China* (pp. 49-76). Singapore: Springer.
- MacDonald, E., White, R., Meixa, R., Bruun, T., Kapperud, G., Brandal, ..., Vold, L. (2019). The role of domestic reservoirs in domestically acquired *Salmonella* infections in Norway: Epidemiology of salmonellosis, 2000–2015, and results of a national prospective case–control study, 2010–2012. *Epidemiology & Infection* *147*, 1-8. <https://doi.org/10.1017/S0950268818002911>
- Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., ... & International Collaboration of Enteric Disease “Burden of Illness” Studies. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases*, *50*(6), 882-889. <https://doi.org/10.1086/650733>
- Medalla, F., Gu, W., Mahon, B. E., Judd, M., Folster, J., Griffin, P. M., & Hoekstra, R. M. (2017). Estimated incidence of antimicrobial drug-resistant nontyphoidal *Salmonella* infections, United States, 2004–2012. *Emerging Infectious Diseases*, *23*(1), 29. <https://doi.org/10.3201/eid2301.160771>
- Mitchell, J. C., & McAvoy, B. V. (1990). Enteric bacteria in natural populations of freshwater turtles in Virginia. *Virginia Journal of Science*, *41*(3), 233-242.
- Nagano, N., Oana, S., Nagano, Y., & Arakawa, Y. (2006). A severe *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection in a child related to a pet turtle, *Trachemys scripta elegans*. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, *59*(2), 132.
- Oludairo, O. O., Kwaga, J. K. P., Dzikwi, A. A., & Kabir, J. (2013). The genus *Salmonella*, isolation and occurrence in wildlife. *International Journal of Microbiology and Immunology Research*, *1*(5), 47-52.
- Pasmans, F., De Herdt, P., Dewulf, J., & Haesebrouck, F. (2002). Pathogenesis of infections with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Muenchen in the turtle *Trachemys scripta scripta*. *Veterinary Microbiology*, *87*(4), 315-325. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00081-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00081-0)
- Pees, M., Rabsch, W., Plenz, B., Fruth, A., Prager, R., Simon, S., ... Braun, P. (2013). Evidence for

- the transmission of Salmonella from reptiles to children in Germany, July 2010 to October 2011. *Euro Surveill*, 18(46), 1-10. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.46.20634>
- Readel, A. M., Phillips, C. A., & Goldberg, T. L. (2010). Prevalence of Salmonella in intestinal mucosal samples from free-ranging red-eared sliders (*Trachemys scripta*) in Illinois. *Herpetological Conservation and Biology*, 5(2), 207-213.
- Richards, J. M., Brown, J. D., Kelly, T. R., Fountain, A. L., & Sleeman, J. M. (2004). Absence of detectable Salmonella cloacal shedding in free-living reptiles on admission to the wildlife center of Virginia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 35(4), 562-564. <https://doi.org/10.1638/03-070>
- Sacristán-Rodríguez, P. A., Pérez-Osorio, L. A. & Méndez-Rodríguez, I. (2014). Prevalencia y susceptibilidad antimicrobiana de Salmonella spp. aislada de animales exóticos que conviven con niños. *Medicina & Laboratorio*, 20(3-4), 169-184.
- Sacsquispe, R. & Velásquez, J. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto de Salud.
- Saelinger, C. A., Lewbart, G. A., Christian, L. S., & Lemons, C. L. (2006). Prevalence of Salmonella spp in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild North American turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229(2), 266-268. <https://doi.org/10.2460/javma.229.2.266>
- Sanchez, S., Hofacre, C. L., Lee, M. D., Maurer, J. J., & Doyle, M. P. (2002). Animal sources of salmonellosis in humans. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(4), 492-497. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.221.492>
- Shane, S. M., Gilbert, R., & Harrington, K. S. (1990). Salmonella colonization in commercial pet turtles (*Pseudemys scripta elegans*). *Epidemiology and Infection*, 105(2), 307-316. <https://doi.org/10.1017/S0950268800047907>
- Sharma, R. N., Matthew-Belmar, V., Nicholas-Thomas, R., Arya, G., Holtslander, B., Hariharan, H., & Amadi, V. A. (2020). Prevalence of Salmonella spp. in red-footed tortoises (*Chelonoidis carbonaria*) from Grenada, West Indies. *International Journal of One Health*, 6(1), 12-16. <https://doi.org/10.1292/jvms.67.97>
- Shen, L., Shi, H., Wang, R., Liu, D., & Pang, X. (2011). An invasive species red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) carrying Salmonella pathogens in Hainan Island. *Molecular Pathogens*, 2(4). <https://doi.org/10.5376/mp.2011.02.004>
- Siegmund, R., & Biermann, K. (1988). Common leisure activities of pets and children. *Anthrozoös*, 2(1), 53-57. <https://doi.org/10.2752/089279389787058244>
- Sodagari, H. R., Habib, I., Shahabi, M. P., Dybing, N. A., Wang, P., & Bruce, M. (2020). A review of the public health challenges of Salmonella and turtles. *Veterinary Sciences*, 7(2), 56. <https://doi.org/10.3390/vetsci7020056>
- Tauxe, R. V., Rigau-Pérez, J. G., Wells, J. G., & Blake, P. A. (1985). Turtle-associated salmonellosis in Puerto Rico: Hazards of the global turtle trade. *Journal of the American Medical Association*, 254(2), 237-239. <https://doi.org/10.1001/jama.1985.03360020069026>
- Tomastikova, Z., Barazorda, S. B., Knotek, Z., & Karpiskova, R. (2017). Prevalence and characteristics of Salmonella species isolated from captive reptiles in the Czech Republic. *Veterinárni Medicína*, 62(8), 456-469. <https://doi.org/10.17221/44/2017-VETMED>
- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277.
- Warwick, C., Lambiris, A. J., Westwood, D., & Steedman, C. (2001). Reptile-related salmonellosis. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 94(3), 124-126. <https://doi.org/10.1177/014107680109400306>
- Way, B. M., & Allender, M. C. (2011). Health assessment of wild eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) in east Tennessee. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 21(4), 107-112. <https://doi.org/10.5818/1529-9651-21.4.107>
- Woodward, D. L., Kharkhria, R., & Johnson, W. M. (1997). Human salmonellosis associated with exotic pets. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(11), 1786-2790.

- Wong, V. K., Baker, S., Pickard, D. J., Parkhill, J., Page, A. J., Feasey, N. A., ... & Edwards, D. J. (2015). Phylogeographical analysis of the dominant multidrug-resistant H58 clade of *Salmonella* Typhi identifies inter-and intracontinental transmission events. *Nature Genetics*, 47(6), 632. <https://doi.org/10.1038/ng.3281>
- World Health Organization. (2015). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. No. 9789241565165. Geneva: Author.
- Zhang, J., Kuang, D., Wang, F., Meng, J., Jin, H., Yang, X., ... & Xu, X. (2016). Turtles as a possible reservoir of nontyphoidal *Salmonella* in Shanghai, China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 13(8), 428-433. <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.2107>
- Zhang, Y., Song, T., Jin, Q., Huang, Y., Tang, X., Sun, X., ... & Bao, W. (2020). Status of an alien turtle in city park waters and its potential threats to local biodiversity: the red-eared slider in Beijing. *Urban Ecosystems*, 23(1), 147-157. <https://doi.org/10.1007/s11252-019-00897-z>

Detección de patógenos asociados a la enfermedad punta morada en los cultivos de papa y tomate en Guatemala

Detection of pathogens associated to potato purple top disease in potato and tomato crops in Guatemala

Julio E. Berdúo-Sandoval¹, José A. Ruiz-Chután^{1,2}, Luis Méndez¹, Luis Mejía³, Douglas Maxwell⁴, Amílcar Sánchez-Pérez^{1*}

¹Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

²Department of Crop Sciences and Agroforestry, Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic

³Universidad de Manizales, Colombia, ⁴Department of Plant Pathology, University of Wisconsin

*Autor al que se dirige la correspondencia: gramisp@hotmail.com

Recibido: 01 de julio 2019 / Revisión: 13 de julio 2020 / Aceptado: 05 de agosto 2020

Resumen

La punta morada es una enfermedad que afecta la producción de algunas especies de solanáceas como la papa y el tomate, causando enrollamiento en las puntas de las hojas con una marcada coloración morada, decaimiento temprano de la planta y en la papa se observa tuberización aérea. Como patógenos asociados a la enfermedad se consideran al fitoplasma BLTVA y la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Dada la similitud en la sintomatología foliar que generan ambos patógenos, es difícil precisar cuál de ellos está implicado en la enfermedad. En Guatemala, existen reportes de la sintomatología típica de punta morada en las principales zonas productoras de papa y tomate, desconociéndose el agente asociado. La investigación determinó cuál de los dos patógenos reportados está asociados a la enfermedad en 12 municipios productores de papa y/o tomate en el país. Se realizaron ampliaciones de ADN con cebadores específicos para cada patógeno asociado a la enfermedad. Por la alta incidencia del fitoplasma BLTVA en las muestras de papa (73.9%), en comparación a *C. Liberibacter solanacearum* (26%), este es considerado como el patógeno asociado más importante en papa. En las muestras de tomate, la incidencia del fitoplasma BLTVA (29.8%) y *C. Liberibacter solanacearum* del (27.6%) fue similar. Además, sobresale el primer reporte de la detección del fitoplasma BLTVA afectando el cultivo de tomate en Guatemala. Se sugiere un monitoreo constante, mediante métodos moleculares, para un diagnóstico certero y establecer medidas de manejo de la enfermedad para evitar su diseminación hacia zonas aún no afectadas.

Palabras claves: Punta morada, papa rayada, fitoplasma BLTVA, *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Abstract

The potato purple top is a disease that affects the production of some solanaceous species such as potatoes and tomatoes, causing curl at the tips of the leaves with a marked purple coloration, early decay of the plant, and aerial tuberization is observed in the potato. BLTVA phytoplasma and *Candidatus Liberibacter solanacearum* are considered as pathogens associated with the disease. Given the similarity in foliar symptoms generated by both pathogens, it is difficult to determine which one is involved in the disease. There are reports of the typical potato purple top symptoms in the main potato and tomato producing areas in Guatemala, being unknown the associated agent. The research determined which of the two reported pathogens is associated with the disease in 12 potatoes and/or tomato producing areas in the country. We performed DNA amplification with specific primers for each disease-associated pathogen. Due to the high incidence of BLTVA phytoplasma in potato samples (73.9%), compared to *C. liberibacter solanacearum* (26%), this is considered the most important associated pathogen in potatoes. In tomato samples, the incidence of BLTVA phytoplasma (29.8%) and *C. liberibacter solanacearum* (27.6%) was similar. Besides, the first report of the detection of the BLTVA phytoplasma affecting tomato cultivation in Guatemala stands out. Using molecular methods, constant monitoring is suggested for an accurate diagnosis and to establish management measures for the disease to prevent its spread to areas not yet affected.

Keywords: Potato purple top, zebra chip, BLTVA phytoplasm, *Candidatus Liberibacter solanacearum*



Introducción

En Guatemala, la papa (*Solanum tuberosum* L.) y el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) son dos de los cultivos de mayor importancia para el país y ambos son afectados por la enfermedad denominada como punta morada (Munyanzeza et al., 2007). Para la población agrícola de la región occidental de Guatemala, la papa forma parte importante de su dieta básica y según los últimos datos reportados (Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación [Maga], 2016), se obtuvo una cosecha de 1,187,260 Tm generando 12,793 empleos permanentes. En cuanto al tomate, se considera como uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia económica para el país, con una última cosecha reportada de 318,181.8 Tm (Maga, 2016).

Estos dos cultivos se han visto afectados por la enfermedad conocida como punta morada, la cual se caracteriza por causar enrollamiento de las puntas y los bordes de las hojas hacia el haz con una marcada coloración morada, una moderada proliferación de los brotes, entrenudos cortos, hinchamiento de los nudos, tuberización aérea en el caso de la papa y un decaimiento temprano de la planta (Longoria-Espinoza et al., 2013; Munyanzeza et al., 2007; Santos-Cervantes et al., 2010). Esta enfermedad ha sido asociada con la presencia de al menos ocho diferentes cepas de fitoplasmas alrededor del mundo, siendo los grupos de fitoplasmas comúnmente mencionados, como causantes de la enfermedad, el amarillamiento del áster (16Srl-A y 16Srl-B), la escoba de bruja del maní (16SrlI), proliferación del trébol (16SrVI-A) y stolbur (16SrXII) (Santos-Cervantes et al., 2010).

Los métodos desarrollados para la detección del fitoplasma *Beet leafhopper transmitted virescence agent* (BLTVA), asociado a la enfermedad de la punta morada, están basados en la técnica de PCR y han sido desarrollados por varios autores (Crosslin et al., 2006; El-banna et al., 2007; Munyanzeza et al., 2007) con algunas variantes entre ellos, como las concentraciones de algunos reactivos y las condiciones del PCR. En un primer ciclo de reacciones, se utilizan los cebadores universales P1/P7, los cuales generan un amplicón de 1.8 Kb correspondiente a un segmento del ribosoma 16S, la región espaciadora entre el ribosoma 16S y el 23S y una pequeña parte del ribosoma 23S. Posteriormente, mediante un segundo ciclo de reacciones (PCR anidada), se emplean los cebadores fU5/BLTVAint (Crosslin et al., 2006) o los cebadores R16F2n/R16R2 (Lee et al., 2004), los cuales son específicos para la detección de fitoplasmas del grupo 16SrVI.

La enfermedad de la punta morada ha sido reportada en varios países. Por ejemplo, durante la epidemia de punta morada, ocurrida en 2002 en la región de Columbia Basin en Washington y Oregon, la enfermedad fue asociada al fitoplasma denominado como BLTVA (Lee et al., 2004). En el estado de México se determinó que dicha enfermedad era causada por “*Candidatus Phytoplasma asteris*” (Gutiérrez-Ibáñez et al., 2012). La misma enfermedad también fue reportada y asociada a la presencia de fitoplasmas en el Valle de Toluca, México (Gutiérrez-Ibáñez et al., 2013). En Ecuador se reportó por primera vez la presencia de *Candidatus Phytoplasma aurantifolia* (16SrlI) asociado a la punta morada (Caicedo et al., 2015). La presencia del fitoplasma BLTVA, miembro del grupo 16SrVI, también fue señalada en el estudio de Crosslin y colaboradores (2011).

En cuanto a los vectores de fitoplasmas asociados a la enfermedad de punta morada, se mencionan varias especies de chicharritas (Homoptera: Cicadellidae) como *Macrostelus orientalis*, *M. fascifrons*, *M. striiformis*, *Scleroracrus avopictus*, *Orosius albicinctus*, *Alebroides dravidamus* (Maramorosch, 1998). También se reportan a las especies *Circulifer tenellus* y *Ceratagallia* spp. (Munyanzeza, 2005; Munyanzeza et al., 2006, 2007) y los géneros *Empoasca* y *Aceratagallia* en México (Almeyda et al., 2004). En el estudio realizado en México, Garzón y colaboradores (2004) reportan al psílido *Bactericera cockerelli* como vector de fitoplasmas asociados a punta morada en papa. Por su parte, Almeyda y colaboradores (2002) indican que *B. cockerelli* colectado en plantaciones de tomate con sintomatología típica de punta morada, fue positivo para fitoplasma. De esta forma se demuestra que esta especie de psílido también es un potencial vector de fitoplasmas asociados a la enfermedad de punta morada en tomate.

Otra enfermedad importante que ha sido documentada por ocurrir en plantaciones de producción comercial de papa en el suroeste de los Estados Unidos, México y Guatemala, ha sido denominada como Zebra Chip o papa rayada. Dicha enfermedad fue observada por primera vez en México en 1994 y posteriormente en los Estados Unidos en Texas (Secor & Rivera-Varas, 2004). El impacto negativo de la enfermedad se evidenció durante los brotes ocurridos en México y los Estados Unidos del 2004 al 2006, en donde se generaron pérdidas millonarias para cultivadores y procesadores de la papa. Las pérdidas son debido a la coloración café que resulta luego del proceso de fritura del tubérculo, haciendo el producto final, las papalinas o chips, comercialmente inaceptables (Lin et al., 2009; Munyanzeza, et

al., 2007) llevando incluso al abandono de los campos de cultivo (Goolsby et al., 2007). Los costos incurridos para el manejo de la enfermedad y su vector alcanzan cifras millonarias en compras de ingredientes activos y aplicaciones (Greenway & Rondon, 2018).

La sintomatología foliar en papa y tomate es similar a la que se presenta con la enfermedad de la punta morada causada por fitoplasmas (Gutiérrez-Ibáñez et al., 2013). Los síntomas van desde una clorosis, tallos torcidos con apariencia en zigzag y nódulos agrandados, hasta tubérculos aéreos, descoloramiento vascular y hojas calcinadas y marchitas que llegan prematuramente a la senescencia (Crosslin & Munyaneza, 2009; Secor et al., 2009). Los tubérculos presentan una coloración café en el aro vascular y rayos medulares que se extienden de forma longitudinal sobre todo el tubérculo, mostrando una pobre o nula germinación de las lentecillas (Lin et al., 2009). La enfermedad también induce la necrosis del tubérculo (Secor et al., 2009).

En cuanto al agente causal de la enfermedad Zebra Chip; Liefting y colaboradores (2008) lograron asociar la enfermedad con lo que para entonces constituía una nueva bacteria, la cual se denominó inicialmente como *Candidatus Liberibacter psyllaureus* (Hansen et al., 2008) y posteriormente *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Esta misma bacteria fue reportada por Abad y colaboradores (2009), quienes después de una amplificación específica con los cebadores OA2/OI2c (Liefting et al., 2008, 2009), a partir de plantas con la sintomatología típica de la enfermedad, realizaron la comparación de las secuencias obtenidas con las reportadas en Nueva Zelanda, constituyendo así el primer reporte de *C. Liberibacter solanacearum* asociada a papa, en los Estados Unidos. Posteriormente, a través de las muestras obtenidas de campos de cultivo de papa en los Estados Unidos, México y Guatemala, Secor y colaboradores (2009) también reportaron que dicha enfermedad se encontraba asociada a la presencia de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Además, los autores añaden que las secuencias de la región 16S de las tres regiones geográficas representadas, son casi idénticas a las secuencias de la región 16S reportadas en Nueva Zelanda.

La transmisión de esta bacteria puede ser por medio de injerto, semilla no botánica en el caso de papa (tubérculo), semilla botánica en el caso de zanahoria e insectos vectores como el psílido *B. cockerelli* en especies de la familia Solanaceae (Bertolini et al., 2015; Delgado-Ortiz et al., 2019; Liefting et al., 2009; Secor et al., 2009). La bacteria también ha sido reportada como patógeno en algunas especies de la familia

Apiaceae como la zanahoria (*Daucus carota* L.) (Ben-Othmen et al., 2018) y apio (*Apium graveolens* L.) (Teresani et al., 2014) siendo los vectores las especies *B. trigonica* (Alfaro-Fernández et al., 2012) y *Triozia apicalis* (Munyaneza et al., 2010).

En Guatemala ha sido reportada la presencia de *C. Liberibacter solanacearum* en papa (Palmieri et al., 2012; Secor et al., 2009) y en tomate (Mejía et al., 2010). Sin embargo, existen pocos registros sobre la detección del fitoplasma BLTVA en el cultivo de papa, y más escasos aún, en el cultivo de tomate. Debido a la similitud en la sintomatología foliar de las enfermedades Zebra Chip y punta morada, en los cultivos de papa y tomate, existe una total incertidumbre sobre el patógeno asociado a la enfermedad denominada como punta morada por los agricultores guatemaltecos. Se desconoce si dicha enfermedad es causada en el país, únicamente por la bacteria ya reportada, o también se debe a la presencia del fitoplasma. Por esta razón, se realizaron muestreos de plantas de papa y tomate con los síntomas característicos de la enfermedad, en las principales zonas de producción de los cultivos de tomate y papa del país, con el objetivo de detectar, a través de técnicas moleculares, la presencia de uno o ambos patógenos.

Materiales y métodos

Obtención del material vegetal

Durante el período de abril a agosto del 2018, se colectaron 47 muestras de tomate y 23 de papa en algunas de las principales zonas productoras localizadas en los municipios de Antigua Guatemala, Salamá, San Jerónimo, Purulhá, San Juan Chamelco, Zunil, Amatitlán, Villa Nueva, Sanarate, Patzicía, Santa Cruz Balanyá y Jalapa. Se escogieron plantas de tomate y papa con los síntomas aéreos característicos de infección por punta morada, tomando cinco folíolos sintomáticos por cada planta. Las muestras de material vegetal fueron almacenadas en condiciones de frío y se trasladaron al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala para realizar la extracción del ADN.

Extracción del ADN

Para la extracción del ADN se empleó el kit comercial Gentra® siguiendo la metodología propuesta por el fabricante con algunas modificaciones que se describen a continuación. Se tomó una sección de cada

hoja de aproximadamente 4 x 4 mm dentro de un tubo de 1.5 mL al cual se le agregaron 450 µL de Cell Lysis Solution y se procedió a macerar. Seguido se agregaron 2.25 µL de proteinasa K (100 µg/mL) y se dejó incubar por 3 h realizando mezclas por inversión cada 30 min. Posterior se agregaron 2.5 µL de solución RNasa A (4 mg/mL) y se mezcló por inversión 25 veces, dejando incubar nuevamente por 45 min a 37 °C. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregaron 150 µL de Protein Precipitation Solution mezclándose por inversión (aproximadamente 2 min) y se incubó por 20 min a -20 °C, luego fue centrifugado a 14,000 rpm durante 4 min y el sobrenadante fue transferido a un nuevo tubo.

Se agregaron 600 µL de una solución fenol-cloroformo-álcohol isoamílico en una relación 25:24:1 y se mezcló por inversión, se centrifugó nuevamente a 14,000 rpm por 10 min y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo. Se agregaron 600 µL de cloroformo-álcohol isoamílico en una relación 24:1 y se mezcló por inversión, se centrifugó por 10 min a 14,000 rpm y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo. Se agregaron 600 µL de isopropanol, se mezcló por inversión y después se centrifugó por 3 min a 14,000 rpm y descartando la fase líquida. Luego se agregaron 500 µL de etanol al 70% mezclando por inversión para lavar la pastilla de ADN y se centrifugó por 3 min a 14,000 rpm invirtiendo el tubo para descartar el etanol. Los tubos, con la pastilla de ADN, se dejaron secar por 10 a 15 min sobre papel absorbente. Para la hidratación del ADN se agregaron 50 µL de DNA Hidratation Solution, se incubó a 65 °C por 1 hora y finalmente se almacenó a -20 °C.

Detección del fitoplasma BLTVA y la bacteria *C. Liberibacter solanacearum*

Para la detección del fitoplasma BLTVA, se llevó a cabo un primer PCR con los cebadores universales P1/P7 y P1/Tint (Smart et al., 1996). La reacción fue preparada para un volumen total de 25 µL conteniendo solución de amortiguación para PCR (1X), MgCl₂ (2mM), dNTP's (200 µM de cada uno), cebador (0.6 µM de cada uno,) TaqDNA polimerasa (2 unidades) y ADN (40 ng). Las condiciones para la PCR fueron las siguientes: Un ciclo a 94 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 55 °C por 1 min, 72 °C por 2 min y una extensión final de 72 °C por 10 min. Las reacciones que generaron un fragmento de 1.8 kb con el par de cebadores P1/P7 o un fragmento de 1.6 kb con el par de cebadores P1/Tint, fueron clasificadas como positivas.

Posteriormente, se llevó a cabo una PCR anidada con los cebadores específicos fU5/BLTVAint (Lorenz et al., 1995; Smart et al., 1996) tomando como ADN molde 1 µL del producto del primer PCR con los cebadores P1/P7. Las concentraciones de los reactivos y las condiciones para la PCR anidada fueron las mismas que se utilizaron en el primer ciclo de amplificaciones, cambiando únicamente el tiempo de extensión de 2 a 1 min. Las reacciones que generaron un fragmento de aproximadamente 1.2 kb fueron clasificadas como positivas.

Para la detección de *C. Liberibacter solanacearum* se emplearon los cebadores específicos ClipoF/OI2c (Secor et al., 2009). La reacción fue preparada para un volumen total de 25 µL utilizando los mismos reactivos y concentraciones anteriormente descritas. Las condiciones para la PCR fueron las mismas que se utilizaron para la amplificación de los fitoplasmas. Las reacciones que generaron un fragmento de 1,070 pb fueron clasificadas como positivas.

Las muestras se amplificaron en un termociclador Bio Rad PTC-200. Todos los productos de PCR generados fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% teñidos con bromuro de etidio (0.1 µg/mL) en amortiguador TAE 1X, empleando un transiluminador de luz UV. Para la comparación del peso molecular de los fragmentos obtenidos se utilizaron los marcadores de peso molecular 3kb SibEnzyme Ltd.® y 1 kb invitrogen®.

Resultados

De las 23 muestras de papa analizadas para fitoplasmas con los cebadores universales, ocho resultaron positivas, lo que representa un 34.7% de incidencia de este patógeno. En tomate, de las 47 muestras analizadas para fitoplasmas 12 resultaron positivas con los cebadores universales, representando un 25.5% de incidencia de este patógeno. Las muestras positivas generaron un fragmento de 1.8 kb con el uso de los cebadores P1/P7 y un fragmento de 1.6 kb con el uso de los cebadores P1/Tint (Figuras 1 y 2). Los resultados obtenidos fueron los mismos para ambos cebadores, ya que se amplificaron el mismo número de muestras con cada par de cebadores universales. Cuando se emplearon los cebadores específicos fU5/BLTVA, diecisiete muestras de papa amplificaron un fragmento de aproximadamente 1.2 kb y se consideraron positivas para el fitoplasma BLTVA, representando una incidencia del 73.9% de este patógeno en el total de muestras analizadas. En tomate, catorce muestras resultaron positivas representando un 29.8%

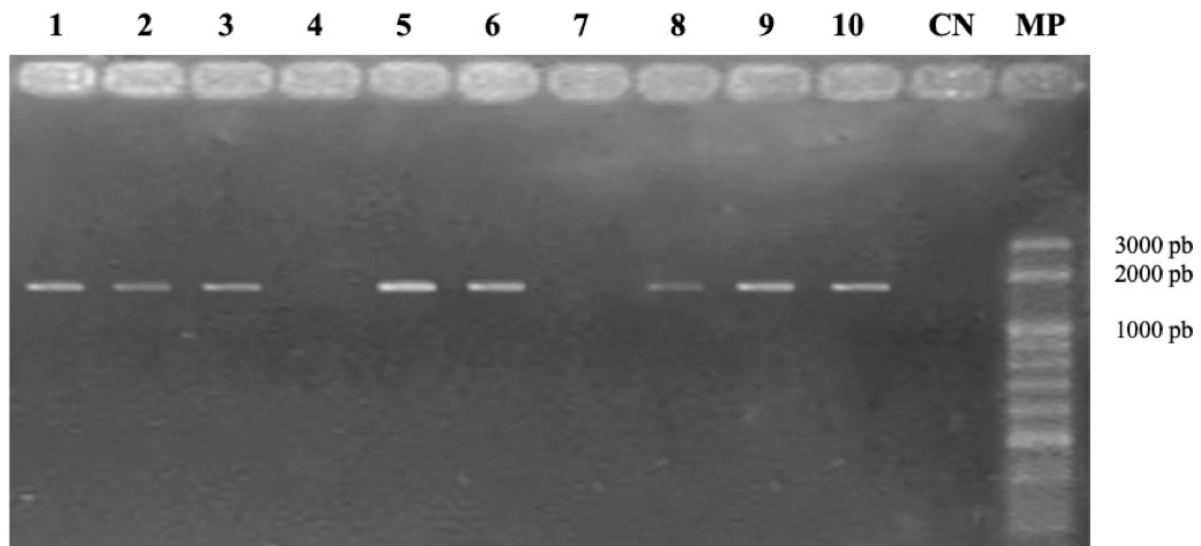


Figura 1. Productos amplificados por PCR con los cebadores P1/P7 a partir del ADN extraído de plantas de tomate y papa con síntomas de punta morada. Carriles 1 – 4: Plantas de tomate colectadas en Antigua Guatemala (T9), Salamá (T21), San Jerónimo (T34) y Purulhá (T42). Carriles 5 – 10: Plantas de papa colectadas en Santa Cruz Balanyá (P48), Purulhá (P52), Zunil (P57) y Jalapa (P64, P67 y P68). CN: Control negativo (agua estéril). MP: Marcador de peso molecular DNA Ladder 3 Kb (SibEnzyme Ltd.®).

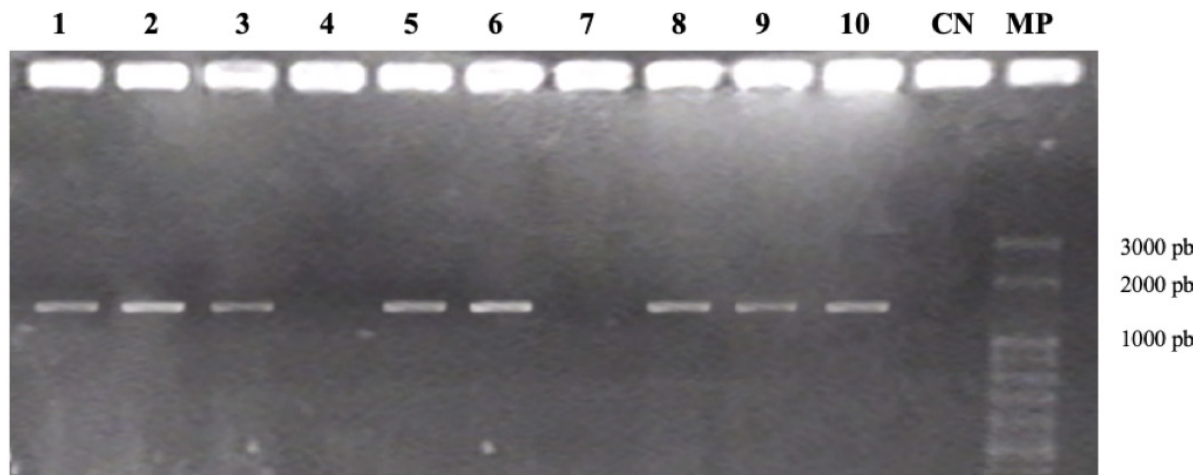


Figura 2. Productos amplificados por PCR con los cebadores P1/Tint a partir del ADN extraído de plantas de tomate y papa con síntomas de punta morada. Carriles 1 – 4: Plantas de tomate colectadas en Antigua Guatemala (T9), Salamá (T21), San Jerónimo (T34) y Purulhá (T42). Carriles 5 – 10: Plantas de papa colectadas en Santa Cruz Balanyá (P48), Purulhá (P52), Zunil (P57) y Jalapa (P64, P67 y P68). CN: Control negativo (agua estéril). MP: Marcador de peso molecular DNA Ladder 3 Kb (SibEnzyme Ltd.®).

de incidencia de este patógeno en el total de muestras analizadas (Figura 3).

En papa, algunas muestras fueron positivas para fitoplasmas con los dos pares de cebadores universales y con el par de cebadores específicos en los municipios de Santa Cruz Balanyá, Purulhá, y Jalapa. Las muestras colectadas en los municipios de Zunil y San Juan Chamelco fueron negativas para fitoplasmas con los cebadores universales y con los específicos. En tomate, se identificaron muestras positivas para fitoplasmas con los dos pares de cebadores universales y/o con los específicos en los municipios de Antigua Guatemala, Salamá, San Jerónimo, Purulhá y Santa Cruz Balanyá (Tabla 1).

Con los cebadores específicos *Cli.po.F/OI2c*, seis muestras de papa fueron positivas para *C. Liberibacter solanacearum*, ya que amplificaron un fragmento esperado de aproximadamente 1,070 pb (Figura 4), lo que representa un 26 % de incidencia de este patógeno en las veintitrés muestras analizadas. En tomate, trece muestras fueron positivas para *C. Liberibacter sola-*

nacerum, con los cebadores específicos (Figura 4), lo que representa un 27.6% de incidencia de este patógeno en las 47 muestras analizadas. La bacteria se detectó en tomate en los municipios de Antigua Guatemala, Villa Nueva, Amatitlán y San Jerónimo y Purulhá; en papa solamente se detectó en el municipio de Purulhá. La presencia mezclada del fitoplasma BLTVa y de la bacteria *C. Liberibacter solanacearum*, en una misma planta, se detectó en seis muestras de papa, que representan el 26% de las muestras totales, y en tres muestras tomate, que representa el 6% de las muestras totales (Tabla 1).

Discusión

En virtud de que algunas muestras resultaron negativas a fitoplasmas en las PCR's directas con los pares de cebadores universales P1/P7 y P1/Tint, se decidió realizar la PCR anidada con la totalidad de las muestras colectadas. Los resultados positivos a fitoplasmas en

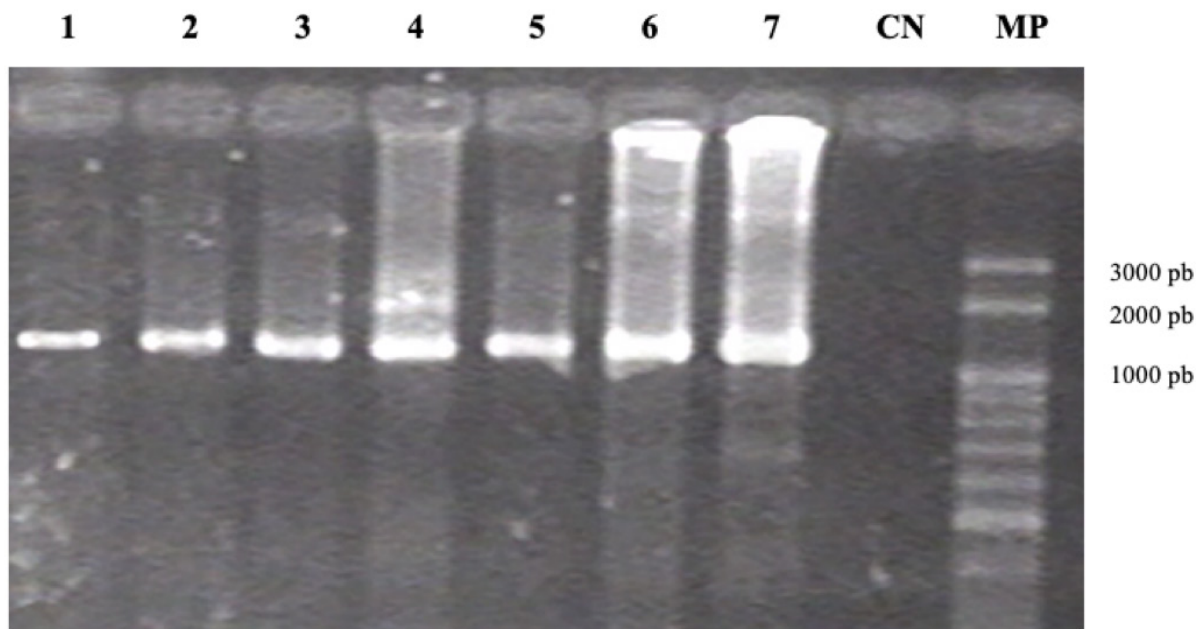


Figura 3. Productos amplificados por PCR con los cebadores fU5/BLTVaInt a partir del ADN extraído de plantas de tomate y papa con síntomas de punta morada. Carriles 1 – 3: Plantas de tomate colectadas en Antigua Guatemala (T9), Salamá (T22) y San Jerónimo (T38). Carriles 4 – 7: Plantas de papa colectadas en Santa Cruz Balanyá (P48), Purulhá (P52) y Jalapa (P64 y P67). CN: Control negativo (agua estéril). MP: Marcador de peso molecular DNA Ladder 3 Kb SibEnzyme Ltd.®)

Tabla 1.

Detección de fitoplasmas asociados a la enfermedad de la punta morada, fitoplama BLTVA (16SrVI) y Candidatus Liberibacter solanacearum en algunas de las principales zonas productoras de tomate y papa en Guatemala.

No.	Sitio de colecta	FTPMS P1/P7	FTPMS P1/Tint	BLVTA	CaLsol	No.	Sitio de colecta	FTPMS P1/P7	FTPMS P1/Tint	BLV-TA	CaLsol
T1		-	-	-	-	T36		+	+	-	+
T2		-	-	-	+	T37	San	+	+	-	-
T3		-	-	-	-	T38	Jerónimo	-	-	+	-
T4		-	-	-	+	T39		-	-	+	+
T5	Antigua Guatemala	-	-	-	-	T40		-	-	+	-
T6		-	-	+	-	T41	Purulhá	-	-	+	-
T7		-	-	+	-	T42		-	-	+	-
T8		-	-	-	+	T43		-	-	+	+
T9		+	+	+	-	T44		-	-	+	+
T10		-	-	-	+	T45		-	-	+	-
T11	Villa Nueva	-	-	-	-	T46		-	-	+	-
T12		-	-	-	-	T47	Santa Cruz	-	-	+	-
T13		-	-	-	-	P48	Balanyá	+	+	+	-
T14		-	-	-	+	P49		-	-	+	-
T15	Amatitlán	-	-	-	+	P50		-	-	+	-
T16		-	-	-	+	P51		-	-	+	+
T17		-	-	-	-	P52		+	+	+	+
T18	Sanarate	-	-	-	-	P53	Purulhá	-	-	+	+
T19		-	-	-	-	P54		-	-	+	+
T20		-	-	-	-	P55		-	-	+	+
T21		+	+	-	-	P56		-	-	+	+
T22		+	+	+	-	P57	Zunil	-	-	-	-
T23		+	+	-	-	P58		-	-	-	-
T24		+	+	-	-	P59		-	-	-	-
T25		+	+	-	-	P60		-	-	-	-
T26		-	-	-	-	P61	Patzicía	-	-	-	-
T27	Salamá	-	-	-	-	P62		-	-	+	-
T28		-	-	-	-	P63		-	-	+	-
T29		+	+	-	-	P64		+	+	+	-
T30		+	+	-	-	P65		+	+	+	-
T31		+	+	-	-	P66	Jalapa	+	+	+	-
T32		-	-	-	-	P67		+	+	+	-
T33		-	-	-	-	P68		+	+	+	-
T34	San	+	+	-	+	P69		+	+	+	-
T35	Jerónimo	-	-	-	+	P70	San Juan Chamelco	-	-	-	-

Nota. Los números acompañados de la literal T representan muestras de tomate, los números acompañados de la literal P representan muestras de papa, FTPMS = Fitoplasmas asociados a la punta morada, BLTVA = Fitoplama BLTVA (16SrVI), CaLsol = *Candidatus Liberibacter solanacearum*, + = presencia, - = ausencia

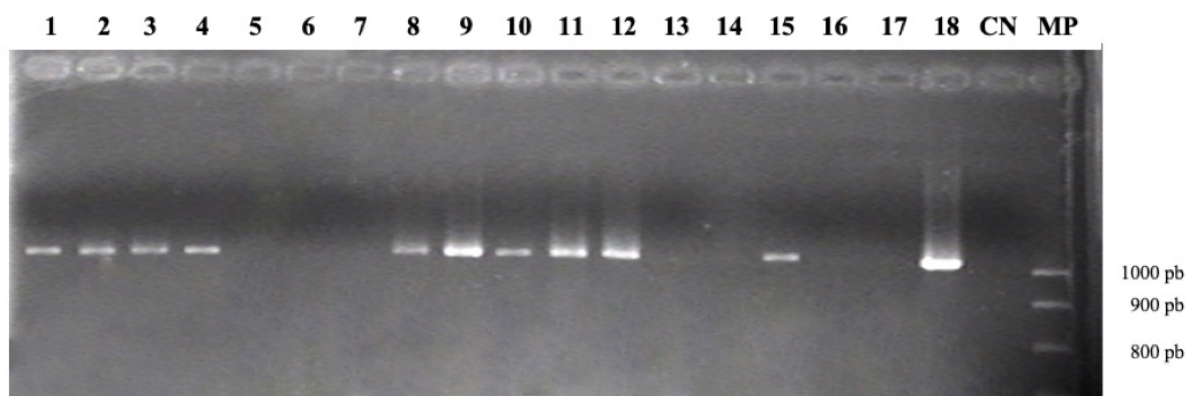


Figura 4. Productos amplificados por PCR con los cebadores *Cli.po.F/OI2c* a partir del ADN extraído de plantas de tomate y papa con síntomas de punta morada. Carriles 1 – 15 : Plantas de tomate colectadas en Antigua Guatemala (T2, T4 y T8), Villa Nueva (T10, T11, T12 y T13), Amatitlán (T15 y T16), San Jerónimo (T34, T36 y T39) y Purulhá (T41, T42 y T44). Carriles 16 – 18: Plantas de papa colectadas en Santa Cruz Balanyá (P49 y P50) y Purulhá (P56). CN: Control negativo (agua estéril). MP: Marcador de peso molecular DNA Ladder 1 Kb (invrogen ®).

papa se incrementaron en más del 100% con esta metodología. De esta manera, de ocho muestras positivas obtenidas en las PCR directas, nueve muestras más fueron positivas con la PCR anidada, dando un total de 17 muestras positivas a fitoplasmas. Estos resultados ponen de manifiesto que la PCR anidada es más sensible que la PCR directa para la detección de fitoplasmas en papa, sobre todo cuando la concentración del patógeno es muy baja en el tejido utilizado para la extracción del ADN, resultados similares se han obtenido en otras investigaciones (Bertaccini et al., 2014; Nejat & Vadamalai, 2010). Nejat y Vadamalai (2013), mencionan que existe una fluctuación estacional del fitoplasma en las plantas. En este trabajo, la colecta de tomate se hizo principalmente en época seca y la de papa se realizó en época lluviosa, lo cual, pudo afectar la concentración del fitoplasma en las muestras colectadas y por ende la diferencia registrada en el porcentaje de muestras que resultaron positivas en los dos cultivos. En cuanto a la distribución y concentración de los fitoplasmas, dentro de las plantas infectadas, se ha reportado que estos factores fluctúan entre las zonas foliares y radicales debido al grado de infección de la enfermedad (Hogenhout et al., 2008; Christensen et al., 2004) lo que podría ser otro factor a considerar, ya que para esta evaluación se colectaron únicamente muestras foliares. Asimismo, ya que los fitoplasmas han sido descritos como habitantes del floema (Namba, 2019; Contaldo et al., 2016), es probable que la concentración de estos sea mayor en los tubérculos por ser depósitos de car-

bohidratos provenientes del floema (Zúñiga-Sánchez et al., 2017), sin embargo, estos no fueron considerados en esta evaluación.

El incremento en el número de muestras positivas a fitoplasmas tras un segundo ciclo de amplificaciones mediante la PCR anidada, responde a que esta técnica tiene la ventaja de incrementar la concentración del amplicón de interés (Hong et al., 2019), siendo reportada en otros estudios para resolver la problemática de una baja concentración del fitoplasma en el tejido infectado (Bertaccini et al., 2014; Demeuse et al., 2016). Se ha demostrado que la PCR anidada es capaz de detectar concentraciones tan bajas de hasta cuatro células de fitoplasma, cuando están contenidas en la mezcla para la reacción de amplificación (Berges et al., 2000). Por tal razón, se detectó un incremento de resultados positivos después de registrarse resultados negativos en algunas muestras en las PCR's directas con los cebadores universales. Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con el primer reporte del fitoplasma BLVTA para Guatemala realizado por Munyaneza (2010), donde se asocia a la enfermedad de la punta morada con el cultivo de papa. Sin embargo, es de resaltar los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que representan el primer reporte de la detección del fitoplasma BLTVA (16SrVI) en el cultivo de tomate para Guatemala.

La detección de muestras positivas para fitoplasmas con los cebadores universales, pero que resultaron negativas con los cebadores específicos *fU5/BLTVAint*, puede indicar la presencia de uno o varios fitoplasmas

que pertenecen a otros grupos ya reportados y que están asociados a la misma enfermedad (Kumari et al., 2019; Santos-Cervantes et al., 2010), o al grupo recién descubierto (16SrII-X), el cual, también está asociado a la enfermedad de la punta morada (Omar et al., 2018). Para lograr la determinación correcta de las muestras que resultaron positivas para la presencia de fitoplasmas asociados a la enfermedad en este estudio, se recomienda realizar la secuenciación de los amplicones de las PCR's directas con los cebadores universales en trabajos futuros, como lo realizado por Caicedo y colaboradores (2015). De esta forma, podrían darse nuevos y certeros informes de otros fitoplasmas aún no reportados para Guatemala, los cuales estarían asociados a la enfermedad de la punta morada.

Los resultados negativos en las muestras sintomáticas pueden asociarse, en primer lugar, a una baja concentración de fitoplasmas, por lo que aún, la detección por PCR anidado con los cebadores específicos, no es suficientemente sensible, recomendándose el uso de PCR en tiempo real por su mayor sensibilidad de detección (Aliaga et al., 2018; Linck et al., 2017; Ustun et al., 2017). En segundo lugar, asumiendo que la primera ronda de amplificaciones por PCR con los cebadores universales fuera positiva, aunque no visualizable por la poca cantidad de amplicones generados; podría tratarse de otras especies de fitoplasmas asociados a la punta morada, por lo tanto, los cebadores específicos no generaron ningún amplicón a pesar de su mayor sensibilidad de detección.

Es importante mencionar que la alta incidencia (100%) del fitoplasma BLTVA (Tabla 1), en los municipios de Jalapa y Santa Cruz Balanyá, concuerda con las observaciones de campo y las experiencias por parte de los agricultores locales. En ambos municipios, la alta incidencia y severidad de la enfermedad han obligado a un número significativo de agricultores, al abandono de la producción de papa, representando un serio problema económico y social para el área.

La detección de *C. Liberibacter solanacearum*, en muestras de papa, confirma la presencia de la bacteria en este cultivo en Guatemala (Palmieri et al., 2012; Secor et al., 2009), y su detección en muestras de tomate, determina la preferencia de especies de la familia Solanaceae como huéspedes de esta bacteria (Liefsting et al., 2009; Melgoza-Villagómez et al., 2018). Al obtener resultados positivos únicamente para la bacteria en algunas muestras de papa y tomate, se confirma que, a nivel foliar, la presencia de *C. Liberibacter solanacearum* causa una sintomatología similar al fitoplasma BLTVA. Sin embargo, es importante resaltar que de

acuerdo a Lin y colaboradores (2009), para el caso de papa, únicamente la bacteria está asociada a la enfermedad Zebra Chip, la cual, genera los síntomas típicos ya descritos en el tubérculo. Por otra parte, la alta incidencia de esta bacteria, en los campos de cultivo de papa en el municipio de Purulhá, ha generado graves pérdidas para los agricultores guatemaltecos del área. Esta situación también puede estar asociada a la presencia del fitoplasma BLTVA y *C. Liberibacter solanacearum* en una misma planta, ya que en dicho municipio se encontraron plantas de papa y tomate infectadas por ambos patógenos, lo cual incrementa la severidad de la enfermedad (Swisher et al., 2018; Gutiérrez-Ibáñez et al., 2013).

Debido a la similitud de síntomas foliares que generan los dos patógenos asociados a esta enfermedad, se hace indispensable el uso de técnicas moleculares para una detección efectiva y, a partir de esta, poder plantear las estrategias adecuadas para su manejo y control. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren la presencia de otros fitoplasmas asociados a la enfermedad de la punta morada, diferentes al BLTVA. Ante esto, se sugiere realizar nuevos monitoreos, en campos de cultivo tanto de papa como de tomate, e incluir la secuenciación de los fragmentos amplificados en las PCR's directas para tener certeza, de que, efectivamente se detectan fitoplasmas y cuáles son los grupos de fitoplasmas presentes en el país. Además, debido al riesgo de transmisión a través tubérculos provenientes de plantas infectadas por fitoplasmas (Crosslin et al., 2011) y/o por *C. Liberibacter solanacearum* (Pitman et al., 2011), es necesario mantener un monitoreo constante en las zonas productoras de semilla de papa para confirmar que están libres de estos patógenos, así como evitar la diseminación de la enfermedad hacia áreas aún no afectadas.

Finalmente, queda confirmada la presencia del fitoplasma BLTVA y *C. Liberibacter solanacearum*, asociados a la enfermedad de la punta morada, en campos de cultivo de papa y tomate en Guatemala. Asimismo, la alta incidencia del fitoplasma BLTVA (73.9%) en las muestras de papa, hacen que éste sea considerado como el agente asociado más importante en dicho cultivo, en comparación con la incidencia de la bacteria *C. Liberibacter solanacearum* (27.6%). Por otra parte, en las muestras de tomate la incidencia del fitoplasma BLTVA (29.8%) y *C. Liberibacter solanacearum* del (27.6%) fue similar. No obstante, estos resultados destacan ampliamente ya que representan el primer reporte de la detección del fitoplasma BLTVA afectando el cultivo de tomate en Guatemala. Como una acción

de control rápida, se recomienda no comprar semilla de papa sin brotes, ya que la sintomatología de punta morada puede observarse en los brotes, logrando así un reconocimiento temprano para evitar la diseminación de la enfermedad.

Agradecimientos

A la Dirección General de Investigación (Digi) por financiar la presente investigación a través de la partida presupuestaria 4.8.63.7.85.

Referencias

- Abad, J. A., Bandla, M., French-Monar, R. D., Liefting, L. W., & Clover, G. R. (2009). First report of the detection of ‘*Candidatus Liberibacter*’ species in zebra chip disease-infected potato plants in the United States. *Plant Disease*, *93*(1), 108. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-1-0108C>.
- Alfaro-Fernández, A., Siverio, F., Cebrián, M. C., Villaescusa, F. J., & Font, M. I. (2012). ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ associated with *Bactericera trigonica*-affected carrots in the Canary Islands. *Plant Disease*, *96*(4), 581. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-11-0878-PDN>
- Aliaga, F., Hopp, E., Alvarez, E., & Becerra, L. A. (2018). First report of a ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’ isolate associated with banana elephantiasis disease in Colombia. *New Disease Reports*, *37*, 12. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2018.037.012>
- Almeyda, L. I. H., Sánchez, S. J. A., Rubio, C. O., Ramos, V. O., & Rocha, P. M. A. (2002). Detección molecular de fitoplasmas en insectos y maleza asociados al cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). En D. G. Fuentes (Ed.), *Memorias del XXIX Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*, Monterrey, Nuevo León, México.
- Almeyda, L. I. H., Sánchez, S. J. A., & Garzón, T. J. A. (2004). Detección molecular de fitoplasmas en papa. En O. A. Flores, M. G. Gallegos & M. O. García (Eds.), *Memorias de Simposio Punta Morada* (pp. 4-14). Coahuila, México.
- Ben-Othmen, S., Morán, F. E., Navarro, I., Barbé, S., Martínez, C., Marco-Noales, E., ... López, M. (2018). ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ haplotypes D and E in carrot plants and seeds in Tunisia. *Journal of Plant Pathology*, *100*, 197–207. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0045-7>
- Berges, R., Rott, M., & Seemüller, E. (2000). Range of phytoplasma concentrations in various plant host as determined by competitive polymerase chain reaction. *Bacteriology*, *90*(10), 1145-1152. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.10.1145>
- Bertaccini, A., Duduk, B., Paltrinieri, S., & Contaldo, N. (2014). Phytoplasmas and phytoplasma diseases: a severe threat to agriculture. *American Journal of Plant Sciences*, *5*(12), 1763-1788. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.512191>
- Bertolini, E., Teresani, G. R., Loiseau, M., Tanaka, F. A. O., Barb, S., Martínez, C., ... & Cambra, M. (2015). Transmission of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ in carrot seeds. *Plant Pathology*, *64*, 276-285. <https://doi.org/10.1111/ppa.12245>
- Caicedo, J., Crizón, M., Pozo, A., Cevallos, A., Simbaña, L., Rivera, L., & Arahana, V. (2015). First report of ‘*Candidatus Phytoplasma aurantifolia*’ (16SrII) associated with potato purple top in San Gabriel-Carchi, Ecuador. *New Disease Reports*, *32*, 20. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.032.020>
- Christensen, N. M., Nicolaisen, M., Hansen, M., & Schulz, A. (2004). Distribution of phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging. *The American Phytopathological Society*, *17*(11), 1175-1184. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.11.1175>
- Contaldo, N., Satta, E., Zambon, Y., Paltrinieri, S., & Bertaccini, A. (2016). Development and evaluation of different complex media for phytoplasma isolation and growth. *Journal of Microbiological Methods*, *127*, 105-110. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.05.031>
- Crosslin, J. M., Hamlin, L. L., Buchman, J. L., & Munyaneza, J. E. (2011). Transmission of potato purple top phytoplasma to potato tubers and daughter plants. *American Journal of Potato Research*, *88*, 339-345. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9199-y>

- Crosslin, J. M., & Munyaneza, J. E. (2009). Evidence that the zebra chip disease and the putative causal agent can be maintained in potatoes by grafting and in vitro. *Journal of Potato Research*, *86*, 183-187. <https://doi.org/10.1007/s12230-009-9070-6>
- Crosslin, J. M., Vandemark, G. J., & Munyaneza, J. E. (2006). Development of a real-time, quantitative PCR for detection of the Columbia Basin potato purple top phytoplasma in plants and beet leafhoppers. *Plant Disease*, *90*(5), 663-667. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0663>
- Delgado-Ortíz, J. C., Beltrán-Beache, M., Cerna-Chávez, E., Aguirre-Urbe, L. A., Landero-Flores, J., Rodríguez-Pagaza, Y., & Ochoa-Fuentes, Y. (2019). *Candidatus* Liberibacter solanacearum patógeno vascular de solanáceas: Diagnóstico y control. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, *22*, 1-12. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.177>
- Demeuse, K. L., Grode, A. S., & Szendrei, Z. (2016). Comparing qPCR and nested PCR diagnostic methods for aster yellows phytoplasma in aster leafhoppers. *Plant Disease*, *100*(2), 2513-2519. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-15-1444-RE>
- El-banna, M., Mikhail, M. S., Farag, A. G., & Mohammed, A. M. (2007). Detection of phytoplasma in tomato and pepper plants by electron microscopy and molecular biology based methods. *Egyptian Journal of Virology*, *4*, 93-111.
- Garzón, T. J. A., Bujanos, M. R., Velarde, F. S., Marín, J. A., Parga, T. V. M., Aviles, G. M. C... Garzón C. J. A. (2004). *Bactericera* (*Paratrioza*) *cockerelli* Sulc., vector de fitoplasmas en México. En O. A., Flores, M. G. Gallegos & M. O. García (Eds.), *Memorias del Simposio Punta Morada de la Papa* (64-83). Coahuila, México.
- Goolsby, J. A., Bextine, B., Munyaneza, J. E., & Setamou, M. (2007). Seasonal abundance of sharpshooters, leafhoppers, and psyllids associated with potatoes affected by zebra chip disorder. *Subtropical Plant Science*, *59*, 15-23.
- Greenway, G.A. & Rondon, S. (2018). Economic impacts of Zebra Chip in Idaho, Oregon, and Washington. *American Journal of Potato Research*, *95*, 362-367. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-9636-2>
- Gutiérrez-Ibáñez, A. T., Laguna-Cerda, A., Rojas-Martínez, R., González-Garza, R., & Salgado-Siclán, M. L. (2012). Molecular detection and classification of the phytoplasma that causes purple top in potatoes (*Solanum tuberosum*) in the State of Mexico. *Ciencia e Investigación Agraria*, *39*(2), 339-346. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202012000200010>.
- Gutiérrez-Ibáñez, A. T., Ricardo, J., Pale, S., Cerda, A. L., Ramírez, J. F., Balbuena, A., & Alvarado, O. (2013). Detección de *Ca* Liberibacter solanacearum y fitoplasmas en cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el Valle de Toluca. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *15*(1), 145-149.
- Hansen, A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R., & Paine, T. D. (2008). A new huanglongbing species, '*Candidatus* Liberibacter psyllaourous', found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(18), 5862-5865. <https://doi.org/10.1128/AEM.01268-08>
- Hogenhout, S. A., Oshima, K., Ammar, E., Kakizawa, S., Kingdom, H. N., & Namba, S. (2008). Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular Plant Pathology*, *9*(4), 403-423. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00472.x>
- Hong, Y., Luo, Y., Yi, J., He, L., Dai, L., & Yi, T. (2019). Screening nested-PCR primer for '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' associated with citrus Huanglongbing and application in Hunan, China. *PLoS ONE*, *14*(2), e0212020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212020>
- Kumari, S., Nagendran, K., Bahadur-Rai, A., Singh, B., Pratap-Rao, G., & Bertaccini, A. (2019). Global status of phytoplasma diseases in vegetable crops. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 1349. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01349>
- Lee, I. M., Bottner, K. D., Munyaneza, J. E., Secor, G. A., & Gudmestad, N. C. (2004). Clover proliferation group (16SrVI) subgroup A (16SRVI-A) phytoplasma is a probable causal agent of potato purple top disease in Washington and Oregon. *Plant Disease*, *88*(4), 429. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.4.429B>.

- Liefting, L. W., Pérez-Egusquiza, Z. C., Clover, G. R. G., & Anderson, A. D. (2008). A new 'Candidatus liberibacter' species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease*, 92(10), 1474-1474. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-10-1474A>.
- Liefting, L. W., Weir, B. S., Pennycook, S. R., & Clover, G. R. G. (2009). 'Candidatus Liberibacter solanacearum', associated with plants in the family Solanaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 2274-2276. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.007377-0>
- Lin, H., Doddapaneni, H., Munyaneza, J. E., Civerolo, E. L., Sengoda, V. G., Buchman, J. L., & Stenger, D. C. (2009). Molecular characterization and phylogenetic analysis of 16S rRNA from a new 'Candidatus Liberibacter' strain associated with zebra chip disease of potato (*Solanum tuberosum* L.) and the potato psyllid (*Bactericera cockerelli*). *Journal of Plant Pathology*, 91(1), 215-219.
- Linck, H., Krüger, E., & Reineke, A. (2017). A multiplex TaqMan qPCR assay for sensitive and rapid detection of phytoplasmas infecting *Rubus* species. *PLoS ONE*, 12(5), e0177808. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177808>
- Longoria-Espinoza, R. M., Douriet-Gómez, N. R., Lopez-Meyer, M., Quiroz-Figueroa, F., Bueno-Ibarra, M., Méndez-Lozano, J., ... Leyva-López, N. E. (2013). Differentially regulated genes in *Solanum tuberosum* in response to Mexican potato purple top phytoplasma infection. *Physiologia and Molecular Plant Pathology*, 81, 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.10.001>
- Lorenz, K. H., Schneider, B., Ahrens, U., & Seemüller, E. (1995). Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopathology*, 85(7), 771-776.
- Maramorosch, K. (1998). Potato purple top wilt. Segundo Simposium *Internacional de Papa* (pp. 13-15). Toluca, Estado de México.
- Mejía, L., Sánchez-Pérez, A., Méndez, L., Maxwell, D. P., Gilbertson, R. L., Rivera, G. A., & Secor, G. A. (2010). Preliminary report on association of "Candidatus Liberibacter solanacearum" with field grown tomatoes in Guatemala. *Tomato Genetics Cooperative*, 60, 54-57.
- Melgoza-Villagómez, C. M., León-Sicarios, C., López-Valenzuela, J. A., Hernández-Espinal, L. A., Velarde-Félix, S., & Garzón-Tiznado, J. A. (2018). Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en *Bactericera cockerelli* Sulc asociada con enfermedades en tomate, chile y papa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(3), 499-509.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. (2016). *El Agro en cifras, 2016*. Guatemala: Autor.
- Munyaneza, J. E. (2005). Purple top disease and beet leafhopper transmitted virescence agent (BLTVA) phytoplasma in potatoes of the Pacific Northwest of the United States. En A. J. Haverkort & P. C. Struik (Eds.), *Potato in progress, science meets practice* (pp. 211-220). Proceedings of the Potato Congress. Emmeloord, The Netherlands.
- Munyaneza, J. E. (2010). Emerging leafhopper-transmitted phytoplasma diseases of potato. *Southwestern Entomologist*, 35(3), 451-456. <https://doi.org/10.3958/059.035.0331>
- Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M., & Ing-Ming, L. (2007). Phytoplasma diseases and insect vectors in potatoes of the Pacific northwest of the United States. *Bulletin of Insectology*, 60(2), 181-182.
- Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M., & Upton, J. E. (2007). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "Zebra Chip," a new potato disease in Southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 100(3), 656-663. [https://doi.org/10.1603/0022-0493\(2007\)100\[656:A0BCHP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2007)100[656:A0BCHP]2.0.CO;2)
- Munyaneza, J. E., Crosslin, J. M., & Upton, J. E. (2006). Beet leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) transmits the Columbia Basin potato purple top phytoplasma to potatoes, beets, and weeds. *Journal of Economic Entomology*, 99(2), 268-272. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.2.268>
- Munyaneza, J. E., Fisher, T. W., Sengoda, V. G., Garczynski, S. F., Nissinen, A., & Lemmetty, A. (2010). First report of "Candidatus Liberibacter solanacearum" associated with psyllid-affected carrots in Europe. *Plant Disease*, 94(5), 639. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-5-0639A>
- Munyaneza, J. E., Goolsby, J. A., Crosslin, J. M., & Upton, J. E. (2007). Further evidence the zebra

- chip potato disease in the Lower Rio Grande Valley of Texas is associated with *Bactericera cockerelli*. *Subtropical Plant Science*, 59, 30-37.
- Namba, S. (2019). Molecular and biological properties of phytoplasmas. *Proceedings of the Japan Academy Series B*, 95(7), 401-418. <https://doi.org/10.2183/pjab.95.028>.
- Nejat, N., & Vadamalai, G. (2010). Phytoplasma detection in coconut palm and other tropical crops. *Plant Pathology Journal*, 9(3), 112-121. <https://doi.org/10.3923/ppj.2010.112.121>
- Nejat, N., & Vadamalai, G. (2013). Diagnostic techniques for detection of phytoplasma diseases: past and present. *Journal of Plant Diseases and Protection -New Series-*, 120(1), 16-25. <https://doi.org/10.1007/BF03356449>
- Omar, A., Aljmhan, K., Abdullah, S., & Pérez-López, E. (2018). Potato purple top disease associated with the novel subgroup 16SrII-X phytoplasma. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68, 3678-3682. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003033>
- Palmieri, M., Mejía, F., Polanco, M., Mansilla, F., Donis, I., Catalán, A., ... López, A. (2012). *Caracterización de patógenos, vectores y hospederos de la papa rayada en Guatemala* (Proyecto FODECYT No. 077-2006). Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Universidad del Valle de Guatemala.
- Pitman, A. R., Drayton, G. M., Krabberger, S. J., Genet, R. A., & Scott, I. A. W. (2011). Tuber transmission of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ and its association with zebra chip on potato in New Zealand. *European*, 129, 389-398. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9702-1>
- Santos-Cervantes, M. E., Chávez-Medina, J. A., Acosta-Pardini, J., Flores-Zamora, G. L., Méndez-Lozano, J., & Leyva-López, N. E. (2010). Genetic diversity and geographical distribution of phytoplasmas associated with potato purple top disease in Mexico. *Plant Disease*, 94(250), 22-25. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-4-0388>
- Secor, G. A., & Rivera-Varas, V. V. (2004). Emerging diseases of cultivated potato and their impact on Latin America. *Revista Latinoamericana de La Papa*, 1, 1-8.
- Secor, G. A., Rivera, V. V., Pathology, P., Dakota, N., Abad, J. A., Lee, I., ... De Boer, S. H. (2009). Association of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ with zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR. *Plant Disease*, 93(6), 574-583. <https://doi.org/10.1094/pdis-93-6-0574>
- Smart, C. D., Schneider, B., Blomquist, C. L., Guerra, L. J., Harrison, N. A., Ahrens, U., ... Kirkpatrick, B. C. (1996). Phytoplasma-specific PCR primers base on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(8), 2988-2993.
- Swisher, K. D., Munyaneza, J. E., Velásquez-Valle, R., & Mena-Covarrubias, J. (2018). Detection of pathogens associated with psyllids and leafhoppers in *Capsicum annum* L. in the Mexican states of Durango, Zacatecas and Michoacán. *Plant Disease*, 102, 146-153. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-17-0758-RE>
- Teresani, G. R., Bertolini, E., Alfaro-Fernandez, A., Martinez, C., Tanaka, F. A. O., Kitajima, E. W., ... Lopez, M. M. (2014). Association of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ with a vegetative disorder of celery in Spain and development of real-time PCR method for its detection. *Phytopathology*, 104, 80-811. <https://doi.org/10.1094/PHTO-07-13-0182-R>
- Ustun, R., Yol, E., Ikten, C., Catal, M., & Uzun, B. (2017). Screening, selection and real-time qPCR validation for phytoplasma resistance in sesame (*Sesamum indicum* L.). *Euphytica*, 213, 159. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1936-y>
- Zuñiga-Sánchez, E., Martínez-Barajas, E., Zavaleta-Mejía, E., & Gamboa, A. (2017). El floema y la ruta simplástica durante la formación de órganos de demanda. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(3), 249-259.

Identificación de marcadores moleculares (SNP) y genes candidatos asociados a la tolerancia genética al complejo mancha de asfalto en variedades nativas de maíz (*Zea mays* L.)

Identification of molecular markers (SNP) and candidate genes associated to genetic tolerance to tar spot complex disease in maize (Zea mays L.) landraces

David O. González-Diéguez*, Carlos A. Orozco-Castillo

Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: dogrdc@gmail.com

Recibido: 20 de septiembre de 2019 / Fecha de 1era revisión: 24 de octubre de 2019 /
Aceptado: 03 de marzo de 2020 / Disponible en línea: 10 de noviembre de 2020

Resumen

El complejo mancha de asfalto (CMA) en maíz (*Zea mays* L.), causado por los hongos *Phyllachora maydis* Maubl. y *Monographella maydis* Müller & Samuels, es una enfermedad de importancia económica en Guatemala, que ha causado pérdida en el rendimiento entre 30 a 50%, inclusive del 100% si las condiciones son favorables. El objetivo de esta investigación fue identificar marcadores de un solo nucleótido o SNP (Single Nucleotide Polymorphism, por sus siglas en inglés) y genes candidatos asociados a la tolerancia genética al CMA. Para ello se analizaron 463 poblaciones nativas y 329,692 SNP, y se compararon dos modelos genómicos, single marker y BayesB, para la identificación de regiones asociadas a la tolerancia genética al CMA. Se identificaron 40 marcadores SNP asociados significativamente a la tolerancia genética al CMA con ambos modelos. La proporción de variación fenotípica total explicada (PVE) por los 40 SNPs fue de 56%, atribuida a efectos genéticos aditivos. Múltiples genes de resistencia a enfermedades fueron identificados en las regiones señaladas por los marcadores SNP. Sus funciones principales son receptores y transductores de señal, factores de transcripción que regulan positivamente la expresión de genes de tolerancia y genes de la familia kinasa, por lo que potencialmente están involucrados en el mecanismo de defensa al CMA.

Palabras claves: modelos genómicos, estudio de asociación del genoma completo, genotipificación por secuenciación, resistencia genética, Loci de un carácter cuantitativo (QTL).

Abstract

The tar spot complex (TSC) disease in maize (*Zea mays* L.), caused by the fungi *Phyllachora maydis* Maubl. and *Monographella maydis* Müller & Samuels, is an economic important disease in Guatemala, producing yield losses between 30 to 50%, inclusive of 100% if the conditions are favorable. The objective of this research was to identify single nucleotide polymorphism markers (SNP) and candidate genes associated with genetic tolerance to TSC. A set of 463 native populations and 329,692 SNP were analyzed with two genomic models, single marker and BayesB, for the identification of regions associated with genetic tolerance to TSC. Forty SNP markers were significantly associated with the genetic tolerance to TSC with both models. The proportion of total phenotypic variation explained (PVE) by the 40 SNPs was 56%, attributed to additive genetic effects. Multiple candidate genes for disease resistance were identified in the regions indicated by the SNP markers. Their main functions are signal transducers and receptors, transcription factors that positively regulate the expression of tolerance genes and family kinase genes, therefore, they are potentially involved in the defense mechanism to TSC.

Keywords: genomic models; genome-wide association study; genotyping by sequencing; genetic resistance; quantitative trait loci (QTL).



Introducción

La enfermedad complejo mancha de asfalto (CMA) en maíz (*Zea mays* L.), inducida por los hongos *Phyllachora maydis* Maubl., *Monographella maydis* Müller & Samuels y *Coniothyrium phyllachorae* Maubl., ha cobrado gran importancia en la última década por su amplia distribución y severidad debida a la interacción sinérgica de los patógenos involucrados. Ha sido reportada en la mayoría de países de Latino América (Hock et al., 1992; Mahuku et al., 2013), y en el 2015, *P. maydis* fue reportado en los Estados Unidos de América (Loladze, 2019). Los síntomas comienzan con la infección de *P. maydis*, seguido por la invasión de *M. maydis*, lo cual resulta en una interacción sinérgica que provoca la necrosis del tejido foliar (Hock et al., 1992; Pereyda-Hernández et al., 2009). La reducción en el rendimiento de grano y forraje varía entre 30 y 50%, dependiendo de la susceptibilidad del genotipo, si la enfermedad ataca antes o después de la floración y si las condiciones ambientales son favorables para producir una epidemia (Hock et al., 1989).

En Guatemala el primer reporte del CMA data del 1974, sin causar pérdida económica al cultivo (Monterroso et al., 1974). Fue hasta el 2007 cuando se reportó la presencia del CMA en el municipio de Ixcán, Quiché, con pérdidas de producción de grano de alrededor del 80%. En años subsiguientes, la enfermedad fue reportada en los departamentos del Petén, la región del Valle del Polochic en Alta Verapaz, en Jalapa e Izabal (Red SICTA/IICA/Cooperación Suiza, 2011). Como referencia, bajo el supuesto de que *M. maydis* llegue a los Estados Unidos, la pérdida potencial por cada 1% de reducción en producción se estiman en 1.5 millones de Tm de grano y US\$ 231.6 millones (Mottaleb et al., 2019).

El desarrollo de materiales genéticamente tolerantes a enfermedades es considerado la mejor estrategia para el control de enfermedades (Crute & Pink, 1996). Para alcanzar una tolerancia más durable es importante ampliar la base genética de los cultivares (Strange & Scott, 2005), lo cual es posible para el caso del CMA considerando la evidencia aportada por los estudios realizados por Ceballos y Deutsch (1992) y Hernández-Ramos y colaboradores (2015), quienes identificaron la presencia de efectos dominantes, así como un fuerte componente aditivo, lo que implica que diversos genes están involucrados y pueden ser acumulados mediante selección.

Con el avance de la biotecnología y el desarrollo

de plataformas de genotipificación de alto rendimiento es posible rastrear regiones del genoma asociadas a determinados rasgos observables o fenotipos mediante estudios de asociación del genoma completo o genome-wide association studies (GWAS, por sus siglas en inglés). Elshire y colaboradores (2011) desarrollaron el método de Genotipificación por Secuenciación (GBS, por sus siglas en inglés), el cual es robusto y simple para especies de plantas con alta diversidad, capaz de analizar un gran número de muestras por ensayo y descubrir millones de marcadores de un solo nucleótido o *single nucleotide polymorphism* (SNP, por sus siglas en inglés). Diversos estudios GWAS han sido realizados en los principales cultivos de importancia mundial, en los cuales se han logrado identificar loci de caracteres cuantitativos (QTL, por sus siglas en inglés) asociados a tolerancia a estrés biótico y abiótico (Brachi et al., 2011). El maíz es una planta ideal para estudios a nivel molecular, ya que el desequilibrio de ligamiento genético decae entre 5 y 10 kilo pares de bases (kpb) en germoplasma tropical de maíz (Lu et al., 2011), lo cual lo hace especial para mapeo genético (Liu et al., 2014). Dos estudios GWAS para tolerancia al CMA han sido reportados en la literatura, en los cuales se analizaron líneas elite endogámicas utilizando marcadores SNP (Cao et al., 2017; Li et al., 2016). Ambos estudios coinciden en la identificación de un QTL de efecto mayor (qRtcs8-1) que confiere tolerancia al CMA y explica entre 13 y 43% de la variación fenotípica observada.

Las variedades nativas son una fuente importante de variación genética, ya que han sido seleccionadas por agricultores por su productividad y adaptabilidad a las condiciones ambientales locales (Pritsch, 2001). En este sentido, la evaluación de variedades nativas de maíz permitiría explorar una gran diversidad genética, convirtiéndose en potenciales portadoras de genes de resistencia a enfermedades. Los objetivos de este estudio fueron (a) identificar marcadores moleculares SNP asociados a la tolerancia genética al CMA en poblaciones nativas de maíz y (b) identificar genes candidatos potencialmente involucrados en mecanismos de defensa al CMA.

Materiales y Métodos

Base de datos fenotípica y genotípica

Se utilizaron las bases de datos fenotípica y genotípica generadas por el proyecto MasAgro-

Biodiversidad-Cimmyt, las cuales son accesibles al público. Para más detalles acerca de las bases de datos fenotípica y genotípica puede consultar en la web de CIMMYT. SeeD Maize Germinate (<http://germinate-stg.seedsofdiscovery.org/maize/>) (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo [CIMMYT], 2017). La base de datos fenotípica contiene las estimas BLUP (Best Linear Unbiased Prediction, en inglés) del nivel de tolerancia al CMA de 535 poblaciones nativas, obtenidas a partir de la evaluación de sus respectivos mestizos derivados del cruce con probadores (híbridos de cruce simple). Los mestizos fueron evaluados en campo bajo condiciones naturales de infección en el 2011 en la localidad Guadalupe Victoria, Estado de Chiapas, México. La mayoría de las poblaciones nativas utilizadas fueron colectadas entre 1952 y 1960 en México, Brasil y Guatemala, y en menor proporción provenientes de otros países de Centro y Sudamérica. La base de datos genotípica contiene información de un panel de más de 4,000 poblaciones nativas del Banco de Germoplasma de Maíz del CIMMYT y contiene 946,072 marcadores SNP distribuidos en los 10 cromosomas del maíz (CIMMYT, 2017). El genotipado se realizó utilizando el método GBS, descrito por Elshire et al. (2011).

Procesamiento y control de calidad de la base de datos fenotípica y genotípica

El control de calidad de la base de datos fenotípica consistió en descartar todos los genotipos con fenotipo faltante y sin información de marcadores SNP. De las 535 poblaciones, solamente 463 pasaron el control de calidad. Se realizó un análisis descriptivo del nivel de tolerancia al CMA medido en post-floración y un gráfico de dispersión del nivel de severidad de la enfermedad y el rendimiento de grano por parcela (g) utilizando el programa R Statistics (R-Core Team, 2017).

De la base de datos genotípica se extrajo el genotipo de las 463 poblaciones nativas. Posteriormente se realizó el control de calidad que consistió en eliminar aquellos marcadores cuya frecuencia del alelo menor era menor de 5%. Se seleccionaron aquellos marcadores que no tenían genotipos faltantes. Después del filtrado se obtuvieron 329,692 SNPs polimórficos. El control de calidad se realizó con el software TASSEL (Bradbury et al., 2007).

Estimación de la heredabilidad de la tolerancia al CMA

Se utilizó el método LDAK (*linkage disequilibrium adjusted kinship*, en inglés) para estimar los componentes de varianza (varianza genética aditiva y varianza residual). Este método ajusta la matriz de relaciones genómicas aditivas por la correlación existente entre SNP-SNP debido al desequilibrio de ligamiento (LD) (Speed et al., 2017). Después de ajustar la matriz de relaciones genómicas, se estiman los componentes de varianza mediante un análisis de máxima verosimilitud restringida (REML, del inglés *restricted maximum likelihood*), incluyendo las ponderaciones del aporte de cada SNP. Para implementar este método se utilizó el software LDAK v.5 (Speed et al., 2017). A partir de las estimas de componentes de varianza se calculó la heredabilidad con la siguiente ecuación (Daetwyler et al., 2014):

$$\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_e^2} \quad (1)$$

Donde $\hat{\sigma}_g^2$ es la estimación de la varianza genética aditiva capturada por los marcadores moleculares y $\hat{\sigma}_e^2$ es la estimación de la varianza residual.

Estudio de asociación del genoma completo

Para la identificación de marcadores SNP asociados a la tolerancia genética al CMA se evaluaron dos modelos para estimar los efectos de los marcadores: *Single Marker* y BayesB. El primero consiste en evaluar un solo marcador a la vez mediante un modelo lineal mixto, de tal forma que se realizan tantas regresiones y pruebas de hipótesis como marcadores existan. Se utilizó el modelo lineal mixto descrito por Yu y colaboradores (2006), el cual incluye control de la estructura de población y de relaciones de parentesco para reducir la tasa de falsos positivos. El modelo puede ser escrito de la siguiente manera:

$$\mathbf{y} = \mathbf{W}\boldsymbol{\nu} + \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (2)$$

Donde \mathbf{y} es el vector de fenotipos (BLUPs) de las poblaciones nativas de dimensión n , $\boldsymbol{\nu}$ corresponde a los efectos fijos de los primeros tres componentes principales, $\boldsymbol{\beta}$ es el efecto fijo de los marcadores; \mathbf{u} son los efectos genéticos aditivos con distribución $\mathbf{u} \sim N_n(\mathbf{0}, \mathbf{G})$. \mathbf{G} es la matriz de covarianza $\mathbf{G} = 2 \mathbf{K}\sigma_a^2$, donde \mathbf{K} es la

matriz de relaciones genómicas de dimensiones $n \times n$, con elementos $\mathbf{K}_{ij}(i, j = 1, \dots, n)$ calculada a partir del conjunto de marcadores genéticos, codificados como 0, 1 y 2 para los genotipos aa, Aa y AA, respectivamente; y σ_a^2 es la varianza genética aditiva. \mathbf{W} , \mathbf{X} , y \mathbf{Z} son las matrices de incidencia para ν , β y \mathbf{u} respectivamente y $\boldsymbol{\varepsilon}$ es el vector de residuales aleatorios, el cual se distribuye $\boldsymbol{\varepsilon} \sim N_n(\mathbf{0}, \mathbf{R})$, donde $\mathbf{R} = \mathbf{I}\sigma_\varepsilon^2$ e \mathbf{I} es una matriz identidad y σ_ε^2 es la varianza residual desconocida. El umbral de significancia para seleccionar los marcadores fue $\alpha = .0001$. Para implementar este modelo se utilizó el software TASSEL. El modelo bayesiano BayesB, descrito originalmente por Meuwissen y colaboradores (2001), se basa en el hecho de que hay pocos loci que generan varianza genética para el carácter de interés. Para ello, el modelo BayesB utiliza una distribución a priori mixta para estimar los efectos de los marcadores, la cual consta de un punto de masa fijado en cero y una distribución normal. De esta manera la mayoría de marcadores con efecto genético nulo son llevados al punto de masa en cero, mientras que los pocos loci con efecto genético toman un valor de la distribución normal (Meuwissen et al., 2001). El modelo puede escribirse de la siguiente manera:

$$\mathbf{y} = \mathbf{1}\mu + \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (3)$$

Donde \mathbf{y} es el vector de fenotipos, $\mathbf{1}$ es un vector cuyos elementos son unos, asociado al intercepto μ , \mathbf{X} es la matriz de marcadores SNP codificados como 0, 1 y 2 para los genotipos aa, Aa y AA, respectivamente. $\boldsymbol{\varepsilon}$ es el vector de residuos aleatorios, el cual se distribuye $\boldsymbol{\varepsilon} \sim N_n(\mathbf{0}, \mathbf{R})$, donde $\mathbf{R} = \mathbf{I}\sigma_\varepsilon^2$ e \mathbf{I} es una matriz identidad y σ_ε^2 es la varianza de residuos. $\boldsymbol{\beta}$ son los efectos de los marcadores, a los cuales se les asigna una distribución a priori mixta:

$$\beta_j \sigma_j^2, \pi = \begin{cases} 0 & \text{con probabilidad } \pi \\ N(0, \sigma_j^2) & \text{con probabilidad } (1 - \pi) \end{cases}$$

La distribución a priori de la varianza de los marcadores es $\sigma_j^2 \sim \chi^{-2}(q, S)$ para $j = 1, \dots, p$ y donde q son los grados de libertad y S es la escala del parámetro. La proporción de marcadores con efecto diferente de cero fue definida a priori con un valor de 0.001, lo que significa que al menos 0.1% de los marcadores tienen efecto diferente de cero. Como criterio para selección de marcadores se utilizó la probabilidad de inclusión posterior (PIP), que es la probabilidad de que un marcador tenga un

efecto diferente de cero (Berg et al., 2013; Pérez-Rodríguez & de los Campos, 2014). El umbral de selección fue una probabilidad mayor o igual que 0.05 (PIP > 0.05). Para implementar este modelo se utilizó el paquete BGLR en R (Pérez-Rodríguez & de los Campos, 2014). Para calcular la proporción de variación fenotípica explicada (PVE) por los marcadores identificados, se ajustaron modelos de regresión lineal múltiple con el conjunto de marcadores identificados con cada modelo de manera independiente. El coeficiente de determinación ajustado r_{aj}^2 obtenido en la regresión es equivalente a la PVE por los marcadores en conjunto (Collard et al., 2005). También se ajustó un modelo de regresión combinando los marcadores identificados con ambos modelos (single marker y Bayes B). Adicionalmente, el software TASSEL calcula un coeficiente de determinación r^2 para cada marcador, lo cual da una idea de cuanto explica cada marcador en particular. Los modelos de regresión lineal múltiple se ajustaron utilizando la función `lm()` en R.

Identificación de genes candidatos

Para el análisis del gen candidato se consideró una ventana de 200 kpb (± 100 Kpb corriente abajo y corriente arriba) tomando como referencia la posición física de los marcadores identificados en el análisis GWAS. La búsqueda de genes candidatos se realizó en la base de datos MaizeGDB (Andorf et al., 2016; Portwood et al., 2019), basado en el genoma de referencia "B73" RefGen_v2(MGSC). Para identificar la posible función del gen candidato se utilizó la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Resultados

Análisis fenotípico

El valor medio (desviación estándar) del nivel de tolerancia al CMA fue de 3.6(0.40), con un rango entre 2.4 y 4.5. El coeficiente de variación fue de 11.2 %. Las poblaciones nativas CHIS474, OAXA280, GUAT153, HAIT13 y TABA26 fueron las que mostraron mayores niveles de tolerancia mientras que las poblaciones OAXA130, BRAZI1 y QROO53 fueron las más susceptibles. La Figura 1 muestra la correlación entre el nivel de tolerancia y rendimiento observado. Se aprecia una correlación negativa (-0.4), por lo que las poblaciones más susceptibles tienden a presentar rendimientos más bajos. Llama la

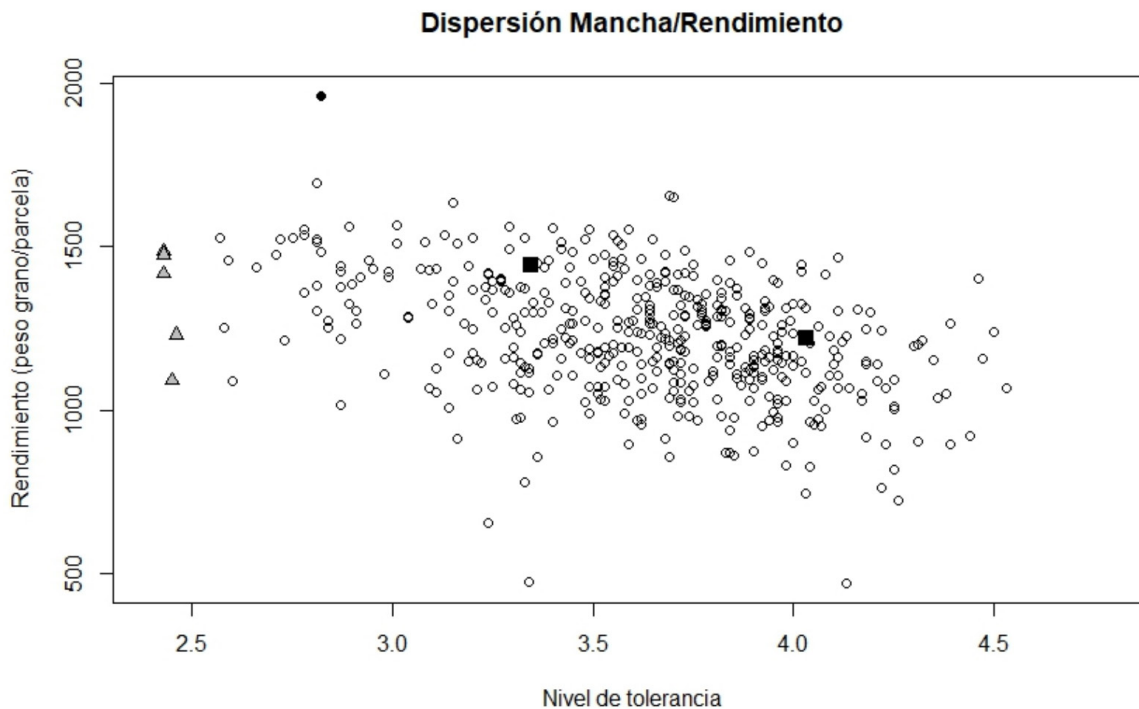


Figura 1. Gráfico de correlación entre nivel de tolerancia a mancha de asfalto y rendimiento de los mestizos derivados de las variedades nativas de maíz. Triángulos grises son los mestizos más tolerantes; los cuadrados negros son los testigos comerciales; el círculo negro es el mestizo derivado de la población VERAGP24_484.

atención la población VERAGP24_484, sobresaliente en rendimiento, pero con moderada susceptibilidad.

Estimación de la heredabilidad de la resistencia al CMA basada en SNPs

Se obtuvieron las siguientes estimas de los componentes de varianza, $\sigma_g^2 = 0.0798$ y $\sigma_e^2 = 0.0197$. La estima de la heredabilidad usando marcadores SNP fue $\hat{h}^2 = 0.80$, lo cual revela que la variación observada del nivel de tolerancia al CMA es predominantemente controlada por los efectos genéticos aditivos.

Identificación de marcadores SNP asociados a tolerancia a mancha de asfalto

Con el modelo single marker se identificaron 25 SNPs distribuidos en todos los cromosomas, excepto el nueve (Tabla 1). La proporción de PVE en conjunto por los 25 SNPs fue de 34.25%. En la Figura 2a se muestra la distribución de los marcadores en los cromosomas y sus respectivos puntajes en una escala $-\log_{10}(p)$. Con el modelo BayesB se identificaron 26 marcadores (Tabla 2). Al igual que con el método *single marker*, los marca-

dores asociados se encuentran distribuidos en todos los cromosomas, excepto el nueve. La proporción de PVE en conjunto por los 26 SNPs fue de 52.26%. Los marcadores con mayor probabilidad posterior de inclusión fueron S1_293221122, S6_111966489, S2_19259181 y S1_187644290. La Figura 2b muestra la distribución de los marcadores en los cromosomas y sus respectivos valores PIP.

Al comparar ambos modelos, 11 SNPs fueron identificados en común, lo cual resulta en 40 SNPs únicos al combinar ambos modelos. Los 11 SNPs en común fueron S1_293221122, S1_79329381, S2_19259181, S4_234954673, S6_111966489, S6_111966499, S6_111966511, S6_111966523, S6_164681025, S8_15101936 y S10_135336611.

Es posible que estos marcadores puedan estar fuertemente ligados a QTL que controlan la tolerancia/susceptibilidad al CMA. Los marcadores se encuentran distribuidos en 23 regiones o “Bins” (Tabla 3). La PVE fue de 56% y 22.24% para el grupo de 40 y 11 SNPs, respectivamente. De manera individual, la mayor PVE fue de 5.37% correspondiente al marcador S2_19259181, ubicado en el cromosoma 2 bin 2.03. No se identificaron marcadores asociados a QTL de efecto mayor en este conjunto de datos.

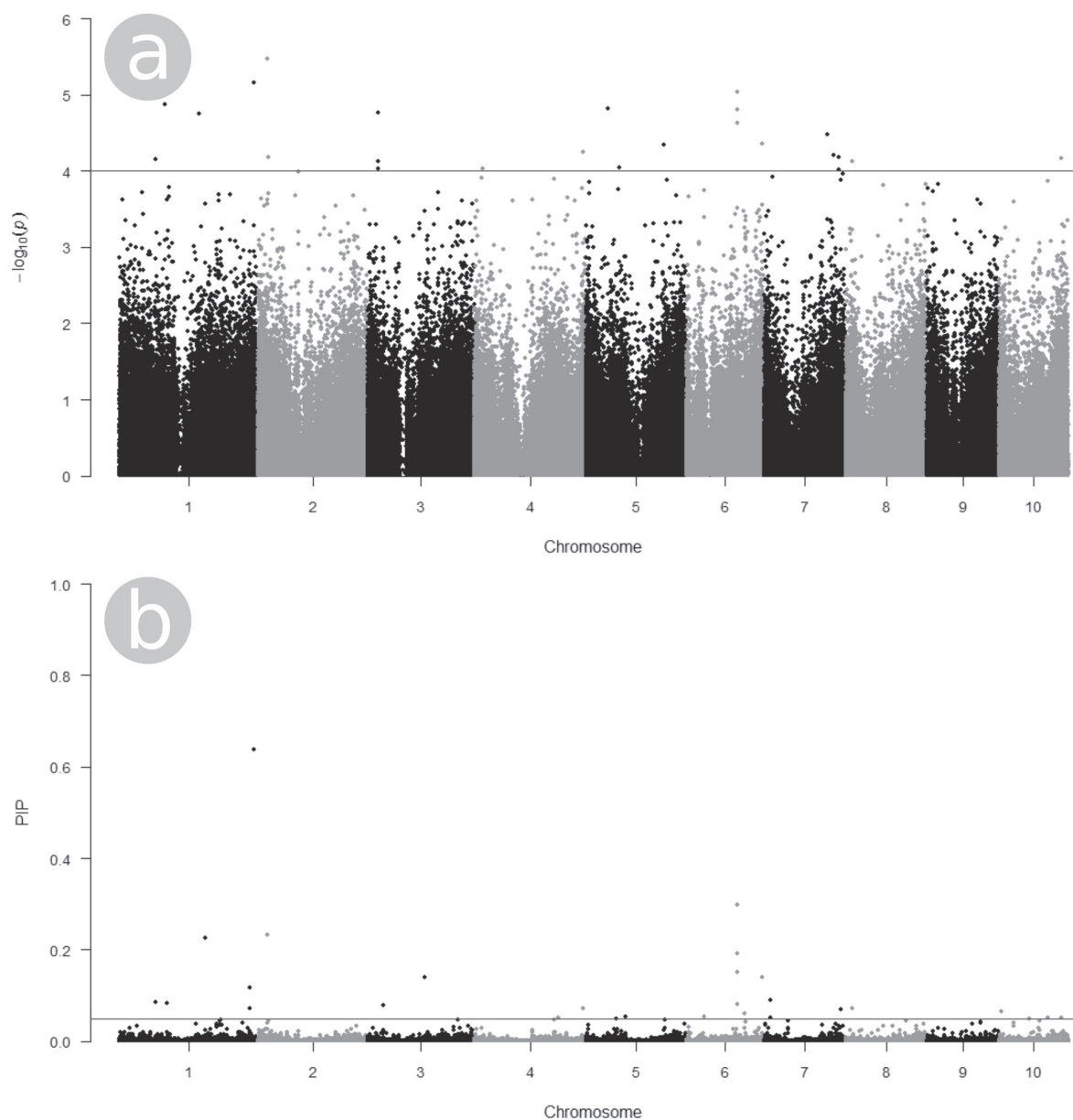


Figura 2. Gráficos tipo Manhattan mostrando la distribución de los marcadores en los 10 cromosomas y su respectivo puntaje según el modelo y escala utilizada. Los colores diferencian a los cromosomas. La línea gris indica el umbral de significancia. (a) Valores de probabilidad en escala $-\log_{10}(p)$ obtenidos con el modelo lineal mixto *single marker* y el umbral de significancia es $\alpha = .0001$ ($-\log_{10}(0.0001) = 4$). (b) Valores PIP obtenidos con el modelo BayesB y el umbral de selección de marcadores es $PIP > .05$.

Tabla 1.

Marcadores SNP (25) asociados significativamente a la resistencia a mancha de asfalto identificados con el modelo lineal mixto single marker.

SNP ID	Cromosoma	Posición	MAF	<i>p</i>	PVE
S2_19259181*	2	19259181	0.25378	3.35E-06	0.05377
S1_293221122*	1	293221122	0.17387	6.82E-06	0.05066
S6_111966489*	6	111966489	0.2635	9.04E-06	0.04942
S6_111966511*	6	111966511	0.2635	9.04E-06	0.04942
S1_98461847	1	98461847	0.31425	1.31E-05	0.04779
S5_48488908	5	48488908	0.41253	1.53E-05	0.04714
S6_111966523*	6	111966523	0.2635	1.57E-05	0.04702
S3_23495129	3	23495129	0.05616	1.69E-05	0.04669
S1_174002950	1	174002950	0.22246	1.76E-05	0.04651
S6_111966499*	6	111966499	0.2581	2.37E-05	0.04523
S7_137540103	7	137540103	0.13067	3.30E-05	0.04379
S6_164681025*	6	164681025	0.43305	4.44E-05	0.0425
S5_170062437	5	170062437	0.38661	4.53E-05	0.04241
S4_234954673*	4	234954673	0.12851	5.69E-05	0.04142
S7_151082785	7	151082785	0.28294	6.12E-05	0.04111
S7_160773966	7	160773966	0.05832	6.60E-05	0.04078
S2_21726221	2	21726221	0.14903	6.68E-05	0.04073
S10_135336611*	10	135336611	0.45032	6.79E-05	0.04066
S1_79329381*	1	79329381	0.28186	7.06E-05	0.04049
S8_15101936*	8	15101936	0.21058	7.37E-05	0.04031
S3_23495159	3	23495159	0.0594	7.56E-05	0.0402
S5_72696410	5	72696410	0.05724	8.90E-05	0.03949
S3_23495105	3	23495105	0.06479	9.22E-05	0.03934
S4_17333579	4	17333579	0.27862	9.34E-05	0.03928
S7_160773952	7	160773952	0.06911	9.45E-05	0.03923

Nota. PVE Proporción de la variación fenotípica total explicada por el marcador, obtenida a partir del r^2_{adj} . MAF Frecuencia del alelo menor. * SNPs identificados con ambos modelos.

Identificación de genes candidatos

Sesenta y ocho genes candidatos fueron identificados a partir de los 40 SNPs asociados significativamente a la tolerancia al CMA, de los cuales 61 genes codifican proteínas con función conocida y siete fueron proteínas no caracterizadas aun para maíz. La mayoría

de los SNPs asociados significativamente fueron encontrados dentro de la secuencia de los genes candidatos y otros de forma adyacente a los genes candidatos en una distancia menor de 10 kpb. Los 68 genes candidatos se encuentran distribuidos en las 23 regiones (bins) identificadas en la Tabla 3. Existen regiones que contienen solo un gen candidato y otras regiones que contienen

Tabla 2.

Marcadores SNP (26) asociados significativamente a la resistencia a mancha de asfalto identificados con el modelo BayesB.

SNP ID	Cromosoma	Posición	MAF	PIP
S1_293221122*	1	293221122	0.17387	0.638
S6_111966489*	6	111966489	0.2635	0.29875
S2_19259181*	2	19259181	0.25378	0.23275
S1_187644290	1	187644290	0.31857	0.22475
S6_111966511*	6	111966511	0.2635	0.191
S6_111966523*	6	111966523	0.2635	0.14975
S3_124181546	3	124181546	0.27862	0.14025
S6_164681025*	6	164681025	0.43305	0.13925
S1_282550335	1	282550335	0.42117	0.1165
S7_14658428	7	14658428	0.2095	0.0905
S1_79329381*	1	79329381	0.28186	0.08475
S1_103419465	1	103419465	0.4514	0.08275
S6_111966499*	6	111966499	0.2581	0.07975
S3_35126726	3	35126726	0.31317	0.07825
S1_282674577	1	282674577	0.35421	0.07175
S4_234954673*	4	234954673	0.12851	0.071
S8_15101936*	8	15101936	0.21058	0.0705
S7_166698140	7	166698140	0.09827	0.07025
S10_4820377	10	4820377	0.30346	0.06525
S6_127634563	6	127634563	0.45464	0.05975
S6_38117593	6	38117593	0.23218	0.05425
S5_86013493	5	86013493	0.43844	0.053
S4_182611991	4	182611991	0.35205	0.05175
S10_106065368	10	106065368	0.11447	0.05075
S7_14658316	7	14658316	0.1879	0.05075
S10_135336611*	10	135336611	0.45032	0.05075

Nota. PVE: Proporción de la variación fenotípica total explicada por los marcadores en conjunto, obtenida a partir del r^2_{adj} . MAF Frecuencia del alelo menor. * SNPs identificados con ambos modelos. PIP Probabilidad posterior de inclusión en el modelo

hasta ocho genes asociados a mecanismos de resistencia a enfermedades.

En la Tabla 4 se presenta la lista detallada de los 68 genes candidatos y su potencial función. La función predicha de los genes candidatos sugiere que varios de ellos están asociados con resistencia a enfermedades e

interactúan entre sí en diferentes mecanismos de defensa en plantas. Entre ellos están genes que codifican proteínas con función kinasa, ampliamente conocidos por estar involucrados en resistencia a enfermedades, por ejemplo: GRMZM2G132607 (PFKB-like carbohydrate kinase family protein/ Ribokinase), GRMZ-

Tabla 3.
Distribución de genes candidatos en las regiones (bins*) identificadas.

Región	No. Genes C.	Región	No. Genes C.	Región	No. Genes C.	Región	No. Genes C.
1.04	1	3.04	5	6.01	1	7.04	2
1.05	7	4.03	4	6.04	2	8.02	1
1.06	3	4.08	1	6.05	2	10.01	2
1.1	4	4.09	2	6.07	1	10.04	2
1.11	1	5.03	6	7.02	2	10.05	2
2.03	5	5.04	4	7.03	8		

Nota. *Regiones del genoma: el mapa genético del maíz fue dividido en 100 segmentos llamados Bin en inglés.

M2G132763 (Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase PEPR1), GRMZM2G072569 (Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase BAM1), GRMZM2G168917 (Putative protein kinase superfamily protein), GRMZM2G104384 (Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein), GRMZM5G802725 (Protein kinase superfamily protein, partial) y GRMZM2G163138 (Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g51860). También se identificaron genes que codifican proteínas caracterizadas como factores de transcripción asociados a resistencia a enfermedades, entre ellos: GRMZM2G001930 (MYC transcription factor7), GRMZM2G080168 (BHLH141 - bHLH-transcription factor 141), GRMZM2G106798 (Squamosa promoter-binding protein-like (SBP domain) transcription factor family protein), GRMZM2G092609 (Putative bZIP transcription factor superfamily protein), AC207043.3_FG002 (VQ motif family protein; Transcriptional Regulators), GRMZM2G163054 (WRKY-transcription factor 50) y GRMZM2G144275 (BHLH transcription factor). Otros factores de transcripción identificados en este estudio fueron: GRMZM2G351330 (Homeobox-leucine zipper protein HOX22) y GRMZM2G104204 (Homeobox-leucine zipper protein HOX14-like).

También se identificaron algunos genes que codifican proteínas con función de factores de transcripción tipo Zinc finger, tales como: GRMZM2G012280 (Zinc

knuckle (CCHC-type) family protein; Zinc finger), el cual se encontró cercano al marcador S1_29322122 identificado en común por ambos modelos, y GRMZM2G344212 (Putative RING zinc finger domain superfamily protein), cercano al SNP S5_72696410 identificado con modelo single marker. Otro hallazgo importante es la identificación del gen candidato GRMZM2G163045, el cual produce una proteína RPP13-like asociada a resistencia a enfermedades. Otros genes menos comunes pero que recientemente han sido reportados que están involucrados e interactúan entre sí en mecanismos de defensa a enfermedades en plantas son: GRMZM2G094390 (ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein AGD8), GRMZM2G330422 (Análogo en arroz: calcium-transporting ATPase 9 plasma membrane-type putative expressed), GRMZM2G163095 (Probable ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein AGD11) y GRMZM2G037335 (Phospholipid-transporting ATPase 2), GRMZM2G037335 (Phospholipid-transporting ATPase 2), GRMZM2G341741 (Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g13600), GRMZM2G165692 (Importin alpha-2 subunit), GRMZM2G162333 (Pectinesterase or Pectin methylesterase), GRMZM2G115757 (Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase; FK506-binding protein 2-1), GRMZM2G022619 (60S ribosomal protein L18a) y GRMZM2G042758 (GDSL esterase/lipase).

Tabla 4.
Genes candidatos y posible función asociados a los marcadores SNPs identificados en el análisis de asociación de genoma completo para tolerancia genética a mancha de asfalto.

SNP ID	Modelo	Gen candidato asociado	Bin*	Anotación: Posible función proteica
S1_79329381	Bayes B - Single Marker	GRMZM5G826389	1.04	SRG1 protein, c1945_1(263), leucoanthocyanidin dioxygenase
S1_103419465	Bayes B	GRMZM2G070271	1.05	Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 27
		GRMZM5G855014	1.05	Uncharacterized protein.
		GRMZM2G022909	1.05	Uncharacterized protein. Análogo en arroz: heat shock protein putative expressed.
S1_174002950	Single Marker	GRMZM2G381822	1.05	Origin recognition complex subunit 3
		GRMZM2G083284	1.05	Hydrolase-like protein; Metallo-hydrolase/oxidoreductase superfamily protein
S1_98461847	Single Marker	GRMZM2G094390	1.05	ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein AGD8
		GRMZM2G001930	1.05	MYC transcription factor7
S1_187644290	Bayes B	GRMZM2G132607	1.06	PFKB-like carbohydrate kinase family protein/ Ribokinase
		GRMZM2G132763	1.06	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase PEPR1
		GRMZM2G132748	1.06	Complex I subunit; pathways NADH dehydrogenase ubiquinon phosphorylation and dephosphorylation
S1_282550335	Bayes B	GRMZM2G072569	1.10	Leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase BAM1
		GRMZM2G072806	1.10	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 8-B Mitochondrial; NADH-ubiquinone oxidoreductase 23 kDa subunit
		GRMZM2G072744	1.10	Malate dehydrogenase, glyoxysomal
S1_282674577	Bayes B	GRMZM2G122139	1.10	Cytosolic purine 5-nucleotidase
S1_293221122	Bayes B - Single Marker	GRMZM2G012280	1.11	Zinc knuckle (CCHC-type) family protein; Zinc finger
		GRMZM2G462261	2.03	Putative glucuronosyltransferase PGSIP7; Glycosyl transferase family 8
S2_19259181	Bayes B - Single Marker	GRMZM2G162333	2.03	Pectinesterase or Pectin methyltransferase
		GRMZM2G462258	2.03	Inactive beta-amylase 9

Tabla 4 (Continuación)

SNP ID	Modelo	Gen candidato asociado	Bin*	Anotación: Posible función proteica
S2_21726221	Single Marker	GRMZM2G351330 GRMZM2G168917	2.03 2.03	Homeobox-leucine zipper protein HOX22 Putative protein kinase superfamily protein
S3_124181546	Bayes B	GRMZM2G063688	3.04	Galactosyltransferase family protein
S3_23495129, S3_23495159, S3_23495105	Single Marker	GRMZM2G041352 GRMZM2G121747 GRMZM2G345840	3.04 3.04 3.04	Nuclease PA3 Protein ABA DEFICIENT 4 chloroplastic C2 domain-containing protein
S3_35126726	Bayes B	GRMZM2G428456	3.04	Uncharacterized protein
S4_17333579	Single Marker	GRMZM2G104384 GRMZM2G080168 GRMZM2G149108 GRMZM2G106798	4.03 4.03 4.03 4.03	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein BHLH141 - bHLH-transcription factor 141 Ubiquitin-like 1-activating enzyme E1A Squamosa promoter-binding protein-like (SBP domain) transcription factor family protein
S4_182611991	Bayes B	GRMZM2G439422	4.08	Peroxidase 65
S4_234954673	Bayes B - Single Marker	GRMZM2G143445 GRMZM2G143462	4.09 4.09	Putative autophagy domain family protein Ubiquitin receptor RAD23b
S5_48488908	Single Marker	AC225718.2_FG006 GRMZM2G163544 GRMZM2G463913 GRMZM2G042758	5.03 5.03 5.03 5.03	EF-hand Ca2+-binding protein CCD1 Putative beta-glucosidase 41 50S ribosomal protein L24 chloroplastic GDSL esterase/lipase
S5_72696410	Single Marker	GRMZM2G344212 GRMZM5G802725	5.03 5.03	Putative RING zinc finger domain superfamily protein Protein kinase superfamily protein, partial
S5_170062437	Single Marker	GRMZM2G092609 GRMZM2G071484	5.04 5.04	Putative bZIP transcription factor superfamily protein E3 ubiquitin-protein ligase PUB23
S5_86013493	Bayes B	AC207043.3_FG002 GRMZM2G086243	5.04 5.04	VQ motif family protein; Transcriptional Regulators Uncharacterized protein. Análogo en arroz: peptidyl-prolyl cis-trans isomerase putative expressed

Tabla 4 (Continuación)

SNP ID	Modelo	Gen candidato asociado	Bin*	Anotación: Posible función proteica
S6_38117593	Bayes B	GRMZM2G055717	6.01	NADH dehidrogenase (ubiquinone)
S6_111966489, S6_111966499, S6_111966511, S6_111966523	Bayes B - Single Marker	GRMZM2G073700 GRMZM2G118657	6.04 6.04	RNA-binding region-containing protein 1 UDP-glycosyltransferase 85A2
S6_127634563	Bayes B	GRMZM2G086761	6.05	Uncharacterized protein
S6_164681025	Bayes B - Single Marker	GRMZM2G163054	6.05	WRKY-transcription factor 50
S7_14658316, S7_14658428	Bayes B Bayes B	GRMZM2G022619 GRMZM2G174625 GRMZM5G830839	6.07 7.02 7.02	60S ribosomal protein L18a Uncharacterized protein Subtilisin-like protease SBT4.3 y SBT4.4
S7_137540103	Single Marker	GRMZM2G330422	7.03	Análogo en arroz: calcium-transporting ATPase 9 plasma membrane-type putative expressed
		GRMZM2G065868	7.03	60S ribosomal protein L32
		GRMZM2G144275	7.03	BHLH transcription factor, DNA-binding domain superfamily protein
		GRMZM2G115757	7.03	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase; FK506-binding protein
		GRMZM2G356198	7.03	DSC E3 ubiquitin ligase complex subunit 1
		GRMZM2G163138	7.03	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase Atlg51860
S7_151082785	Single Marker	GRMZM2G163095	7.03	Probable ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein AGD11
		GRMZM2G163045	7.03	Putative disease resistance RPP13-like protein 3; Disease resistance protein RPM1
S7_160773966, S7_160773952	Single Marker	GRMZM2G104204	7.04	Homeobox-leucine zipper protein HOX14-like
S7_166698140	Bayes B	GRMZM2G025281	7.04	Serine/arginine-rich splicing factor SC35
S8_15101936	Bayes B - Single Marker	GRMZM2G165692	8.02	Importin alpha-2 subunit

Tabla 4 (Continuación)

SNP ID	Modelo	Gen candidato asociado	Bin*	Anotación: Posible función proteica
S10_4820377	Bayes B	GRMZM2G324231	10.01	Uncharacterized protein. Análogo en arroz: avr9/Cf-9 rapidly elicited protein putative expressed
S10_106065368	Bayes B	GRMZM2G314661	10.01	DDT domain-containing protein PTM
S10_135336611	Bayes B - Single Marker	GRMZM2G037335	10.04	Phospholipid-transporting ATPase 2
		GRMZM2G341741	10.04	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g13600
		GRMZM2G113800	10.05	Probable purine permease 11
		GRMZM2G113818	10.05	Probable purine permease 11

Nota. *Regiones del genoma: el mapa genético del maíz fue dividido en 100 segmentos llamados Bin en inglés.

Discusión

Análisis fenotípico

El rango de los valores fenotípicos fue suficiente para diferenciar claramente entre materiales tolerantes y susceptibles, confirmando la incidencia de la enfermedad por infección natural. El coeficiente de variación refleja niveles de variación aceptable (11.2%) considerando el elevado número de genotipos evaluados. Los mestizos derivados de las poblaciones nativas CHIS474, OAXA280, GUAT153, HAIT13 y TABA26 fueron los que mostraron mayores niveles de tolerancia, por lo que estas poblaciones pueden ser utilizadas como donadores de tolerancia genética al CMA mediante la derivación de líneas tolerantes e introgresión a materiales élite como parte de un programa de pre-mejoramiento.

Heredabilidad

El valor estimado de la heredabilidad concuerda con los reportados por Ceballos y Deutsch (1992) ($\hat{h}^2=0.83$) y está en el rango de los valores de heredabilidad en sentido amplio (incluyendo efectos genéticos no aditivos) obtenidos por Cao y colaboradores (2017) y Mahuku y colaboradores (2016) (entre 0.54 y 0.96). Lo anterior confirma la presencia de un fuerte componente aditivo, lo cual es congruente con los resultados de Hernández-Ramos y colaboradores (2015), quienes encontraron que los efectos del componente aditivo eran 45 veces mayor que los de dominancia. Considerando que no se detectaron QTL de efecto mayor en este conjunto de poblaciones, la tolerancia al CMA puede ser atribuida a los QTL de efecto pequeño identificados en el análisis GWAS, los cuales podrían ser acumulados mediante selección.

Identificación de marcadores SNP asociados a tolerancia a mancha de asfalto

Nuevas regiones asociadas a la tolerancia al CMA fueron identificadas en el presente estudio. Estas regiones se encuentran ubicadas en bins 1.04, 1.10, 1.11, 2.03, 4.03, 5.03, 6.01, 6.04, 6.05, 6.07, 7.04, 8.02, 10.01, 10.04 y 10.05. La mayoría de los genes candidatos identificados en estas regiones codifican proteínas asociadas a mecanismos de resistencia a enfermedades. Esto confirma que las poblaciones nativas de maíz cons-

tituyen una gran fuente de variación genética, permitiendo identificar nuevas regiones portadoras de genes de tolerancia a enfermedades. La utilización de las poblaciones nativas más sobresalientes en programas de pre-mejoramiento contribuiría a ampliar la base genética de los cultivares para tolerancia al CMA.

Algunas de las regiones identificadas en el presente estudio también fueron reportadas por Cao y colaboradores (2017) y Li y colaboradores (2016). Estas regiones se encuentran ubicadas en los cromosomas 1 (bin 1.05 y 1.06), 3 (bin 3.04), 4 (bins 4.08 y 4.09), 5 (bin 5.04) y 7 (bins 7.02 y 7.03) (Cao et al., 2017; Li et al., 2016). Esto sugiere que estas regiones son consistentes a través de diversas poblaciones, líneas endogámicas y poblaciones especiales de mapeo, así como a diversas condiciones ambientales. Sin embargo, el QTL de efecto mayor en el cromosoma 8 bin 8.03 detectado por Cao y colaboradores (2017) y Li y colaboradores (2016), no fue detectado en este estudio. Un solo marcador fue detectado en este cromosoma en el bin 8.02.

En cuanto a los modelos empleados, cabe resaltar que el conjunto de marcadores identificados con el modelo BayesB explican una mayor proporción de variación fenotípica comparado con el modelo *single marker* (52.26% y 34.25%, respectivamente), lo cual podría ser importante en términos de predicción genómica (Meuwissen et al., 2001). Lo anterior no significa que los marcadores identificados con el modelo *single marker* sean menos importantes, ya que la mayoría de estos marcadores también codifican proteínas relacionadas a la tolerancia a enfermedades. La utilización de ambos modelos puede contribuir a la identificación de diferentes regiones y mayor probabilidad de encontrar genes relacionados.

Identificación de genes candidatos

La mayoría de genes candidatos identificados codifican proteínas ampliamente conocidas por estar asociadas a procesos enzimáticos de transporte, factores de transcripción que regulan positivamente la expresión de genes de resistencia, así como receptores de señal involucrados en mecanismos de tolerancia a enfermedades causadas por hongos en maíz, tales como, mancha gris de la hoja (*Cercospora zeaе maydis* Tehon & Daniels), tizón norteño (*Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Suggs), tizón sureño (*Bipolaris maydis* Nisikado & Miyake) y carbón de la espiga (*Sphacelotheca reiliana* (J. G. Kühn) G. P. Clinton) (Kump et al., 2011; Poland et al., 2011; Shi et al., 2014; Wang et

al., 2012). En este estudio se identificaron los factores WRKY y MYC. El primero ha sido encontrado regulando positivamente la expresión de genes de tolerancia a enfermedades (Eulgem et al., 2000; Michelmore et al., 2013; Mohr et al., 2010). El factor MYC ha sido relacionado con la traducción de señal MAPK (del inglés, Mitogen-activated protein kinase) que interviene en mecanismos de resistencia (Tena et al., 2001). Varios genes identificados en este estudio codifican proteínas de la familia kinasa, especialmente los LRR-RPK (del inglés, *Leucine-rich repeat receptor-like kinase*) que actúan específicamente como receptores de señal para detección de patógenos. Los dominios LRR están implicados en tolerancia a enfermedades en plantas y respuesta a estrés, por lo que son considerados genes de tolerancia (Afzal et al., 2008; Ng & Xavier, 2011; Romeis, 2001; Torii, 2004; Zan et al., 2013). Varios genes que codifican estos tipos de proteínas también fueron identificados en líneas endogámicas (Cao et al., 2017; Mahuku et al., 2016). La identificación de múltiples genes con diversas funciones nos da una idea de la complejidad en el genoma, la expresión génica y la interacción de los metabolitos involucrados en el mecanismo de tolerancia a enfermedades en plantas.

Para concluir, las poblaciones nativas de maíz constituyen una gran fuente de variación genética importante, que permiten la identificación de nuevas regiones portadoras de genes de tolerancia a enfermedades. Las nuevas tecnologías de genotipado de alto rendimiento, así como el desarrollo de los métodos robustos para analizar la información, pueden ser empleadas con éxito para la identificación de regiones genómicas y genes asociados a caracteres de importancia económica. Hace falta investigar más sobre el tipo de interacción que puede ocurrir entre los genes involucrados y para un mejor entendimiento desde el punto de vista biológico y bioquímico. Las poblaciones nativas aquí señaladas representan recursos genéticos valiosos para ser incluidas en programas de pre-mejoramiento con la finalidad de ampliar la base genética de líneas élite para tolerancia al CMA. Los genes candidatos identificados en este estudio pueden servir de base para subsecuentes investigaciones, en las cuales se realice un mapeo fino de tales regiones y desarrollar marcadores funcionales para el mejoramiento asistido por marcadores moleculares.

Agradecimientos

Se agradece la cofinanciación de la Dirección General de Investigación (DIGI) dentro del Programa Universitario de Investigación en Alimentación y Nutrición, partida presupuestal 4.8.63.7.02 del año 2017. Especial agradecimiento a Liuba Cabrera, Carlos Salazar y a Astrid Mérida de la Roca por su apoyo en las diversas actividades del proyecto.

Referencias

- Afzal, A. J., Wood, A. J., & Lightfoot, D. A. (2008). Plant receptor-like serine threonine kinases: roles in signaling and plant defense. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, 21(5), 507-517. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-5-0507>
- Andorf, C. M., Cannon, E. K., Portwood II, J. L., Gardiner, J. M., Harper, L. C., Schaeffer, M. L., Braun, B. L., Campbell, D. A., Vinnakota, A. G., Sribalasu, V. V., Huerta, M., Cho, K. T., Wimalanathan, K., Richter, J. D., Mauch, E. D., Rao, B. S., Birkett, S. M., Sen, T. Z., & Lawrence-Dill, C. J. (2016). MaizeGDB update: new tools, data and interface for the maize model organism database. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D1195-D1201. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1007>
- Berg, I. van den, Fritz, S., & Boichard, D. (2013). QTL fine mapping with Bayes C(π): a simulation study. *Genetics Selection Evolution*, 45(1), 19, 1-11. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-45-19>
- Brachi, B., Morris, G. P., & Borevitz, J. O. (2011). Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field. *Genome Biology*, 12, 232, 1-8. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-10-232>
- Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., & Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19), 2633-2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>

- Cao, S., Loladze, A., Yuan, Y., Wu, Y., Zhang, A., Chen, J., Huestis, G., Cao, J., Chaikam, V., Olsen, M., Prasanna, B. M., San Vicente, F., & Zhang, X. (2017). Genome-wide analysis of tar spot complex resistance in maize using genotyping-by-sequencing SNPs and whole-genome prediction. *Plant Genome*, *10*(2), 1-14. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2016.10.0099>
- Ceballos, H., & Deutsch, J. A. (1992). Inheritance of resistance to tar spot complex in maize. *Phytopathology*, *82*(5), 505-512. <https://doi.org/10.1094/Phyto-82-505>
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. (2017, March 12). SeeD Maize Germinate. Tar-Spot_2011B_Guadalupe-Victoria_Chiapas; SeeD GWAS GbS Analysis. [Data set]. <http://germinate-stg.seedsofdiscovery.org/maize/>
- Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B., & Pang, E. C. K. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, *142*(1-2), 169-196. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5>
- Crute, I. R., & Pink, D. (1996). Genetics and utilization of pathogen resistance in plants. *The Plant Cell*, *8*(10), 1747-1755. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.10.1747>
- Daetwyler, H. D., Bansal, U. K., Bariana, H. S., Hayden, M. J., & Hayes, B. J. (2014). Genomic prediction for rust resistance in diverse wheat landraces. *Theoretical and Applied Genetics*, *127*(8), 1795-1803. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2341-8>
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*, *6*(5), e19379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>
- Eulgem, T., Rushton, P. J., Robatzek, S., & Somssich, I. E. (2000). The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends in Plant Science*, *5*(5), 199-206. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01600-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01600-9)
- Hernández-Ramos, L., Sandoval-Islas, J. S., Mahuku, G., Benítez-Riquelme, I., & Cruz-Izquierdo, S. (2015). Genética de la resistencia al complejo mancha de asfalto en 18 genotipos tropicales de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *38*(1), 39-47.
- Hock, J., Dittrich, U., Renfro, B. L., & Kranz, J. (1992). Sequential development of pathogens in the maize tar spot disease complex. *Mycopathologia*, *117*(3), 157-161. <https://doi.org/10.1007/BF00442777>
- Hock, J., Kranz, J., & Renfro, B. L. (1989). El "complejo mancha de asfalto" de maíz, su distribución geográfica, requisitos ambientales e importancia económica en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *7*(2), 129-135.
- Red SICTA/IICA/Cooperación Suiza. (2011). *Reconocimiento en campo de la mancha de asfalto*. <http://repiica.iica.int/docs/b3473e/b3473e.pdf>
- Kump, K. L., Bradbury, P. J., Wissler, R. J., Buckler, E. S., Belcher, A. R., Oropeza-Rosas, M. A., Zwonitzer, J. C., Kresovich, S., McMullen, M. D., Ware, D., Balint-Kurti, P. J., & Holland, J. B. (2011). Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics*, *43*(2), 163-168. <https://doi.org/10.1038/ng.747>
- Li, X., Zhou, Z., Ding, J., Wu, Y., Zhou, B., Wang, R., Ma, J., Wang, S., Zhang, X., Xia, Z., Chen, J., & Wu, J. (2016). Combined linkage and association mapping reveals QTL and candidate genes for plant and ear height in maize. *Frontiers in plant science*, *7*, 833. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00833>
- Loladze, A., Rodrigues, F. A., Toledo, F., San Vicente, F., Gérard, B., & Boddupalli, M. P. (2019). Application of remote sensing for phenotyping tar spot complex resistance in maize. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 552. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00552>
- Lu, Y., Shah, T., Hao, Z., Taba, S., Zhang, S., Gao, S., Liu, J., Cao, M., Wang, J., Prakash, A. B., Rong, T., & Xu, Y. (2011). Comparative SNP and haplotype analysis reveals a higher genetic diversity and rapider LD decay in tropical than temperate germplasm in maize. *PLoS ONE*, *6*(9), e24861. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024861>

- Mahuku, G., Chen, J., Shrestha, R., Narro, L. A., Guerrero, K. V. O., Arcos, A. L., & Xu, Y. (2016). Combined linkage and association mapping identifies a major QTL (qRtsc8-1), conferring tar spot complex resistance in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, *129*(6), 1217-1229. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2698-y>
- Mahuku, G., San Vicente, F., & Shrestha, R. (2013). *Complejo mancha de asfalto del maíz: Hechos y acciones. Folleto Técnico*. http://conservacion.cimmyt.org/index.php/es/component/docman/doc_download/922-tarspot
- Meuwissen, T. H., Hayes, B. J., & Goddard, M. E. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, *157*(4), 1819-1829.
- Michelmore, R. W., Christopoulou, M., & Caldwell, K. S. (2013). Impacts of resistance gene genetics, function, and evolution on a durable future. *Annual Review of Phytopathology*, *51*(1), 291-319. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102334>
- Mohr, T. J., Mammarella, N. D., Hoff, T., Woffenden, B. J., Jelesko, J. G., & McDowell, J. M. (2010). The Arabidopsis downy mildew resistance gene RPP8 is induced by pathogens and salicylic acid and is regulated by W box cis elements. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *23*(10), 1303-1315. <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-10-0022>
- Monterroso, D., Gallardo, N., & Zuñiga, A. (1974). *Informe del programa de investigación de maíz y frijol. Proyecto de Colaboración Ministerio de Agricultura-Facultad de Agronomía*. Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Mottaleb, K. A., Loladze, A., Sonder, K., Kruseman, G., & San Vicente, F. (2019). Threats of tar spot complex disease of maize in the United States of America and its global consequences. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, *24*(2), 281-300. <https://doi.org/10.1007/s11027-018-9812-1>
- Ng, A., & Xavier, R. J. (2011). Leucine-rich repeat (LRR) proteins. *Autophagy*, *7*(9), 1082-1084. <https://doi.org/10.4161/auto.7.9.16464>
- Pereyda-Hernández, J., Hernández-Morales, J., Sandoval-Islas, J. S., Aranda-Ocampo, S., León, C. de, & Gómez-Montiel, N. (2009). Etiology and management of tar spot (*Phyllachora maydis* Maubl.) of maize in Guerrero state, México. *Agrociencia*, *43*(5), 511-519.
- Pérez-Rodríguez, P., & de los Campos, G. (2014). Genome-wide regression and prediction with the BGLR statistical package. *Genetics*, *198*(2), 483-495. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.164442>
- Poland, J. A., Bradbury, P. J., Buckler, E. S., & Nelson, R. J. (2011). Genome-wide nested association mapping of quantitative resistance to northern leaf blight in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(17), 6893-6898. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010894108>
- Portwood II, J. L., Woodhouse, M. R., Cannon, E. K., Gardiner, J. M., Harper, L. C., Schaeffer, M. L., Walsh, J. R., Sen, T. Z., Cho, K. T., Schott, D. A., Braun, B. L., Dietze, M., Dunfee, B., Elvik, C. G., Manchanda, N., Coe, E., Sachs, M., Stinard, P., Tolbert, J., ... Andorf, C. M. (2019). MaizeGDB 2018: the maize multi-genome genetics and genomics database. *Nucleic Acids Research*, *47*(D1), D1146-D1154. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1046>
- Pritsch, C. (2001). *El pre-mejoramiento y la utilización de los recursos fitogenéticos. In IICA-PROCISUR. Estrategias en Recursos Fitogenéticos para los Países del Cono Sur. Montevideo, Uruguay*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- R-Core Team. (2017). *R: A language and environment for statistical computing*. <https://www.r-project.org/>
- Romeis, T. (2001). Protein kinases in the plant defence response. *Current Opinion in Plant Biology*, *4*(5), 407-414.
- Shi, L., Lv, X., Weng, J., Zhu, H., Liu, C., Hao, Z., Zhou, Y., Zhang, D., Li, M., Ci, X., Li, X., & Zhang, S. (2014). Genetic characterization and linkage disequilibrium mapping of resistance to gray leaf spot in maize (*Zea mays* L.). *The Crop Journal*, *2*(2), 132-143. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2014.02.001>
- Speed, D., Cai, N., Consortium, the U., Johnson, M. R., Nejentsev, S., & Balding, D. J. (2017). Reevaluation of SNP heritability in complex

- human traits. *Nature Genetics*, 49(7), 986-992. <https://doi.org/10.1038/ng.3865>
- Tena, G., Asai, T., Chiu, W.-L., & Sheen, J. (2001). Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Current Opinion in Plant Biology*, 4(5), 392-400. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00191-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00191-6)
- Torii, K. U. (2004). Leucine-rich repeat receptor kinases in plants: structure, function, and signal transduction pathways. *International Review of Cytology*, 234, 1-46. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(04\)34001-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(04)34001-5)
- Wang, M., Yan, J., Zhao, J., Song, W., Zhang, X., Xiao, Y., & Zheng, Y. (2012). Genome-wide association study (GWAS) of resistance to head smut in maize. *Plant Science*, 196, 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.08.004>
- Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W. H., Vroh Bi, I., Yamasaki, M., Doebley, J. F., McMullen, M. D., Gaut, B. S., Nielsen, D. M., Holland, J. B., Kresovich, S., & Buckler, E. S. (2006). A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nature Genetics*, 38(2), 203-208. <https://doi.org/10.1038/ng1702>
- Zan, Y., Ji, Y., Zhang, Y., Yang, S., Song, Y., & Wang, J. (2013). Genome-wide identification, characterization and expression analysis of populus leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes. *BMC Genomics*, 14, 318. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-318>

Biomarcadores suPAR y citocinas en la detección temprana de cáncer gástrico

suPAR and cytokines as biomarkers in early detection of gastric cancer

Carmen I. Villagrán-Blanco

Doctorado en Ciencias Biomédicas, Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Médicas,
Universidad de San Carlos de Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: carmendetercero@gmail.com

Recibido: 02 de marzo 2020 / Revisión: 21 de abril 2020 / Aceptado: 14 de julio 2020

Resumen

El cáncer gástrico (CG) es un problema prevalente a nivel mundial, presentándose aproximadamente 18 millones de casos nuevos en el año 2018, representa el 5.7% del total de cánceres, siendo la quinta neoplasia maligna más común en el mundo. En Guatemala se sitúa entre los primeros cinco cánceres respecto a morbilidad y mortalidad. El CG se ha asociado de manera contundente a infección por *Helicobacter pylori* el cual desencadena un proceso inflamatorio crónico; adicionalmente algunas cepas de *H. pylori* producen toxinas bacterianas capaces de inducir cambios celulares que conllevan al desarrollo del proceso neoplásico. La alta mortalidad por CG en parte, se relaciona con la etapa tardía en la que se diagnostica ya que se requiere el uso de métodos invasivos, lo que dificulta su detección temprana. El objetivo de la presente revisión, fue realizar una narrativa de los estudios y las evidencias científicas, respecto de la identificación de biomarcadores séricos en la detección temprana del cáncer gástrico. Se revisaron dos tipos de biomarcadores, la proteína soluble uPAR (suPAR) que es el receptor del activador del plasminógeno (uroquinasa) y promotora de angiogénesis y por otro lado, la detección sérica de las citocinas IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IFN γ , IL-4 e IL-17 en el CG así como su potencial utilidad en su detección temprana. Estos biomarcadores fueron seleccionados por la ventaja que tendrían de ser métodos no invasivos que podrían mejorar la detección, tratamiento y pronóstico de esta enfermedad.

Palabras claves: Lesión gástrica, *Helicobacter pylori*, IL-1 β , IFN γ , IL-10

Abstract

Gastric cancer (GC) is a prevalent problem worldwide, presenting approximately 18 million new cases in 2018, representing 5.7% of all cancers, being the fifth most common malignancy in the world. In Guatemala it is among the first five cancers in terms of morbidity and mortality. CG has been strongly associated with *Helicobacter pylori* infection, which triggers a chronic inflammatory process; additionally, some strains of *H. pylori* produce bacterial toxins capable of inducing cellular changes that lead to the development of cancer. The high mortality due to GC in part is related to the late stage in which it is diagnosed since the use of invasive methods is required, making it difficult to detect it early. The objective of this review was to make a narrative of the studies carried out and the scientific evidence regarding the identification of serum biomarkers in the early detection of gastric cancer. Two types of biomarkers were reviewed, the soluble protein uPAR (suPAR) which is the receptor for plasminogen activator (urokinase) and promoter of angiogenesis and, on the other hand, serum detection of cytokines IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IFN γ , IL-4 and IL-17 in the CG as well as its potential usefulness in its early detection. These biomarkers were selected for the advantage they would have of being non-invasive methods that could improve the detection, treatment and prognosis of this disease.

Keywords: Gastric lesion, *Helicobacter pylori*, IL-1 β , IFN γ , IL-10



Introducción

El cáncer gástrico (CG) es un problema de salud a nivel mundial, presentándose 18 millones de nuevos casos para el 2018, siendo el quinto en prevalencia y la neoplasia más frecuente del tubo digestivo en el mundo. La incidencia se estima en casi un millón de casos anuales y es la cuarta causa de muerte por cáncer. En Guatemala, se presentan más de 15.4 casos por 100,000 habitantes, ocupando el primer lugar en incidencia de las neoplasias malignas al considerar ambos sexos; de acuerdo a la tasa estandarizada de mortalidad, ocupa el primer lugar como causa de muerte entre los cánceres registrados, seguido por el cáncer de cérvix en mujeres y de próstata en hombres (Bray et al., 2018). Existen diversos factores de riesgo para padecer este tipo de cáncer, entre ellos, la edad avanzada, el sexo masculino, predisposición genética relacionada con el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) (Herrera-Goepfert, 2004), así mismo otros factores como la pobreza, dieta, estilo de vida que condiciona sobrepeso y obesidad y la infección por *Helicobacter pylori* (Nagini, 2012).

Se ha descrito que *H. pylori* es la mayor causa de CG especialmente de la parte distal del estómago, y ha sido categorizado, como carcinógeno humano. La asociación de la infección por *H. pylori* con CG ya se ha demostrado por varios investigadores, incluso ilustrando la progresión histológica del mismo desde las primeras etapas inflamatorias. Se ha observado que durante la infección por *H. pylori*, éste se ubica en el antro gástrico y a lo largo de los años afecta el tejido a su alrededor, ocasionado distintos grados y tipos de lesiones como gastritis crónica, la cual evoluciona a atrofia, metaplasia, displasia y posteriormente a adenocarcinoma (Correa & Houghton, 2007). La infección por *H. pylori*, también está ligada a algunos tipos de linfomas gástricos (El-Omar et al., 2000). Se ha demostrado que la erradicación de *H. pylori* reduce incluso el riesgo de padecer CG en familiares de pacientes que sufrían CG (Choi et al., 2020).

Respecto a la alta letalidad del CG, se considera que se debe por un lado a la etapa tardía en que se diagnostica por presentar pocos síntomas y ser de larga duración, así mismo a los métodos utilizados en su detección, los cuales requieren personal y equipo especializado, tales como la gastroscopia y la observación de la biopsia gástrica (Catalano et al., 2009). La patogénesis del *H. pylori* en enfermedad gástrica premaligna y maligna, se desencadena por un proceso

inflamatorio crónico persistente (Peek et al., 2010; Petrovchich & Ford, 2016). El proceso induce la producción de una diversidad de moléculas cuya identificación y cuantificación pudiese ser de utilidad en la detección temprana de lesiones premalignas y CG. Una molécula muy estudiada, es el receptor de la uroquinasa, enzima activadora del plasminógeno (uPAR), la que activa vías de señalización celular relacionadas con aumento en la capacidad proliferativa, invasiva y metastásica del tumor (Alpizar-Alpizar et al., 2010).

Por otro lado, la respuesta inflamatoria que estimula la infección por *H. pylori*, involucra la activación del sistema inmune generando la producción de diversas citocinas que median la respuesta inflamatoria. Algunas citocinas han sido estudiadas como predictores tempranos de una lesión maligna, entre ellas la IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IFN γ e IL-4, postulándose que podrían predecir tempranamente la malignidad de una lesión gástrica, aunque los estudios recomiendan otras investigaciones para profundizar esta hipótesis (Sánchez-Zauco et al., 2017). Se ha estudiado también que los polimorfismos en el gen de IL-17 se relacionan con el riesgo de sufrir CG (Long et al., 2015).

La posibilidad de utilizar biomarcadores séricos ha sido analizada por varios autores por lo que se hace necesario realizar una revisión que discuta el valor de los mismos en el diagnóstico temprano de CG en función de mejorar su detección, tratamiento y pronóstico. Por lo que la presente revisión tiene como objetivo delimitar la función de las moléculas mencionadas en el desarrollo de CG y la utilidad de las mismas en la detección de enfermedad gástrica premaligna y maligna.

Contenido

Epidemiología del cáncer gástrico

El CG es el crecimiento descontrolado de las células del estómago, originándose ya sea en la mucosa, muscular o serosa. Es un problema prevalente a nivel mundial, ocupa el cuarto lugar en incidencia de todos los cánceres, la cual se estima en casi un millón de casos nuevos anuales, es la tercera causa de muerte por cáncer en los países menos desarrollados, y la cuarta causa de muerte por cáncer a nivel mundial. Es el quinto en incidencia de todos los cánceres a nivel mundial. Se estima que el 70% de casos de CG ocurren en países menos desarrollados, siendo 667,000 casos y se presenta predominantemente en hombres. De acuerdo a la Sociedad Americana de Cáncer, la mayoría de los

pacientes de CG son mayores de 50 años al momento del diagnóstico (American Cancer Society, 2018).

En relación con la mortalidad, el CG es el cuarto más mortal a nivel mundial, después del cáncer de pulmón, colorrectal e hígado (Bray et al., 2018). Las tasas de mortalidad varían geográficamente, siendo particularmente elevadas en los países subdesarrollados. La supervivencia a cinco años después del diagnóstico es menor al 30% en la mayoría de los países, lo cual se atribuye principalmente a que, en la mayoría de los casos, la enfermedad es diagnosticada en etapa avanzada, cuando la probabilidad de tratamiento efectivo es escasa (Bertuccio, 2009).

En Guatemala, según datos de Globocan, se presentan 13.3 casos por 100,000 habitantes y ocupa el quinto lugar entre todos los cánceres registrados en ambos sexos, lo antecede el de cérvix en mujeres, el de próstata en hombres y el colorrectal en ambos, en cuanto a mortalidad, tiene una tasa de 8.2 por 100,000 habitantes ocupando el tercer lugar en ambos sexos (Bray et al., 2018).

Debido a su importante morbi-mortalidad la prevención del CG es una medida epidemiológica de impacto, una de ellas es evitar o erradicar los factores externos desencadenantes, tales como la infección por *H. pylori* (Fock, 2014). Se considera asimismo implementar el diagnóstico temprano y el monitoreo del paciente (Pasechnikov, 2014).

Diagnóstico y clasificación del CG

La patogénesis del CG es un proceso complejo y multifactorial entre los que se describen los relacionados con el estilo individual de vida, como el consumo de tabaco; la carga genética de las personas, incluyendo marcadores de la región HLA-DQ que son determinantes inmunogénicos en la patogenia y la infección *H. pylori* que genera un proceso inflamatorio crónico (Hayakawa et al., 2016; Petrovich & Ford, 2016). El consenso mexicano incluye la historia familiar de CG como otro factor de riesgo (Icaza-Chávez et al., 2020). La infección por *H. pylori*, y su interacción con la mucosa gástrica, desencadena una respuesta inflamatoria crónica, alterando la mucosa gástrica con el subsiguiente desarrollo de atrofia metaplasia, displasia y cáncer (Yoshida et al., 2013).

El diagnóstico de CG se establece por medio de la observación histológica del tejido gástrico obtenido por biopsia realizada por especialista, este método es fundamental para la evaluación de la presencia de célu-

las malignas, así como el grado de degeneración celular que se presente. Para la clasificación internacional de tumores se utiliza la estadificación TNM. La Sociedad Americana del Cáncer publicó la clasificación anatómica de acuerdo a la localización del tumor, en donde T, es la localización inicial del tumor, N, se refiere a la localización de ganglios linfáticos afectados, y M, se refiere a lesiones distantes o metástasis (Espejo & Navarrete, 2003).

La clasificación inicial del tumor, sigue siendo de utilidad ya que contribuye a una guía importante para la toma de decisiones clínicas respecto a un paciente. Otros criterios específicos para la clasificación del CG, se basan en sus características microscópicas e histológicas, existiendo diferentes sistemas de clasificación del CG, como el sistema japonés, el de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Mariette et al., 2018), el de Lauren (Lauren., 1965 y de Catalano et al., 2005).

El sistema de Lauren es el más utilizado y divide al CG en dos subtipos, intestinal y difuso, los cuales presentan diferencias importantes a nivel epidemiológico, etiopatológico y molecular (Catalano et al., 2005; Correa & Houghton, 2007).

El 95% de cánceres gástricos son adenocarcinomas, la clasificación macroscópica más utilizada es la de Borrmann, de acuerdo a la cual existen cuatro tipos: Polipoide, cuando está muy bien circunscrito, fungoide, que se denomina así cuando la forma polipoide tiene una clara infiltración central, ulcerado, son tumores ulcerados y el infiltrativo que presenta linitis plástica.

La localización anatómica del tumor maligno en el estómago es también considerada como un parámetro importante para la clasificación del CG. De acuerdo a la localización anatómica se pueden distinguir dos tipos de cáncer gástrico: aquellos localizados en la región distal (cáncer no cardial) y los que se localizan en la región más proximal de este órgano (cáncer cardial). Estos dos subtipos anatómicos de CG presentan diferencias importantes en su etiología y epidemiología (Hansen et al., 2007; McColl, 2006).

Desde el punto de vista histológico, el CG también puede tener distintos patrones, la OMS recomienda clasificarlo también por su grado de diferenciación en: adenocarcinoma, adenocarcinoma papilar, adenocarcinoma tubular, adenocarcinoma mucinoso, adenocarcinoma de células de sello de anillo, carcinoma adenoescamoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células pequeñas y carcinoma pobremente diferenciado.

Los mencionados sistemas de clasificación permiten una mejor comprensión de la histogénesis y la biología del cáncer gástrico, pero tienen una utilidad clínica limitada para guiar la terapia del paciente debido a la heterogeneidad molecular del CG.

La progresión del cáncer gástrico (según clasificación de Lauren) tipo intestinal a partir de un proceso de gastritis crónica por *H. pylori*, da como resultado un proceso de atrofia, caracterizado por la destrucción de las glándulas y el reemplazo con tejido fibroso o metaplasia, considerada el primer paso en la cascada de desarrollo del carcinoma gástrico de tipo intestinal el cual pasa hacia displasia, dicho proceso fue descrito desde 1988 por Pelayo Correa, ésta cascada en la evolución, ha sido usada hasta la actualidad (Yakirevich & Resnick, 2013).

Los adenocarcinomas pertenecientes al tipo difuso se ha observado que tienen un comportamiento más agresivo y peor pronóstico que los del tipo intestinal (Piazuelo & Correa, 2013). La Tabla 1 resume los sistemas de clasificación del CG.

Por otro lado, la gastritis crónica se considera un paso previo al CG, el sistema Sydney para la clasificación de gastritis, enfatiza algunos aspectos importantes, toma en cuenta también la topografía, morfología y la etiología de la misma con el propósito de mejorar el diagnóstico, aportando resultados reproducibles y útiles desde el punto de vista clínico. Este sistema se evaluó en Houston en 1994, se revisaron las categorías principales de esta patología en: estomago atrófico y no atrófico como dos grandes categorías, no obstante su aplicabilidad ha sido tema de debate (Rugge et al., 2007).

Basándose en el conocimiento actual de las bases biológicas del desarrollo de la gastritis, incluyendo las experiencias mundiales mediante la aplicación del sistema Sydney por más de 15 años, un grupo de patólogos se reunió en el conocido “Enlace Operativo para la Evaluación de la Gastritis” (OLGA por sus siglas en inglés) y propuso un sistema para estadiar la gastritis, organizando los tipos histológicos de gastritis a lo largo de una escala de riesgo de evolucionar a cáncer gástrico el cual aumenta progresivamente desde el más bajo riesgo, etapa 0 hasta el más alto etapa IV. La revisión del sistema Sydney, estableció que se deben tomar varias biopsias gástricas para explorar los diferentes compartimentos de la mucosa para tener una mejor evaluación y correlación clínica (Molaei et al., 2016). El consenso mexicano de detección y tratamiento del CG temprano, recomienda la cromos endoscopia como método de diagnóstico inicial (Icaza-Chávez et al., 2020).

Infección por *H. pylori* en CG

H. pylori es un bacilo Gram negativo, flagelado, patógeno para el ser humano, identificado como agente productor de cáncer gástrico. Esta bacteria; posee una gran variabilidad genética, existiendo cepas que producen reacción inflamatoria crónica y secretan hacia el interior de célula gástrica toxinas que dañan el epitelio gástrico de forma crónica y persistente. Entre los mecanismos de virulencia, se encuentran las toxinas codificadas en genes *Vac A* y *Cag A* en la isla de patogenicidad conocida como *Cag*-PAI, la cual contiene alrededor de 30 genes que codifican para un complejo proteico llamado sistema de secreción tipo IV, el cual se encuentra en cerca del 60% de las cepas de *H. pylori*, pero con variaciones entre poblaciones. Este sistema de secreción introduce una serie de moléculas al citoplasma de las células epiteliales de la mucosa gástrica, entre ellas la proteína CagA (Shaffer et al., 2011).

Estudios llevados a cabo con ratones transgénicos han demostrado que CagA es una oncoproteína capaz de inducir la formación de cáncer en el epitelio gástrico (Ohnishi, 2008; Yamaoka, 2010). Una vez en el citoplasma, CagA es fosforilada y esto desencadena una serie de eventos a nivel intracelular que incluyen rearrreglos del citoesqueleto, provocando alteraciones en la polaridad de las células epiteliales, inducción de la expresión de mediadores inflamatorios y activación de mecanismos de señalización que aumentan la proliferación celular, entre otros (Naumann et al., 2017; Polk & Peek, 2010).

También se han descrito otros mecanismos de patogenicidad asociados a *Cag*-PAI pero independientes de la translocación o fosforilación de CagA, por ejemplo el nivel de fosforilación de la tirosina de CagA en las células del hospedero está influenciado por las diferentes regiones EPIYA denominadas así por la secuencia aminoacídica que poseen, si CagA tiene mayor número de EPIYAS presenta una mayor unión a sus dianas intracelulares por lo tanto una mayor actividad y la sub siguiente transformación a célula maligna será mayor (Backert & Blaser, 2016; Cover, 2016; Naumann et al., 2017).

Adicionalmente, *VacA* es una proteína citotóxica, codificada por el gen *VacA*, que induce la formación de vacuolas que producen una serie de daños intracelulares en el epitelio gástrico (Polk & Peek, 2010). Aunque todas las cepas de *H. pylori* producen esta proteína, los niveles de expresión varían en función del genotipo de polimorfismos presentes en tres sitios específicos del gen *VacA*, denominados región señal (s), región media

Tabla 1
Resumen de los principales sistemas de clasificación del cáncer gástrico

Clasificación macroscópica	Localización anatómica	Clasificación por estadije	Clasificación por Estadío clínico	Clasificación histológica de la OMS	Clasificación histológica de Lauren
Temprano: Protruida Excavado Ulcerado	Cardias Cuerpo Antro-pilórica Curvatura menor Curvatura mayor	TNM: Profundidad de la invasión y la metástasis	Correlaciona TNM con manifestación Clínica del caso I II III IV	Indica las características histológicas Tipo histológico y grado de diferenciación.	Tipos de cáncer: Intestinal Difuso. Mixto
Avanzado: Borrmann: Indica la apariencia macroscópica de la lesión primaria. Polipoides, Fungoide, Ulceroso y no clasificable.		T: Extensión del tumor primario N: Presencia de nódulos linfáticos con metástasis M: presencia de metástasis a órganos vecinos o a distancia		Adenocarcinoma de tipo, papilar, tubular, mucinoso, de células de sello de anillo, adenoescamoso, de células escamosas, células pequeñas y carcinoma pobremente diferenciado	Basado en: Patrón de crecimiento y tipo histológico

(m) y región intermedia (i). Ciertos haplotipos de estos sitios polimórficos han sido asociados con un mayor riesgo de desarrollar CG (Cover & Blanke, 2005). Las variantes genotípicas de *Vac s1m1 Cag A+* se ha encontrado que están más asociadas a úlcera gástrica, úlcera duodenal y CG produciendo un alto grado de actividad neutrofílica, desarrollo de metaplasia intestinal y concentraciones locales muy altas de IFN γ e IL-12 (Vinagre et al., 2018).

En tal sentido, la patogénesis del *H. pylori* para el desarrollo de enfermedad gástrica premaligna y maligna, se relaciona con un proceso inflamatorio crónico persistente iniciado por la estimulación antigénica del *H. pylori*, la cual daña la célula gástrica de forma irreversible (Parsonnet et al., 1991).

Métodos de diagnósticos de infección por *H. pylori*

La infección por *H. pylori*, se encuentra geográficamente localizada en países en desarrollo, los países desarrollados prácticamente han erradicado esta infección, sin embargo, a pesar de eso se considera que la mitad de la población mundial se encuentra colonizada por ésta bacteria (Hunt et al., 2010).

Entre los métodos de diagnóstico de *H. pylori* se encuentran los invasivos como la biopsia gástrica, que es considerado el estándar de oro; las desventajas de este método consisten en la necesidad de realizar el procedimiento bajo anestesia y en sala adecuada, uso de gastroscopio, pinzas de biopsia y además requiere personal especializado tanto para la toma de la muestra, como para la observación de la bacteria. El diagnóstico de *H. pylori* inicialmente, en la consulta médica, se hace de una forma práctica por la detección urea en aliento, o niveles séricos de anticuerpos anti *H. pylori* o por la identificación de antígenos de *H. pylori* en las heces.

Entre estos, la identificación de antígenos de *H. pylori* en heces tiene una gran facilidad de realización, su sensibilidad y especificidad es comparable con la detección de urea en el aliento que tiene también una alta sensibilidad y especificidad (Gómez et al., 2015; Graham & Miftahussurur, 2018).

A pesar de lo anterior, una reciente revisión sistemática de los métodos no invasivos de diagnóstico de infección por *H. pylori*, concluyen que no hay claridad para afirmar si las pruebas de urea en aliento, la determinación de anticuerpos séricos o la determinación de antígenos en heces pueden ser adecuadas para identificar si alguien tiene infección por *H. pylori* (Best et al., 2018).

Biomarcadores usados en detección de CG

La identificación de biomarcadores basados en la historia clínica y el análisis genético de la persona, puede mejorar el pronóstico del cáncer gástrico. Existen diversas clases de biomarcadores detectables en tejido y en sangre que pueden ayudar a la detección temprana de la enfermedad. Entre los biomarcadores estudiados se mencionan marcadores genéticos, de crecimiento celular, del ciclo celular, de adhesión celular, mediadores inmunológicos, inestabilidad de microsátélites, alteraciones epigenéticas, polimorfismos genéticos, circulación de células tumorales, circulación de ADN, microARN, marcadores específicos del estómago. Entre los biomarcadores estudiados sobresalen las toxinas de *H. pylori* CagA y VacA. También la IL-1 β ha sido descrita como un marcador de la progresión del cáncer gástrico asociado a *H. pylori* (Matsuoka & Yashiro, 2018).

Otras moléculas séricas estudiadas han sido anticuerpos anti pepsinógenos y anticuerpos anti *H. pylori*, algunos estudios han demostrado que títulos de estos anticuerpos proporcionan índices para inferir el desarrollo de cáncer gástrico en personas infectadas por *H. pylori* (Yoshida et al., 2013).

Proteína soluble uPAR y detección de CG

Estudios previos han señalado, que ésta es el receptor del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa (uPA) que está implicado en la metástasis de células tumorales al degradar la matriz extracelular. La proteína suPAR participa en el sistema activador de plasminógeno. Este sistema comprende un grupo de proteínas que actúan en forma secuencial para convertir al zimógeno plasminógeno en la enzima activa, plasmina, una serina-proteasa capaz de degradar componentes de la matriz extracelular como fibrina, fibronectina, laminina y vitronectina (Liotta et al., 1981).

Otros sustratos de la plasmina son el factor de crecimiento y transformación celular β (TGF β), la forma zimogénica de su propio activador (pro-uPA) y algunas pro-metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs). El plasminógeno es activado mediante corte proteolítico por dos serina-proteasas: el activador de plasminógeno tisular (tPA) y el activador de plasminógeno uroquinasa (uPA). tPA es relevante en la generación de plasmina para la fibrinólisis vascular, mientras que uPA desempeña un papel crucial en procesos de remodelación de tejido, tanto en homeostasis como en patologías como el cáncer. Se ha descrito que la proteína uPAR, induce la

activación de vías de señalización celular relacionadas con aumento en la capacidad proliferativa, invasiva y metastásica producto de su interacción con integrinas (Blasi & Carmeliet, 2002; Smith & Marshall, 2010; Yu et al., 1997).

Recientemente, se ha propuesto que *H. pylori* está implicado en la inducción de uPAR en el epitelio gástrico no neoplásico (Alpizar-Alpizar et al., 2010). La expresión de uPAR en células de cáncer también ha sido reportada para el CG (intestinal y difuso), principalmente en aquellas que se desprenden del crecimiento tumoral primario y se encuentran inmersas en el microambiente estromal (Alpizar-Alpizar et al., 2012; Migita et al., 1999).

Se ha estudiado también la relación de los distintos tipos de células que expresan uPAR y el crecimiento de una lesión maligna en la supervivencia de los pacientes que padecen CG, encontrándose que las células malignas que expresan uPAR podrían predecir la supervivencia de los pacientes, concluyendo que la presencia de este tipo de células podría identificar tumores malignos más agresivos (Alpizar-Alpizar et al., 2012).

Otros estudios han evaluado el valor diagnóstico y significancia de la proteína soluble uPAR en pacientes con CG respecto a controles sanos. Se ha demostrado una diferencia significativa en los niveles de ambos grupos, siendo aún más altos cuando los pacientes presentaron metástasis. Respecto al pronóstico, el cáncer con mal pronóstico correlaciona con valores séricos elevados de la proteína suPAR (Fidan et al., 2013).

En otro estudio que incluyó un grupo de 48 pacientes con patología gastrointestinal que incluía: cáncer esofágico, gástrico y colorrectal, se demostró que las concentraciones séricas de suPAR fueron significativamente más altas ($p = .0002$) en el grupo de estos pacientes respecto al grupo control (Ušnarska-Zubkiewicz et al., 2014).

Recientemente un estudio en pacientes guatemaltecos provenientes de los hospitales Roosevelt e Instituto de Cancerología (Incan), concluyó que los niveles séricos de la proteína uPAR, se encuentran significativamente elevados en pacientes con CG respecto a sus controles sanos apareados por edad y sexo. Se estudiaron pacientes adultos, 68 con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico y 136 controles, los resultados indicaron que los niveles plasmáticos uPAR en pacientes con cáncer gástrico, fueron significativamente más altos comparados con el grupo control y que el tipo microscópico de tumor (intestinal vs difuso), no tuvo un efecto significativo sobre los niveles de uPAR,

sugiriendo que los niveles plasmáticos de uPAR pueden tener un potencial como prueba de tamizaje para la detección de cáncer gástrico, sin interferencia con la edad o el sexo del paciente (Wellmann et al., 2018).

Citocinas en infección por *H. pylori* y CG

De acuerdo con Negovan y colaboradores (2019), la interleucina 1 (IL-1), es una citocina proinflamatoria que inhibe la secreción de ácido gástrico, promueve un aumento en la colonización de *H. pylori* conduciendo a una gastritis más severa, está relacionada en la carcinogénesis posterior y progresión tumoral. La IL-1 comprende tres genes relacionados, IL-1A, IL-1B e IL-1RN, que codifican IL-1 α , IL-1 β e IL-1 (IL-1ra), el antagonista del receptor, respectivamente. IL-1ra (una citocina antiinflamatoria) se une al receptor correspondiente para IL-1 y controla su acción. IL-1 β está involucrado en iniciar y amplificar la inflamación que se manifiesta como respuesta a la infección por *H. pylori*, disminuyendo la secreción de ácido gástrico.

La IL-10, es una citocina antiinflamatoria que tiene un rol importante en la respuesta inflamatoria, ya que inhibe la síntesis de algunas citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-12 y TNF- α , esto lleva a la regulación o moderación de una reacción inflamatoria. Se considera que está involucrada en la respuesta inmune a la infección por *H. pylori*.

Otra importante citocina es el interferón γ (IFN γ) el cual es proinflamatorio, producido por linfocitos CD4, tipo Th1. Sus efectos se observan ante infecciones virales, antimicrobianas y anti tumorales. Es inhibidor de la angiogénesis y es capaz de tener efecto antiproliferativo y antimetabólico directo sobre una amplia variedad de células tumorales. Se han relacionado algunos polimorfismos con el riesgo de sufrir cáncer gástrico de inicio temprano.

El factor de necrosis tumoral α (TNF- α), es otra citocina pro inflamatoria y sus niveles pueden estar influenciados por las variantes alélicas en la región promotora del gen TNF- α . Su relación con CG aún es muy controversial ya que no se ha encontrado relación en poblaciones eslovenas, pero estudios en poblaciones asiáticas revelan relación con algunos polimorfismos de esta molécula y el cáncer gástrico.

Por otro lado, la interleucina 4 (IL-4), es una citocina inmunomoduladora producida por linfocitos CD4, tipo Th2, que tiene un rol importante en la regulación de la diferenciación y activación de los linfocitos. Además, otra función que se ha descrito es que IL-4 inhibe la

secreción de citocinas proinflamatorias para promover las células tumorales, afectando en particular a IL-1, IL-6 y TNF- α . De allí su importancia de estudiarla en la tumorigenesis por *H. pylori*. Además, se ha encontrado asociación de algunas variantes alélicas de esta citocina con CG tipo intestinal (Cho & Kim, 2017).

Con relación a la Interleucina 6, (IL-6), esta es una citocina multifuncional que actúa tanto como un regulador endocrino como un mediador inflamatorio. IL-6 juega un rol de importancia en los mecanismos de defensa del huésped, ya que actúa como mediador entre el sistema inmune innato y el adaptativo. Existen estudios que han descrito la presencia del alelo IL6 -174G asociado con una mayor producción de IL-6 en comparación con individuos con variables genotípicas de CG. Otras investigaciones han descrito niveles más altos de IL-6 en la mucosa gástrica en pacientes con *H. pylori* positivo en comparación con los casos de *H. pylori* negativo (Landskron et al., 2014). Incluso se ha postulado la utilización de esta citocina como marcador de CG o posible diana terapéutica (Wang et al., 2020).

Respecto a la interleucina 17 (IL-17), esta es una citocina pro inflamatoria producida por linfocitos CD4, tipo Th17, que ha sido estudiada en su relación con cáncer gástrico, encontrándose en un reciente meta-análisis que los efectos generales de dos polimorfismos se asociaron significativamente con la susceptibilidad al cáncer gástrico (Gao et al., 2019). En el análisis de etnicidad, estos dos polimorfismos se asociaron con poblaciones asiáticas, pero no con caucásicos (Long et al., 2017)

Niveles séricos de citocinas y detección de CG

Los antígenos del *H. pylori* estimulan la respuesta inmune del hospedero por medio de la producción de citocinas, como IL-8, las que son quimotácticas para neutrófilos y mononucleares, la IL-6 e IL-1 β que al activar neutrófilos propician una reacción inflamatoria que contribuye a la producción gastritis, que con el tiempo se transforma en crónica, también se produce infiltración de células dendríticas y linfocitos T y B, se genera la producción la proteína quimiotáctica de los macrófagos (MCP1), TNF α , IL-10 e IL-12, factor de crecimiento y transformación beta TGF- β , gamma interferón (IFN γ) (Sánchez-Zauco et al., 2017). Existen factores que combinados contribuyen en forma determinante al desarrollo de CG, como variantes polimórficas en segmentos genéticos que codifican citocinas relacionadas con la regulación de la respuesta inflamatoria, lo-

calización anatómica de la gastritis crónica, la diferencia en susceptibilidad del hospedero al CG relacionado con polimorfismos de IL-1 (El-Omar et al., 2000). Estos factores contribuyen a la transformación oncogénica de la célula gástrica, los mediadores inflamatorios producidos en forma crónica los que eventualmente causan daño en el ADN, induciendo proliferación e inhibición de la apoptosis (Peek et al., 2010).

Los citados mediadores inflamatorios producidos en la mucosa, pueden alcanzar el torrente sanguíneo y ser medidos a nivel sérico. Idealmente, los biomarcadores deberían detectar las etapas tempranas de una lesión maligna (I / II) cuando las oportunidades de curación son más altas.

Se ha demostrado que el mediador inflamatorio producido localmente en la mucosa gástrica puede alcanzar la circulación sanguínea y detectarse en muestras de plasma en pacientes con cáncer gástrico (Sánchez-Zauco et al., 2017).

Se ha descrito que un fuerte sesgo de las células T CD4 + hacia un fenotipo Th1 está asociado con infección por *H. pylori* menos severa, y pudo observarse en infección a corto plazo y después sostenida. Sin embargo, parece que *H. pylori* ha desarrollado estrategias con las cuales prevenir la inducción de células T CD4 + sesgadas a fenotipo Th1. Se ha demostrado también que *H. pylori* hace un desvío del equilibrio Th1 /Th2 a favor del último al reducir la secreción de IL-12 (Vignagre et al., 2018).

Otro tópico investigado con relación al rol de las citocinas, son sus variantes genéticas y su relación con la gastritis por *H. pylori*, así como su evolución a lesiones atróficas gástricas y metaplasia, sin embargo no son concluyentes a la fecha. Las variantes en un solo nucleótido se han investigado para CG. Las variantes de IL-10 T-819C, IL-8-251, IL-18RAP917997, IL-22 rs1179251, IL1-B-511, IL1-B- 3954, IL4R-398 e IL1RN se han identificado como algunos de los predictores de lesiones gástricas premalignas (Negovan et al., 2019).

Los niveles de citocinas séricas han sido estudiados como respuesta al cáncer gástrico y como posibilidad diagnóstica de lesiones malignas. Los niveles de citocinas como IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, e IL-18 se han encontrado significativamente elevados a nivel local en el estómago de los pacientes infectados con *H. pylori*, en contraste con sus controles no infectados (Lindholm et al., 1998).

Recientemente un estudio comparó diferentes marcadores en un grupo de pacientes con cáncer y controles sanos, encontrando valores del receptor 1

del IFN- γ , el Notch-3, el receptor del Factor de necrosis tumoral (TNF-R), el receptor de la hormona del crecimiento, el activador linfocitario 8 (SLAMF8), el receptor de folato beta (FR-beta), la integrina alfa 5 y galectina 8, significativamente más altos en los casos que en los controles. El hallazgo más importante es que se ha descrito por primera vez como estas proteínas pueden diagnosticar y evaluar el pronóstico del cáncer gástrico (Wu et al., 2019).

Se identificó recientemente un factor no proteínico en los sonicados de *H. pylori* que tiene la capacidad de prevenir la secreción de IL-12 por células dendríticas CD *in vitro*, lo que indica que *H. pylori* actúa suprimiendo activamente la función de dichas células, en lugar de causar agotamiento a través de la estimulación crónica (Vinagre et al., 2018). Estas observaciones sugieren que *H. pylori* logra regular la inmunidad Th1 a su favor, desviando CDs hacia un perfil de citocina que es más propicio para las respuestas Th2, representando así otra estrategia con la cual evade el reconocimiento de CD y la posterior respuesta de células T (Bedoui et al., 2017).

Mediadores inflamatorios como TNF- α , IL-6, TGF- β , e IL-10 han sido estudiados como moléculas que participan en el inicio y progresión del cáncer en el microambiente tumoral, el cual está formado por células estromales, infiltrado de células inmunes y las células tumorales, existen moléculas que promueven la carcinogénesis.

Existe evidencia que apoya la participación de las citocinas en los eventos que intervienen en la iniciación, estimulación, invasión y metástasis del cáncer. En el proceso inflamatorio crónico, las citocinas tales como TNF α , e IL-6 inducen la generación de radicales libres que dañan el ADN, causando mutaciones que permiten la iniciación del tumor.

El desarrollo del tumor también es favorecido por citocinas pro inflamatorias que estimulan la proliferación celular reduciendo la apoptosis, mientras que las citocinas anti inflamatorias tales como IL-10 y TGF- β , contribuyen a la inmuno evasión del tumor. Respecto a los niveles séricos de IL-10, se ha observado que niveles elevados podría ser un biomarcador útil en el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico, sin embargo se sugiere realizar estudios con un número mayor de pacientes y realizar comparaciones con grupo control que tengan edad similar, también se sugiere que la expresión de IL-10 puede ser un marcador útil para distinguir el estadio clínico en el cual se encuentra el paciente con cáncer (Shokrzadeh et al., 2018).

Las propiedades invasivas del tumor se han relacionado al factor de necrosis tumoral (TNF- α). El factor transformador de crecimiento beta TGF β favorece la transición de epitelio mesenquimal y otras citocinas como TNF- α e IL-6 juegan un papel importante en la angiogénesis y la metástasis. En este contexto se ha propuesto el uso de la determinación sérica de citocinas tales como IL-6 e IL-10 como marcadores diagnósticos, aunque los autores sugieren que es necesario realizar estudios con mayor número de casos (Landskron et al., 2014).

Otro estudio evaluó muestras plasmáticas de 99 pacientes con cáncer gástrico, se midieron niveles de IFN γ , TNF α , Factor de Crecimiento y Diferenciación β -1 (FGF β -1) y las citocinas IL-1b, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, y el factor de crecimiento endotelial (EGF). Se estudiaron los citados parámetros inmunológicos, con factores epidemiológicos y las características clínicas de los casos de CG, se encontró una correlación entre las citocinas, y factores epidemiológicos, encontrando que en hombres los niveles plasmáticos de TNF- α , IL-12p70, IL-4, IL-10 son más altos, comparados con mujeres ($P < .05$). Los niveles plasmáticos de TNF- α en pacientes adultos mayores, con cáncer gástrico (≥ 60 años) se encontraron más altos que pacientes jóvenes ($p < .05$). Los niveles elevados de IL-8 e IL-10 se identificaron como factores de riesgo para el aumento en el tamaño del tumor (diámetro ≥ 5 cm). Los niveles más altos de TGF- β 1 se asociaron con un aumento de riesgo de invasión a tejido vascular y nervioso.

Los resultados antes descritos, evidencian que las citocinas plasmáticas y los niveles de factores de crecimiento, pueden ayudar a predecir el desarrollo y progresión del cáncer gástrico, proponiéndose validar estos hallazgos en estudios con mayor número de casos (Zou et al., 2018).

Discusión

La literatura revisada, con relación a la naturaleza y capacidad diagnóstica de la proteína soluble uPAR (suPAR) tiene relevancia ya que algunos estudios la han descrito como activadora de vías de señalización celular aumentando la capacidad proliferativa, invasiva y metastásica del tumor, como producto de su interacción con integrinas (Blasi & Carmeliet, 2002; Smith & Marshall, 2010; Yu et al., 1997) esto constituye un elemento clave para el desarrollo del tumor y su diseminación.

Las expresiones de uPAR en células cancerígenas se encuentran inmersas en el microambiente estromal, pero puede ser liberada al plasma en donde ha podido ser detectada y cuantificada (Alpizar-Alpizar et al., 2012; Migita et al., 1999).

Otros estudios han evaluado el valor diagnóstico y significancia de la proteína soluble uPAR en pacientes con CG respecto a controles sanos. Se ha demostrado una diferencia significativa en los niveles de ambos grupos, siendo aún más altos cuando los pacientes presentaron metástasis. Respecto al pronóstico, el cáncer con mal pronóstico correlaciona con valores séricos elevados de la proteína suPAR (Fidan et al., 2013).

Estos estudios son comparables con otros realizados en pacientes con cáncer gastrointestinal en quienes los niveles de suPAR se encontraron elevados, y aún mayores en pacientes que tienen enfermedad avanzada con metástasis a distancia, incluyendo cáncer esofágico y colorrectal (Usnarska-Zubkiewicz et al., 2014).

La experiencia obtenida localmente, con pacientes guatemaltecos, que fueron captados en los hospitales Roosevelt e Instituto de Cancerología (Incan), concluyó que los niveles séricos de la proteína soluble uPAR, se encuentran significativamente elevados en pacientes con CG, respecto a sus controles sanos apareados por edad y sexo, especialmente los pacientes con CG se encuentran infectados con *H. pylori*. Respecto al el tipo microscópico de tumor, intestinal vs difuso, no tuvo un efecto significativo sobre los niveles plasmáticos de uPAR, sugiriendo éste biomarcador puede tener un potencial como prueba de tamizaje para la detección de cáncer gástrico (Wellmann et al., 2018).

Adicionalmente la estimulación de la respuesta inmune del hospedero por medio de la producción de IL-8, IL-6, IL-1 β , contribuye a la producción de gastritis crónica iniciada por la infección por *H. pylori* así como IL-10 e IL-12, factor de crecimiento y transformación beta TGF- β e IFN γ (Amieva & Peek, 2016). El IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, e IL-18 se han encontrado significativamente elevados a nivel local en el estómago de los pacientes infectados con *H. pylori*, en contraste con sus controles no infectados (Lindholm et al., 1998). La producción de las citocinas es prominente en el microambiente tumoral, pero se ha identificado que pueden ser detectadas a nivel plasmático en pacientes con lesiones gástricas premalignas y malignas (Sánchez-Zauco et al., 2017).

La determinación sérica de citocinas tales como IL-6 e IL-10 ha sido propuesta como marcadores de diagnóstico en CG, aunque los autores sugieren que

es necesario realizar estudios con mayor número de casos (Landskron et al., 2014). Se ha enfatizado la determinación de IL-10 como un biomarcador útil en el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico, sin embargo se sugiere realizar estudios con un número mayor de pacientes y realizar comparaciones con grupo control que tengan edad similar edad (Shokrzadeh et al., 2018).

Otros autores han demostrado marcadores que podrían ser útiles en estados tardíos del CG, tales como IL-1 β , IL-8, y la proteína quimiotáctica de macrófagos (MCP-1) (Sánchez-Zauco et al., 2017).

Otros estudios apoyan la determinación sanguínea de TNF- α , IL-12p70, IL-4, IL-10, resaltando la determinación de IL-8 e IL-10 en la predicción del tamaño del tumor (Zou et al., 2018).

El valor de los métodos de diagnóstico no invasivos y tempranos en CG sigue siendo tema de estudio, a la realización de investigaciones en grupos más amplios y en poblaciones de diversas etnias puede contribuir a identificar polimorfismos de citocinas relacionadas al riesgo de sufrir cáncer, pero también la utilidad de la medición de los niveles séricos de estas moléculas juegan un rol fundamental para la identificación inicial de pacientes sintomáticos que pueden estar a riesgo de sufrir lesiones gástricas premalignas o malignas y detectarlas en una etapa más temprana para mejorar sus diagnóstico y pronóstico.

Conclusiones

Esta revisión postula que el estudio de citocinas séricas y la proteína soluble uPAR en pacientes con lesiones premalignas y cáncer gástrico es necesaria, ya que hay suficiente evidencia a tomar en cuenta para trabajar profundamente en mejorar los métodos no invasivos en la detección temprana de lesiones gástricas pre malignas, esto mejorará el tratamiento y pronóstico de los casos. Incluso puede tomarse en cuenta la determinación de niveles séricos de los biomarcadores estudiados para identificación de pacientes con estadios más avanzados de CG. Sobre todo se debe diseñar un estudio con un mayor número de casos, con lesiones histológicamente bien identificadas en su estadio, relacionando factores clínico epidemiológicos.

Es necesario trabajar en investigaciones que ofrezcan al paciente un método de diagnóstico temprano, que evite sufrimiento y muerte en edades de la vida que son muy productivas, los métodos serológicos en la detección de lesiones pre malignas, debe llegar a con-

clusiones certeras como lo ha sido para otros tipos de cancer , en los cuales distintos biomarcadores han mejorado el diagnostico y pronostico de los casos, como el uso clínico de miembros del uPA los cuales en el 2007 fueron ya recomendados por la Sociedad Americana de Oncología Clínica , para la identificación de pacientes con cáncer de mama sin compromiso linfático.

Agradecimientos

La autora desea agradecer el apoyo académico del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, y el apoyo editorial de Armando Cáceres Estrada.

Referencias

- Alpízar-Alpízar, W., Christensen, I.J., Santoni-Rugiu, E., Skarstein, A., Ovrebø, K., Illemann, M., & Laerum, O.D. (2012). Urokinase plasminogen activator receptor on invasive cancer cells: a prognostic factor in distal gastric adenocarcinoma. *International Journal of Cancer*, *131*, E329-E336. <https://doi.org/10.1002/ijc.26417>
- Alpízar-Alpízar, W., Nielsen, B. S., Sierra, R., Illemann, M., Ramírez, J. A., Arias, A., ... Laerum O. D. (2010). Urokinase plasminogen activator receptor is expressed in invasive cells in gastric carcinomas from high- and low-risk countries. *International Journal of Cancer*, *126*(2), 405-415. <https://doi.org/10.1002/ijc.24755>
- American Cancer Society. (2018). Cancer Facts & Figures for hispanics/Latinos 2018-2020. Atlanta: Autor. Recuperado de <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/cancer-facts-and-figures-for-hispanics-and-latinos/cancer-facts-and-figures-for-hispanics-and-latinos-2018-2020.pdf>
- Amieva, M., & Peek, R. (2016). Pathobiology of *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer. *Gastroenterology*, *150*(1), 64-78. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.09.004>
- Backert, S., & Blaser, M. (2016). The role of CagA in the gastric biology of *Helicobacter pylori*. *Cancer Research*, *7*(14), 4028-4032. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1680>
- Bedoui, S., Kupz, A., Wijburg, O. L., Anna, K., Rescigno, M., Strugnell, R. A., ... Strugnell, R. A. (2017). Different bacterial pathogens, different strategies, yet the aim is the same: Evasion of intestinal dendritic cell recognition. *Journal of Immunology*, *184*(5), 2237-2242. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902871>
- Best, L. M., Takwoingi, Y., Siddique, S., Selladurai, A., Gandhi, A., Low, B., ... Gurusamy, K. S. (2018). Non-invasive diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *3*(3), CD012080. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012080>
- Bertuccio, P., Chatenoud, L., Levi, F., Praud, D., Ferlay, J., Negri, E., ... La Vecchia, C. (2009). Recent patterns in gastric cancer: A global overview. *International Journal of Cancer*, *125*(3), 666-673. <https://doi.org/10.1002/ijc.24290>
- Blasi, F., & Carmeliet, P. (2002). uPAR: A versatile signalling orchestrator. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *3*(12), 932-943. <https://doi.org/10.1038/nrm977>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, *68*(6), 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Catalano, V., Labianca, R., Beretta, G.D., Gatta, G., de Braud, F., & Van Cutsem, E. (2005). Gastric cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *54*(3), 209-241. <https://doi.org/10.1016/critrevonc.2005.01.002>
- Catalano, V., Labianca, R., Beretta, G. D., Gatta, G., de Braud, F., & Van Cutsem, E. (2009). Gastric cancer. *Critical Review in Oncology/Hematology*, *71*(2), 127-164. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2009.01.004>
- Cho, Y. A., & Kim, J. (2017). Association of IL4, IL13 and IL4R polymorphisms in gastrointestinal cancer risk: A meta-analysis. *Journal of Epidemiology*, *27*(5), 215-220. <https://doi.org/10.1016/j.je.2016.06.002>
- Choi, I.J., Kim, C. G., Lee, J. Y., Kim, Y. I., Kook, M.-C., Park, B., & Joo, J. (2020). Family history of

- gastric cancer and *Helicobacter pylori* treatment. *New England Journal of Medicine*, 382(5), 427-436. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1909666>
- Correa, P., & Houghton, J. M. (2007). Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 133(2), 659-672. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.06.026>. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.06.026>
- Cover, T. L. (2016). *Helicobacter pylori* diversity and gastric cancer risk. *mBio*, 7(1), e01869-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.01869-15>.
- Cover, T. L., & Blanke, S. R. (2005). *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 320-332. <https://doi.org/10.138/nrmicro1095>
- El-Omar, E. M., Carrington, M., Chow, W. H., McColl, K. E., Bream, H. J., Young, H. A., ... Rabkin, C. S. (2000). Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, 404(6842), 398-402. <https://doi.org/10.1038/35006081>
- Espejo, R., Navarrete, H. (2003). Clasificación de los adenocarcinomas del estómago. *Revista Gastroenterológica de Perú*, 23(3), 199-212.
- Fidan, E., Mentese, A., Ozdemir, F., Deger, O., Kavgasi, H., Karahan, S. C., & Aydin, F. (2013). Diagnostic and prognostic significance of CA IX and suPAR in gastric cancer. *Medical Oncology*, 30, 540-549. <https://doi.org/10.1007/s12032-013-0540-9>
- Fock, K. M. (2014). Review article: The epidemiology and prevention of gastric cancer. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 40(3), 250-260. <https://doi.org/10.1111/apt.12814>.
- Gao, J.-F., Zhang, H., Lv, J., Wang, L. & Fan, Y.-Y. (2019). Associations of the IL-17A rs2275913 and IL-17F rs763780 polymorphisms with the risk of digestive system neoplasms: A meta-analysis. *International Immunopharmacology*, 67, 248-259. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.12.016>
- Gómez, M. A., Riveros, J. H., Ruiz, O., Concha, A., Betancur, D. M. A., Torres, M., ... Sabbagh, L. (2015). Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento del cáncer gástrico temprano - 2015. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 30(1), 34-42.
- Graham, Y., & Miftahussurur M. (2018). *Helicobacter pylori* urease for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: A mini review. *Journal of Advanced Research*. 13, 51-57. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.01.006>
- Hansen, S., Vollset, S. E., Derakhshan, M. H., Fyfe, V., Melby, K. K., Aase, S., ... McColl, K. E. (2007). Two distinct etiologies of cardia cancer; evidence from premorbid serological markers of gastric atrophy and *Helicobacter pylori* status. *Gut*, 56(7), 918-925. <https://doi.org/10.1136/gut.2006.114504>.
- Hayakawa, Y., Sethi, N., Sepulveda, A. R., Bass, A. J., & Wang, T. C. (2016). Oesophageal adenocarcinoma and gastric cancer: Should we mind the gap? *Nature Reviews Cancer*, 16(5), 305-318. <https://doi.org/10.1038/ncr.2016.24>.
- Herrera-Goepfert, R., Zúñiga, J., Hernández-Guerrero, A., Rodríguez-Reyna, T., Osnalla, N., Ruiz-Morales, J., Vargas-Alarcón, G., Jesús K., ... Granados, J. (2004). Asociación del alelo HLA-DQB1*0501 del complejo mayor de histocompatibilidad con cáncer gástrico en México. *Gaceta Médica de México*, 140(3), 299-303.
- Hunt, R.H. H., Xiao, S. D., Megraud, F., León-Barua, R., Bazzoli, F. van der Merwe, S., ... Krabshuis, H. (2010). Guías Prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología. *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. *Gastroenterología Latinoamericana*, 2(21), 2-14.
- Icaza-Chavéz, M., Tanimoto, M., Huerta-Iga, F., Remes-Throche, J., Carmona-Sánchez, R., Ángeles-Ángeles, A., ... Zentella-Dehesa, A. (2020). The Mexican consensus on the detection and treatment of early gastric cancer. *Revista de Gastroenterología de México*, 85(1), 69-85.
- Landskron, G., De la Fuente, M., Thuwajit, P., Thuwajit, C., & Hermoso, M. A. (2014). Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal of Immunology Research*, 19149185. <https://doi.org/10.1155/2014/149185>
- Lauren, P. (1965). The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and - called intestinal-type carcinoma an attempt a histo-clinical classification. *Acta Patologica et Microbiologica Scandinavica*, 64, 31-49. <https://doi.org/10.1111/apm.1965.64.1.31>

- Lindholm, C., Quiding-Järbrink, M., Lönroth, H., Hamlet, A., & Svennerholm, A. M. (1998). Local cytokine response in *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Infection and Immunity*, *66*(12), 5964-5971.
- Liotta, L. A., Goldfarb, R. H., Brundage, R., Slegai, G. P., Terranova, V., & Garbisa, S. (1981). Effect of plasminogen activator (urokinase), Plasmin, and thrombin on glycoprotein and collagenous components of basement membrane. *Cancer Research*, *41*(11 pt 1), 4629-4636.
- Long, Z.-W., Yu, H.-M., Wang, Y.-N., Liu, D., Chen, Y.-Z., Zhao, Y.-X., & Liu, D. (2015). Association of IL-17 polymorphisms with gastric cancer risk in Asian populations. *World Journal of Gastroenterology*, *21*(18), 5707-5718. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i18.5707>
- Mariette, C., Carneiro, F., Grabsch, H., Vander Post R., Allum, W., & Manzoni, G., (2019). Consensus on the pathological definition and classification of poorly cohesive gastric carcinoma. *Gastric Cancer*, *22*, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10120-018-0868-0>
- Matsuoka, T., & Yashiro, M. (2018). Biomarkers of gastric cancer: Current topics and future perspective. *World Journal of Gastroenterology*, *24*(26), 2818-2832 <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i26.2818>
- McColl, K. E. L. (2006). Cancer of the gastric cardia. *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology*, *20*(4), 687-696. <https://doi.org/10.1016/j.bpq.2006.03.005>
- Migita, T., Sato, E., Saito, K., Mizoi, T., Shiiba, K.-i., Matsuno, S., ... Ohtani, H. (1999). Differing expression of MMPs-1 and -9 and urokinase receptor between diffuse- and intestinal-type gastric carcinoma. *International Journal of Cancer*, *84*, 74-79. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19990219\)84:1<74::AID-IJC14>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19990219)84:1<74::AID-IJC14>3.0.CO;2-I)
- Molaei, M., Ehtiati, A., Mashayekhi, R., Rafizadeh, M., Zojaji, H., Mirsattari, D., & Kishani Farahani, R. K. (2016). Gastric atrophy: Use of OLGA staging system in practice. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, *9*(1), 25-29.
- Nagini, S. (2012). Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, *4*(7), 156-169. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v4.i7.156>
- Naumann, M., Sokolova, O., Tegtmeyer, N., & Backert, S. (2017). *Helicobacter pylori*: A paradigm pathogen for subverting host cell signal transmission. *Trends in Microbiology*, *25*, 316-328. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.12.004>
- Negovan, A., Iancu M., Fülöp, E., & Bănescu, C. (2019). *Helicobacter pylori* and cytokine gene variants as predictors of premalignant gastric lesions. *World Journal Gastroenterology*, *25*(30) 4105-4124. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i30.4105>
- Ohnishi, N., Yuasa, H., Tanaka, S., Sawa, H., Miura, M., Matsui, A., & Hatakeyama, M. (2008). Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(3), 1003-1008. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711183105>.
- Parsonnet, J., Friedman, G. D., Vandersteen, D. P., Chang, Y., Vogelmann, J. H., ... Sibley, K. G. (1991). *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *New England Journal of Medicine*, *325*(16), 1127-1131. <https://doi.org/10.1056/NEJM199110173251603>.
- Pasechnikov, V., Chukov, S., Fedorov, E., Kikuste, I., & Leja, M. (2014). Gastric cancer: Prevention, screening and early diagnosis, *World Journal of Gastroenterology*, *20*(38), 13842-13862. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i38.13842>
- Peek, R. M., Fiske, C., & Wilson, K. T. (2010). Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiological Reviews*, *90*(3), 831-858. <https://doi.org/10.1152/physrev.00039.2009>
- Petrovich, I., & Ford, J. M. (2016). Genetic predisposition to gastric cancer. *Seminars in Oncology*, *43*(5), 554-559. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2016.08.006>.

- Piazuelo, M. B., & Correa, P. (2013). Gastric cancer: Overview. *Colombia Médica*, 44(3), 192-201.
- Polk, D. B., & Peek Jr., R. M. (2010). *Helicobacter pylori*: Gastric cancer and beyond. *Nature Reviews Cancer*, 10(6), 403-414. <https://doi.org/10.1038/nrc2857>
- Rugge, M., Meggio, A., Pennelli, G., Pisciole, F., Giacomelli, L., De Pretis, G., & Graham, D. Y. (2007). Gastritis staging in clinical practice: the OLGA staging system. *Gut*, 56(5), 631-636. <https://doi.org/10.1136/gut.2006.106666>
- Sánchez-Zauco, N., Torres, J., Gómez, A., Camorlinga-Ponce, M., Muñoz-Pérez, L., Herrera-Goepfert, R., ... Maldonado-Bernal, C. (2017). Circulating blood levels of IL-6, IFN- γ , and IL-10 as potential diagnostic biomarkers in gastric cancer: A controlled study. *BMC Cancer*, 17(1), 384. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3310-9>
- Shaffer, C. L., Gaddy, J. A., Loh, J. T., Johnson, E. M., Hill, S., Hennig, E. E., & Cover, T. L. (2011). *Helicobacter pylori* exploits a unique repertoire of type IV secretion system components for pilus assembly at the bacteria-host cell interface. *PLoS Pathogens*, 7(9), e1002237. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002237>
- Shokrzadeh, M., Mohmmadpour, A., Hoseini, V., Abediankenari, S., Ghassemi-Barghin, N., & Tabari, Y. (2018). Serum cytokine of IL-2, IL-10 and IL-12 levels in patients with stomach adenocarcinoma. *Arquivos de Gastroenterologia*, 55(4), 385-389. <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-83>
- Smith, H. W., & Marshall, C. J. (2010). Regulation of cell signalling by uPAR. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(1), 23-36. <https://doi.org/10.1038/nrm2821>.
- Ušnarska-Zubkiewicz, L., Strutyńska-Karpińska, M., Zubkiewicz-Kucharska, A., Zarębski, P., & Grabowski, K. (2014). Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor and ferritin concentration in patients with advanced alimentary tract carcinoma. Relationship to localization, surgical treatment and the stage of the disease – preliminary report. *Advanced Clinical Experimental Medicine*, 23(6), 959-967. <https://doi.org/10.17219/acem/30817>.
- Vinagre, R., Vinagre, I., Vilar-e-Silva, A., Fecury, A., & Martins, L. (2018). *Helicobacter pylori* infection and immune profile of patients with different gastroduodenal diseases. *Arquivos de Gastroenterologia*, 55(2), 122-127. <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-21>
- Wang, N., Lu, K., Qu, H., Wang, H., Chen, Y., Shan, T., ... Xia, J. (2020). CircRBM33 regulates IL-6 to promote gastric cancer progression through targeting miR-149. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 125, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109876>
- Wellmann, I. A., Villagrán, C. I., Fernández-Bostrán, R., Hernández, E., & Une, C. (2018). Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 5(1), 43-53.
- Wu, D., Zhang, P., Ma, J., Xu, J., Yang, L., Xu, W., ... Xu, H. (2019). Serum biomarker panels for the diagnosis of gastric cancer. *Cancer Medicine*, 8(4), 1576-1583. <https://doi.org/10.1002/cam4.2055>
- Yamaoka, Y. (2010). Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 7(11), 629-641. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.154>
- Yakirevich, E., & Resnick, M. B. (2013). Pathology of gastric cancer and its precursor lesions. *Gastroenterology Clinics of North America*, 42(2), 261-284. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2013.01.004>
- Yoshida, T., Kato, J., Yoshimura, N., Deguchi, H., Mukoubauashi, C., Oka, M., ... Ichinose, M. (2013). Cancer development based on chronic active gastritis and resulting gastric atrophy as assessed by serum levels of pepsinogen and *Helicobacter pylori* antibody titer. *International Journal of Cancer*, 134(6), 1445-1457. <https://doi.org/10.1002/ijc.28470>
- Yu, W., Kim, J., & Ossowski, L. (1997). Reduction in surface urokinase receptor forces malignant cells into a protracted state of dormancy. *Journal of Cell Biology*, 137(7), 767-777. <https://doi.org/10.1083/jcb.137.3.767>

Long, Z-W., Yu, H-M., Wang, Y-N., Liu, D., Chen, Y-Z, Zhao, Y-X., Bai, Lu., (2017). Association of IL-17 polymorphisms with gastric cancer risk in Asian populations. *World Journal of Gastroenterology*, 21(18), 5707-5718. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i18.5707>

Zou, Z., Zhao, L., Su, S., Liu, Q., Yu, L., Wei, J., ... Liu, B., (2018). The plasma levels of 12 cytokines and growth factors in patients with gastric cancer. *Medicine (Baltimore)*, 97(19), 1-6. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010413>

Envenenamientos por mordedura de serpiente en Guatemala: revisión de literatura

Snakebite envenomings in Guatemala: literature review

Irmgardt A. Wellmann^{*1,2}; Dennis Guerra-Centeno³

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil;

²Facultad de Ciencias Médicas; ³Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

*Autor al que se dirige la correspondencia: irmgardtina@gmail.com

Recibido: 06 de agosto 2019 / Revisión: 11 de junio 2020 / Aceptado: 29 de julio 2020

Resumen

El accidente ofídico es una enfermedad tropical desatendida que ocasiona un problema de salud pública en el mundo, siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en las áreas empobrecidas de América Latina. En Guatemala se distribuyen 23 especies de serpientes venenosas de importancia médica. La composición de los venenos es compleja y diversa, resultando en una variedad de manifestaciones clínicas. Los departamentos con mayor incidencia de ofidismo son Petén, Alta Verapaz, Quiché, Escuintla e Izabal. Estos accidentes afectan más a hombres que a mujeres, siendo la mayoría agricultores; el rango de edad más comprometido es de 10-19 años y principalmente ocurren en miembros inferiores. El tiempo medio que tarda la víctima en llegar al hospital es de 5.6 h, siendo el retraso en la atención médica, un factor de riesgo para severidad y mortalidad. Los servicios de salud en ocasiones no cuentan con recursos idóneos para atender a las víctimas, brindando tratamiento sintomático. Simultáneamente, el tratamiento empírico tiene gran aceptación, sin embargo, los resultados de investigaciones realizadas con algunas plantas de uso común en casos de ofidismo, concluyeron que no es recomendable su uso aislado en el tratamiento del envenenamiento. Dada la falta de información se debe promover más investigación sobre el ofidismo en el país, siendo indispensable la elaboración de una ficha de reporte obligatoria. Además, deben elaborarse guías de tratamiento e identificación de serpientes para uso del personal médico, incluyendo programas de educación a nivel comunitario.

Palabras claves: Envenenamiento por serpiente, accidente ofídico, enfermedad desatendida, *Bothrops asper*, mordedura por serpiente

Abstract

Snakebite envenoming is a neglected tropical disease that causes a public health problem in the world, being one of the main causes of morbidity and mortality in impoverished areas of Latin America. 23 species of poisonous snakes of medical importance are distributed in Guatemala. The composition of venoms is complex and diverse, resulting in a variety of clinical manifestations. The departments with the highest incidence of snakebites are Petén, Alta Verapaz, Quiché, Escuintla and Izabal. These accidents affect more men than women, the majority being farmers; the most compromised age range is 10-19 years and they mainly occur in the lower limbs. The average time it takes for the victim to reach the hospital is 5.6 hours, with delay in medical care being a risk factor for severity and mortality. Health services sometimes do not have adequate resources to care for victims, providing symptomatic treatment. Simultaneously, empirical treatment is widely accepted, however, the results of research carried out with some plants commonly used in cases of envenoming concluded that their isolated use is not recommended in the treatment. Given the lack of information, more research on snakebite envenoming in the country should be promoted, making the preparation of a mandatory report form essential. In addition, snake identification and treatment guides should be developed for use by medical personnel, including education programs at the community level.

Keywords: Snakebite envenoming, snakebite, neglected disease, *Bothrops asper*



Introducción

El envenenamiento por mordedura de serpiente es una enfermedad tropical desatendida (World Health Organization [WHO], 2019) que resulta de la inyección de una secreción tóxica altamente especializada –el veneno– en algún tejido de un ser humano. Esta inyección ocurre a través de los colmillos (que son dientes modificados) que actúan a manera de agujas hipodérmicas y que están conectados con una glándula de veneno. Las circunstancias en que ocurre son accidentales, pudiendo generar alteraciones locales y sistémicas (Gutiérrez et al., 2017; Ministerio da Saúde, 2014).

Los accidentes ofídicos son un importante problema de salud pública en el mundo en vías de desarrollo. Es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, especialmente en las áreas empobrecidas de los trópicos y subtropicos, como África subsahariana, el sudeste de Asia, Papúa Nueva Guinea y América Latina (Gutiérrez et al., 2017).

Se estima que al menos 421,000 envenenamientos y 20,000 muertes por mordeduras de serpientes ocurren anualmente en todo el mundo. Sobre la base de la estimación de que el número total de mordeduras de serpientes es de dos a tres veces el número de intoxicaciones, se estima que pueden ocurrir entre 1,200,000 y 5,500,000 accidentes ofídicos a nivel mundial. La mayoría de la carga de mordidas estimada se encuentra en el Sur y Sudeste de Asia, África Subsahariana y América Central y del Sur (Kasturiratne et al., 2008).

Siendo Latinoamérica una de las regiones de mayor prevalencia de casos de accidentes ofídicos, son escasos los esfuerzos de investigación de esta enfermedad y no suelen trascender el ámbito de la literatura gris, de tal manera que no contribuyen eficientemente con nuestro entendimiento del problema (Guerra-Centeno, 2018b), de igual forma los datos que pueden obtenerse sobre la mordedura por serpiente en Centroamérica, ya sea de publicaciones o de datos oficiales, no son completos y la magnitud real del problema es difícil de cuantificar (Bolaños, 1982). Específicamente, en Guatemala la información publicada en medios indexados es escasa (Guerra-Centeno, 2018b) y se estima que ocurren 600 envenenamientos por mordedura de serpiente al año, con incidencia de 4.2/100,000 habitantes al año (Gutiérrez, 2014).

Contenido

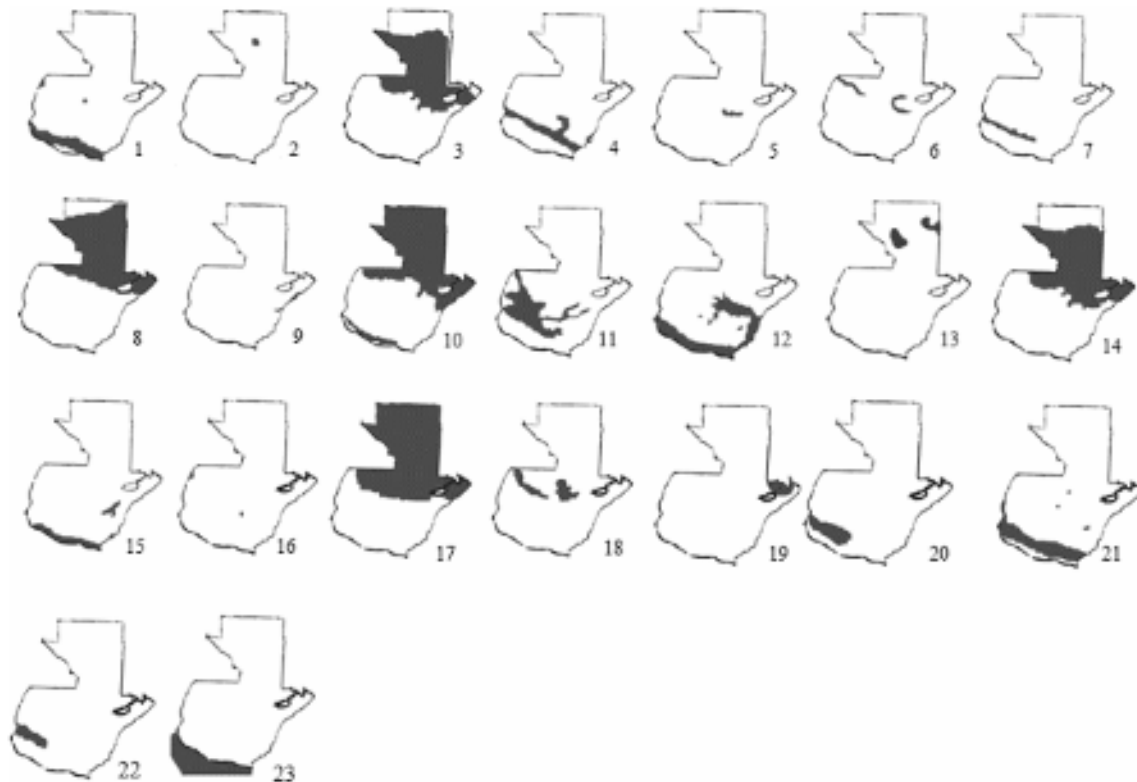
Especies de serpientes presentes en Guatemala y su distribución geográfica

Guatemala es un país localizado en la región tropical, con características que le permiten poseer gran diversidad de fauna, dentro de la cual se encuentran alrededor de 138 especies de serpientes (Uetz et al., s. f.), de las que solo 23 son venenosas (Acevedo et al., 2010). Están divididas en ocho familias, pero en el país únicamente existen dos familias de serpientes venenosas de importancia médica para el humano, estas son:

- Familia Viperidae (víboras verdaderas y víboras de foseta): es la familia de mayor importancia médica por la cantidad de accidentes que causan y la pronta acción de su veneno. Dentro de esta familia se encuentran todas las víboras e incluye 15 especies de los géneros *Bothrops* (1), *Agkistrodon* (2), *Atropoides* (3), *Crotalus* (2), *Cerrophidion* (1), *Bothriechis* (4), *Porthidium* (2).
- Familia Elapidae (elápidos): en esta se ubican las siete especies de serpientes coral de Guatemala, del género *Micrurus* (7) y la víbora marina (*Hydrophis platurus*) que habita en el océano Pacífico, hay muy pocos informes de mordeduras de esta especie en humanos, probablemente debido a limitaciones anatómicas y características de comportamiento. La incidencia de mordeduras de serpientes coral es baja, representando del 1 al 2% del número total de casos en la región centroamericana (Gutiérrez, 2009).

Algunas especies de otras familias presentan toxinas o venenos que no se consideran de importancia médica por la poca actividad y baja potencia de su veneno. Entre ellas se mencionan los géneros *Conopsis*, *Leptophis*, *Oxybelis*, *Trimorphodon* y *Thamnophis* (Gutiérrez, 2009; Gutiérrez et al., 2017; Gutiérrez & Sasa, 2002; Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2009).

En nuestro país la mayoría de la población se dedica a la agricultura (Bouroncle et al., 2015; Instituto Nacional de Estadística, 2002); además, las condiciones climáticas han permitido que las serpientes venenosas se distribuyan a lo largo y ancho del territorio (Figura 1). Lo anterior da lugar a que las personas que viven en las áreas rurales y en las orillas de las zonas urbanas



Nota. Distribución geográfica de las especies de serpientes venenosas de Guatemala

1) *Agkistrodon bilineatus*; 2) *A. russeolus*; 3) *Atropoides mexicanus*; 4) *A. occiduus*; 5) *A. olmec*; 6) *Bothriechis aurifer*; 7) *B. bicolor*; 8) *B. schlegelii*; 9) *B. thalassinus*; 10) *Bothrops asper*; 11) *Cerrophidion godmani*; 12) *Crotalus simus*; 13) *C. tzabcan*; 14) *Porthidium nasutum*; 15) *P. ophryomegas*; 16) *Micrurus browni*; 17) *M. diastema*; 18) *M. elegans*; 19) *M. hippocrepis*; 20) *M. latifasciatus*; 21) *M. nigrocinctus*; 22) *M. stuarti*; 23) *Hydrophis platurus*. (Acevedo et al., 2010; Guerra-Centeno, 2018b; Organización Panamericana de la Salud, 2009)

Figura 1. Distribución geográfica de las especies de serpientes venenosas de Guatemala

se encuentren en riesgo de sufrir accidentes por mordeduras de estos reptiles (OPS, 2009).

En el estudio realizado por Guerra-Centeno (2018b) se utilizaron datos oficiales del Sistema de Información Gerencial de Salud (Sigsa) del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) para el período 2008-2013, observándose que no hay asociación significativa entre el número de especies de serpientes venenosas que ocurren por departamento y la morbilidad anual media por casos de accidente ofídico. Concluyendo que la ocurrencia de especies de serpientes venenosas es una condición suficiente más no determinante de los casos de accidente ofídico y que la morbilidad estaría entonces determinada por otros factores. Se sabe que el cambio de la cobertura vegetal y la perturbación humana típicos de cualquier agrosistema

de uso múltiple, influyen la composición faunística del lugar. Por tanto la densidad de especies como *Bothrops asper* y *Boa constrictor* podría incrementarse al aumentar la población de roedores en áreas de cultivos agrícolas (Guerra-Centeno et al., 2014). La distribución de serpientes venenosas se ha utilizado como un insumo para determinar el efecto del cambio climático en la carga de mordeduras de serpiente (Yañez-Arenas et al., 2016), y para determinar las poblaciones humanas vulnerables (Longbottom et al., 2018). El algoritmo propuesto por Bravo-Vega y colaboradores (2019), en Costa Rica, usa esas distribuciones para comprender la variación geográfica de la mordedura de serpiente, permitiendo así estimar la incidencia en lugares donde los datos son escasos. Y sus resultados subrayan la importancia de incorporar la abundancia, y no el nú-

mero, de especies de serpientes de importancia médica como estimador de riesgo. Dicho modelo matemático sugiere que la distribución espacial de la mordedura de serpiente se debe principalmente a una combinación de factores ambientales que afectan la distribución de las especies venenosas y su asociación con el tamaño de la población humana expuesta (Bravo-Vega et al., 2019).

Acciones de los venenos de las serpientes presentes en Guatemala y aspectos clínicos de los accidentes ofídicos

La composición de los venenos de serpiente es compleja y diversa, lo que resulta en un perfil bioquímico y toxicológico variable que determina una amplia gama de manifestaciones clínicas. Algunas toxinas en el veneno provocan daños en los tejidos locales, que a menudo resultan en secuelas permanentes, mientras que otras inducen efectos sistémicos, incluyendo manifestaciones neurotóxicas (que conducen, por ejemplo, a parálisis respiratoria, sangrado, lesión renal aguda y rhabdomiólisis), cardiotoxicidad, hiperactividad autonómica o trombosis. Los venenos de las serpientes de la familia Viperidae causan efectos locales y manifestaciones sistémicas asociadas con sangrado, coagulopatías y shock hipovolémico. Los venenos de las serpientes de la familia Elapidae predominantemente inducen manifestaciones neurotóxicas, como la parálisis neuromuscular (Fatima & Fatah, 2014; Gutiérrez et al., 2017; Hui Wen et al., 2015; Mackessy, 2009; McCleary & Kini, 2013; Zamuner et al., 2005).

A pesar de que han sido publicadas clasificaciones de los efectos farmacológicos del envenenamiento, algunas bastante elaboradas, por razones prácticas los venenos de las serpientes centroamericanas pueden dividirse en solo dos grupos: (a) venenos que inducen manifestaciones locales (dolor, edema, hemorragia y necrosis) y efectos sistémicos (hemorragia, alteraciones de la coagulación y presión sanguínea y problemas renales); venenos de *Crotalus*, *Agkistrodon* y *Bothrops* pertenecen a esta categoría; y, (b) venenos neurotóxicos, típicamente los de coral y serpiente de mar (Boñaños, 1982).

En Guatemala se han desarrollado algunas investigaciones comparativas entre los venenos de las especies de Guatemala con especies de otros países de Centroamérica. Inicialmente, Overall (1987) realizó estudios de toxicidad de los venenos de *B. asper* y *Bothrops nummifer* (actualmente dividida en tres especies: *Atropoides mexicanus*, *A. occiduus* y *A. olmec*), com-

parándolas con sus homólogas de Costa Rica, concluyendo que el veneno que *B. asper* de Guatemala es más tóxico que el de la de Costa Rica.

Más recientemente, Saravia y colaboradores (2001), analizaron el veneno de *B. asper* de Guatemala, demostrando que tiene actividades letales, hemorrágicas, miotóxicas, formadoras de edema, coagulantes, de desfibrinación y fosfolipasa A2 y muestra un perfil toxicológico similar al descrito previamente para *B. asper* de Costa Rica.

Chavéz (2001) caracterizó los efectos toxicológicos (letal, hemorrágico, coagulante y actividad fosfolipasa A2) del veneno de *A. nummifer* de Guatemala, revelando que este veneno presenta los efectos característicos de los vipéridos. El veneno de especímenes de Guatemala mostró ser menos letal, menos coagulante y menos hemorrágico que los venenos de *B. asper* y *C. durissus durissus* de especímenes de Guatemala y Costa Rica. Sin embargo, presentó importante actividad de la fosfolipasa A2 comparada con la descrita para las especies antes mencionadas.

Así mismo, Rojas y colaboradores (2001) realizaron un estudio comparativo en donde reportaron que los venenos de *A. nummifer* de Guatemala y Honduras tienen un perfil toxicológico cualitativamente similar, aunque hubo variaciones cuantitativas significativas en algunas de estas actividades entre los dos venenos.

Por su parte, Valdés y colaboradores (1994) reportaron que el veneno de la cascabel *C. durissus durissus* (actualmente renombrada y dividida en *C. simus* y *C. tzabcan*) de Guatemala es relativamente más letal que el de cascabel de Costa Rica, también se informó que dicha especie de Guatemala posee un efecto proteolítico que es incluso mayor que el presente en serpientes botrópicas de Costa Rica.

Se ha determinado que el veneno de *A. bilineatus* (actualmente dividida en *A. bilineatus* y *A. russeolus*) es casi 10 veces más hemorrágico y edematizante que el veneno de *B. asper*, siendo un veneno de alta vasculotoxicidad. Así también se ha reportado que no hay variaciones inmunoquímicas drásticas cuando se compara los venenos de *B. asper* de Costa Rica y Honduras, *B. nummifer* de Costa Rica y Honduras y *C. d. durissus* de Costa Rica y Guatemala (Rojas et al., 1987).

En cuanto a estudios realizados en la región centroamericana que describan los efectos *in vivo* que producen los venenos de especies nativas, podemos decir que existen pocos hasta la fecha. Partiendo del estudio realizado en Costa Rica por Barrantes y colaboradores (1985), con pacientes víctimas de accidente con *B. asper*, en donde se reportó que estos presentaron alte-

raciones hemostáticas con evidencia de hipofibrinogenemia, aumento considerable en los niveles de los productos de degradación del fibrinógeno y disminución del plasminógeno, demostrando así que el componente fibrinolítico del veneno es considerable. Sin embargo, se destaca que uno de los retos continúa siendo la caracterización de las manifestaciones clínicas de los envenenamientos inducidos por varias serpientes en la región, con el objetivo de identificar patrones clínicos característicos de algunas especies (Gutiérrez, 2014).

En Guatemala, contamos con algunos datos de estudios descriptivos, Maltez (1994) recolectó información de los accidentes ofídicos atendidos del periodo de 1987-1992 en el departamento de Guatemala y reportó que 37% de los pacientes presentaron hipofibrinogenemia (fibrinógeno < 200 mg/dl), 34% prolongación del tiempo de protombina, 12% presentaron hematuria y 10% presentaron creatinina elevada.

Yee-Seuret y colaboradores (2012) realizaron un estudio en los departamentos de Huehuetenango y Petén, reportando que los síntomas locales fueron los predominantes en 92% (80/87) de los casos, seguidos de coagulopatías en 81.6% (trombocitopenia, prolongación del tiempo de sangrado, del tiempo de protrombina y del tiempo parcial de tromboplastina), así también informaron que los pacientes presentaron complicaciones como síndrome compartimental de extremidades (12.6%), insuficiencia renal (8%) y shock (3.4%).

Las características clínicas más sobresalientes encontradas en otro estudio realizado en Petén, corresponden a hemorragia en sitios distantes a la herida en 24%, coma en 14%, vómitos en 16%, deshidratación severa en 14%, edema extenso y agudo en 22%, flictenas y equimosis proximal y distal en 34%, hipotensión en 30%, anuria en 14% y mionecrosis en 8%. Asimismo, se reportó que las patologías asociadas a la mortalidad por accidente ofídico fueron diabetes mellitus, alcoholismo crónico y anemia crónica. Además fue realizada necropsia en siete de los pacientes que fallecieron, reportándose en los hallazgos anatomopatológicos: hemorragia cerebral, necrosis renal y cirrosis hepática (esta última estaba presente en los pacientes que tenían antecedente de alcoholismo crónico) (Ramos, 1994). Cabe resaltar que el procedimiento estándar de oro para determinar las causas de muerte secundarias a las mordeduras de serpiente consiste en la realización de necropsias de diagnóstico, sin embargo estas se encuentran mal descritas en todo el mundo (da Silva Souza et al., 2018).

Epidemiología de los accidentes ofídicos

En Guatemala, el Centro Nacional de Epidemiología (CNE) del MSPAS es el encargado de llevar a cabo el registro y estadística de los accidentes por animales ponzoñosos que reportan los médicos y los hospitales (Letona, 2012).

Se cuenta con algunas investigaciones realizadas durante 1987-1993 en distintas localizaciones geográficas de Guatemala que aportan informaciones sobre las principales especies responsables de los accidentes ofídicos, sin embargo debe resaltarse que en la mayoría de los casos fue reportada como desconocida la especie de la serpiente, siendo muy pocos los casos en los que pudo ser identificada. Vemos así que *B. asper* fue la responsable de la mayoría de mordeduras en Petén Occidental (Mazariegos, 1993) e Izabal (García, 1993); *A. bilineatus bilineatus* (cantil de agua) en Amatitlán y sitios aledaños a este municipio (Palín y San Vicente Pacaya, Escuintla) (Mendoza, 1993), Chimaltenango (Barahona, 1993), Santa Rosa (Velásquez, 1993) y Sacatepéquez (López, 1993); y *Porthidium ophryomegas* y *C. durissus* en El Progreso (Murallas, 1993).

En el estudio realizado por Letona (2012) donde utilizó la información estadística de la frecuencia de accidentes toxicológicos causados por animales ponzoñosos de Guatemala, reportó que las serpientes que han provocado la mayor cantidad de accidentes toxicológicos en el país son: *B. asper*, *C. simus*, *M. nigrocinctus* y *A. mexicanus*; y durante el período comprendido entre 2001 y 2010 se reportaron 7,377 mordeduras de serpientes por el CNE. Sin embargo, cabe mencionar que no se representa el total de casos ocurridos en esos años, debido a que el número anteriormente indicado solo hace ver aquellos casos que fueron reportados por los médicos de esos departamentos, pero en muchas ocasiones el paciente no llega a un hospital para ser atendido y, en su lugar, recibe tratamiento empírico en la comunidad o por chamanes o curanderos. Otras veces el paciente no logra recibir la atención en el momento y fallece, o bien el médico no sabe la razón de ingreso del paciente y por ende no lo reporta a las autoridades competentes como un ataque por animal ponzoñoso.

Posteriormente en un estudio realizado por Guerra-Centeno (2016) en las tierras bajas de Guatemala (Petén, Izabal, norte de Alta Verapaz y costa Sur de Guatemala), que es donde se distribuye la mayoría de las especies de serpientes venenosas del país, se analizaron 305 expedientes hospitalarios de casos de accidente ofídico correspondientes al período de 2008

a 2013 en el Hospital Regional de Escuintla (HRE) y el Hospital Regional de San Benito, Petén (HRSBP), de los cuales 169 correspondieron al HRE y 136 al HRSBP. Se encontró que las especies que se consignaron en los expedientes con mayor frecuencia fueron *B. asper* en la región norte y *C. simus* en la región sur. Es importante resaltar que en ninguno de los 305 expedientes examinados se evidencia la confirmación de la especie de serpiente por un experto, a pesar de que muchas víctimas portan dicho animal al hospital; por lo tanto, en los expedientes se anota la especie que refiere el paciente (escrita como nombre común) o lo que señala el médico tratante.

Los accidentes ofídicos por serpientes del género *Micrurus* son muy escasos, teniendo publicados hasta la fecha únicamente el reporte de dos casos atendidos en un hospital de referencia de la ciudad de Guatemala en 2017, correspondientes a dos paciente de sexo masculino, el primero de 16 años referido de Petén y el otro de 41 años referido de Alta Verapaz, en ambos accidentes la serpiente fue identificada como *Micrurus diastema* debido a fotografías que portaban los pacientes (Castellanos & Rodas, 2017).

Características de los pacientes más afectados

En una serie de investigaciones realizadas por estudiantes de medicina en varios departamentos del país se documentó que el rango de edad más afectado es el de 10-19 años (Barahona, 1993; González, 1994; López, 1993; Maltez, 1994; Mazariegos, 1993; Mendoza, 1993; Muralles, 1993; Ramos, 1994), coincidiendo con el estudio de Guerra-Centeno (2016) donde las edades con más casos comprendían de 11 a 20 años seguido por los grupos de 1 a 10 años y de 21 a 29 años, con edad media de 25.2 años (Guerra-Centeno, 2016).

Los accidentes ofídicos afectan más a hombres que a mujeres, así también se sabe que la mayoría de los afectados son agricultores (Barahona, 1993; García, 1993; Guerra-Centeno, 2016; López, 1993; Maltez, 1994; Mazariegos, 1993; Mendoza, 1993; Muralles, 1993; Ramos, 1994; Velásquez, 1993) por tanto los accidentes ocurren principalmente mientras la víctima se encuentra desempeñando alguna actividad agrícola. Sin embargo, el número de accidentes que ocurren mientras la víctima está en casa no es mucho menor (Guerra-Centeno, 2016).

En mujeres, las mordeduras acontecen cuando estas realizan trabajos domésticos, cuando contribuyen al sustento del hogar realizando labores agrícolas

o cuando desempeñan actividades que implican un riesgo como la recolección de leña (Barahona, 1993; García, 1993; González, 1994; López, 1993; Maltez, 1994; Mazariegos, 1993; Mendoza, 1993; Muralles, 1993; Ramos, 1994; Velásquez, 1993) y agua, así como lavado de ropa a la orilla de los ríos (Barahona, 1993; Mendoza, 1993).

Los menores de edad que no tienen un oficio determinado, ayudan ocasionalmente a sus padres en las labores del campo o domésticas, lo que incluye recolección de leña en barrancos o cerros, pudiendo sufrir un accidente ofídico. En nuestro país también se ha reportado que un porcentaje de los afectados son estudiantes, entre los que se hallan adolescentes que fueron mordidos en sus ratos libres o cuando realizaban algún paseo (Barahona, 1993; García, 1993; González, 1994; Guerra-Centeno, 2016; López, 1993; Maltez, 1994; Mazariegos, 1993; Mendoza, 1993; Muralles, 1993; Ramos, 1994; Velásquez, 1993).

Con lo anterior, se evidencia que el solo hecho de vivir en el campo supone un riesgo de accidente ofídico incluso dentro de la casa. Esto último es propiciado por algunas prácticas agrícolas que son hostiles a las serpientes (como las quemadas o la aplicación de insecticidas) y que las obligan a buscar refugio dentro de las casas de los campesinos, poniendo en riesgo principalmente a las amas de casa y a los niños (Guerra-Centeno, 2018b).

La incidencia de la mordedura a través del año es variable, no evidenciándose un patrón general, ya que fluctúa de acuerdo a las actividades particulares de cada región; en general, es mayor durante la preparación de los terrenos y la recolección de las cosechas (Bolaños, 1982).

Localización anatómica

En los datos recolectados en el país se conoce que la mayoría de las mordeduras ocurrieron en los miembros inferiores (Barahona, 1993; García, 1993; González, 1994; Guerra-Centeno, 2016; López, 1993; Mazariegos, 1993; Mendoza, 1993; Muralles, 1993; OPS, 2009; Velásquez, 1993).

Por otro lado, únicamente se cuenta con un estudio realizado en el departamento de Guatemala en donde se encontró que la mayoría de accidentes ocurrieron en miembros superiores y principalmente mano derecha (Maltez, 1994), debido a que son los miembros utilizados para el desarrollo de labores y recolección de cultivos (Guerra-Centeno, 2015b; Maltez, 1994; Yee-Seuret et al., 2012).

Localización geográfica

En las investigaciones más grandes realizadas hasta la fecha, llevadas a cabo en distintos períodos y con distintas fuentes de información se reportó que los departamentos que presentaron mayor incidencia de ataques fueron: Alta Verapaz, El Progreso, Escuintla, Izabal, Petén y Quiché (Guerra-Centeno, 2018b; Letona, 2012).

La distribución geográfica de los casos del accidente ofídico, tiene una explicación ecológica y una sociológica. Desde el punto de vista ecológico, la morbilidad se explica por la distribución geográfica de las serpientes. Las especies venenosas se distribuyen principalmente en las tierras bajas del norte y del sur del país –donde ocurre la mayoría de los accidentes ofídicos–. Esto se debe a que las zonas de vida del norte y del sur (bosque húmedo subtropical y bosque muy húmedo subtropical), proveen las mejores condiciones ecológicas para las serpientes y, por lo tanto, es allí donde se concentra la mayoría de las especies (Guerra-Centeno, 2018b).

Tratamiento médico

No todas las mordeduras de serpientes causan envenenamiento, ya que algunas de ellas son causadas por serpientes no venenosas, e incluso en el caso de mordeduras por especies venenosas, varios casos no dan como resultado la inyección de veneno, lo que constituye mordeduras secas. Por lo tanto, el diagnóstico correcto de envenenamiento debe basarse en el análisis de los signos y síntomas objetivos presentados por el paciente, junto con los análisis de laboratorio realizados. Dicho examen clínico inicial, en lugar de la información proporcionada por la víctima o sus acompañantes, debe guiar el diagnóstico y las intervenciones terapéuticas posteriores (Gutiérrez, 2009; Letona, 2012; Ministerio da Saúde, 2001, 2019).

Después de un diagnóstico inicial, el pilar en el manejo clínico de estos pacientes es la administración intravenosa, ya sea de antiveneno polivalente (para mordeduras de víbora) o antiveneno anticoral (para mordeduras de serpiente coral), diluido en solución salina. El monitoreo cercano del paciente es crítico para detectar la aparición temprana de reacciones adversas a la terapia antiveneno, así como dar seguimiento de la evolución del caso. Además, debe considerarse la profilaxis antitetánica, junto con la administración de antibióticos en picaduras de víbora clasificadas como

moderada a grave. Finalmente, se debe considerar el manejo de las complicaciones derivadas de los envenenamientos, dependiendo de las manifestaciones clínicas de cada caso (Gutiérrez, 2009).

La administración de antiveneno por vía intravenosa es el único tratamiento específico para neutralizar la intoxicación (Gutiérrez, 2019; Gutiérrez et al., 2017; Lomonte, 2012; Mackessy, 2009; WHO, 2019). También se utilizan analgésicos, soporte ventilatorio, fluidoterapia, hemodiálisis y antibióticos. Sin embargo, también se están explorando nuevas alternativas terapéuticas basadas en tecnologías de anticuerpos recombinantes y nuevos inhibidores de toxinas (Gutiérrez et al., 2017). La toma de decisiones para el manejo clínico se ve afectada por las incertidumbres sobre la identidad de la especie y la cantidad de veneno inyectado, así como la composición del mismo, ya que éste puede variar con la edad de la serpiente, su sexo y con la localización geográfica, aún en individuos de la misma especie (Amazonas et al., 2018; Daltry et al., 1996; Furtado et al., 2006; Gutiérrez et al., 2017; Menezes et al., 2006).

Se resalta el hecho que la única forma de atacar el accidente ofídico y contrarrestar sus efectos, es conocer los distintos venenos y sus mecanismos de acción, por lo que se requiere que en Guatemala se continúe con la caracterización de los venenos de las diversas serpientes y así formular sueros antiofídicos específicos para el país (Valdés et al., 1994), ya que aquí no se producen sueros antiofídicos y por lo tanto el Gobierno debe adquirirlos de proveedores que lo importan desde Argentina, México y Costa Rica. Lamentablemente esto repercute grandemente en el gasto, ya que el costo de cada dosis es de hasta 500.00 quetzales (62.50 USD) y por lo tanto el tratamiento de un solo paciente, podría ascender a 10,000.00 quetzales (1,250.00 USD). Además, éstos antivenenos presentan algunas particularidades ya que los provenientes de México y Costa Rica, son elaborados a partir de venenos de serpientes colectadas en esos países a diferencia de los importados de Argentina que son producidos con venenos de serpientes colectadas en Guatemala. Por tanto es posible, en el caso de los primeros, que la especificidad y, por consiguiente, la capacidad neutralizante de estos sueros, no sea la deseable para contrarrestar los efectos de los venenos de las serpientes autóctonas de Guatemala (Guerra-Centeno, 2015b).

Para evaluar dichos escenarios, han sido realizadas en el país muy pocas investigaciones, pudiendo citar el estudio realizado por Rojas y colaboradores

(1987) donde se evaluó el antiveneno polivalente producido en Costa Rica por el Instituto Clodomiro Picado (ICP), el cual se prepara en caballos inmunizados con una mezcla de los venenos de *B. asper*, *C. durissus durissus* y *Lachesis muta* (Lomonte, 2012). El objetivo fue evaluar la capacidad que tenía este antiveneno para neutralizar los efectos tóxicos y enzimáticos de los venenos de *A. bilineatus* y *C. durissus durissus* de Guatemala y de *B. asper* y *A. nummifer* de Honduras. Se concluyó que a excepción del efecto edematizante inducido por los venenos de *C. d. durissus* y *A. nummifer*, el antiveneno polivalente del ICP es efectivo en la neutralización de las actividades tóxicas y enzimáticas de estos cuatro venenos de Guatemala y Honduras. Es interesante que, pese a que el veneno de *A. bilineatus* no fue utilizado en la mezcla de inmunización para la elaboración del tratamiento antiofídico, este antiveneno polivalente fue efectivo en su neutralización, probablemente como consecuencia de las reacciones cruzadas, de tipo inmunológico existentes entre venenos (Rojas et al., 1987).

Posteriormente, se realizaron dos estudios que evaluaron la capacidad neutralizante del veneno de *A. nummifer* (mano de piedra) por los antivenenos polivalentes MYN (origen mexicano) y el costarricense del ICP, en el estudio realizado por Chávez (2001) se demostró que ambos antivenenos resultaron igualmente efectivos para neutralizar el efecto coagulante. No obstante, el antiveneno del IPC fue más efectivo que el antiveneno MYN para la neutralización de la actividad fosfolipasa A2 y fue el que neutralizó los efectos letal y hemorrágico; contrariamente al antiveneno MYN con el cual no se pudo alcanzar la neutralización de estos efectos.

El segundo estudio evaluó la capacidad de dichos antivenenos para *A. nummifer* de Guatemala y Honduras demostrando que el antiveneno ICP fue eficaz en la neutralización de las actividades letal, hemorrágica, miotóxica, coagulante, de desfibrinación y actividades de fosfolipasa A2, pero ineficaz contra la actividad formadora de edema. Por otro lado, el antiveneno MYN neutralizó las actividades hemorrágica, miotóxica, coagulante, de desfibrinación y actividades de fosfolipasa A2 aunque con una potencia menor que el del ICP. El antiveneno mexicano no logró neutralizar las actividades letales y formadoras de edema de los venenos de *A. nummifer* (Rojas et al., 2001).

Dado que *B. asper* es una de las especies que más accidentes ofídicos causa en el país, es indispensable conocer la capacidad de los antivenenos polivalentes MYN e ICP para neutralizar las actividades tóxicas del veneno. En el estudio realizado por Saravia y colabo-

radores (2001), ambos antivenenos fueron efectivos contra todos los efectos estudiados, aunque el producto costarricense mostró una mayor potencia contra la mayoría de las actividades probadas y un mayor título de anticuerpos contra los componentes del veneno, según lo determinado por el inmunoensayo enzimático.

La información que se tiene en cuanto a la administración del suero antiofídico en el país, es también escasa, sin embargo en el estudio realizado por Maltez (1994), se reportó que en un hospital de referencia se administró antiveneno al 76% de los casos, entre los motivos por los cuales no se aplicó se encuentran la falta de cumplimiento de criterios para su administración, el haber transcurrido mucho tiempo de evolución o por la falta de dicho tratamiento en el hospital en aquel momento.

En los casos de accidentes por *M. diastema* reportados por Castellanos y Rodas (2017), ambos recibieron tratamiento con neostigmina y presentaron buena evolución, a pesar de que en ninguno fue administrado el suero antiofídico específico debido a la inexistencia del mismo en el hospital de referencia donde fueron atendidos los pacientes.

Yee-Seuret y colaboradores (2012) reportaron que el tratamiento con antiveneno específico, administrado con prontitud y repetido las veces necesarias según la evolución clínica, controló 97.7% de los casos de envenenamiento, observándose que de los pacientes que presentaron alteraciones de la coagulación, el 45.5% se normalizaron en 48 h. Lo anterior concuerda con lo publicado en Brasil sobre la importancia que tiene el tratamiento específico temprano en el desenlace del paciente, ya que se han reportado casos en donde el retraso en la administración del antiveneno ha complicado cuadros de envenenamiento botrópico con hemorragia intracraneana y secuelas a largo plazo para el paciente (Pardal et al., 2015; Pérez-Gómez et al., 2019). Recientemente, Silva de Oliveira y colaboradores (2019) reportaron que los niveles de veneno botrópico disminuyeron 12 h después de la terapia con antiveneno, además reportaron que los parámetros laboratoriales de la coagulopatía volvieron a los valores normales dentro de las 48 h posteriores a la sueroterapia y se mantuvieron hasta el alta.

Es interesante mencionar que una de las especies presentes en Guatemala, *Porthidium nasutum* (OPS, 2009), con distribución para el norte de Guatemala, es no procoagulante y no induce la desfibrin(ogen)ización *in vivo*, por lo tanto, no deben esperarse alteraciones en las pruebas de coagulación en pacientes mordidos por esta especie (Mackessy, 2009).

Por otra parte, la terapia antiveneno también puede desencadenar reacciones adversas (Letona, 2012; Ministério da Saúde, 2019; Squaiella-Baptistão et al., 2018), en una investigación realizada en un hospital de referencia, se encontró que en pacientes con antecedentes médicos alérgicos, el 86% (corresponde al 12% del total de pacientes atendidos) presentó algún tipo de sensibilidad al suero antiofídico (Ramos, 1994).

En todas las investigaciones realizadas en el país se concluyó que la mayoría de servicios de salud no cuentan con los recursos necesarios para atender a la población que consulta por accidente ofídico y carecen de antivenenos por ser de alto costo, de difícil acceso y en ocasiones cuando sí se obtienen, éstos no son específicos para las especies de nuestro país, por ser de origen extranjero, por lo que en varios centros asistenciales únicamente se brinda tratamiento sintomático a los pacientes (Barahona, 1993; García, 1993; González, 1994; Guerra-Centeno, 2015a; López, 1993; Maltez, 1994; Mazariegos, 1993; Mendoza, 1993; Muralles, 1993; Ramos, 1994; Velásquez, 1993).

Tratamiento por medicina tradicional/etnomedicina

El tratamiento empírico-etnomédico, principalmente de emergencia, tiene gran aceptación entre la población afectada, debido esencialmente a las dificultades de transporte, de acceso a los servicios de salud y a la distancia entre las poblaciones, por lo que los pacientes utilizan los recursos disponibles en su localidad (curanderos, comadronas, hueseros, sobadores, boticarios) (Maltez, 1994), se sabe que en el país el tiempo medio que tarda la víctima en llegar al hospital es de 5.6 h (Guerra-Centeno, 2016) y el retraso en la atención médica se considera un factor de riesgo para severidad y mortalidad (Feitosa et al., 2015)

Existen algunos estudios científicos que demuestran la efectividad terapéutica de algunas de las plantas usadas en la medicina tradicional centroamericana para tratar el envenenamiento ofídico (Badilla et al., 2014; Coe & Anderson, 2005; Giovannini & Howes, 2017; Saravia-Otten et al., 2015, 2017).

En Guatemala, Saravia y colaboradores, 2015 realizaron dos estudios al respecto, en el primero se determinó la capacidad de los extractos de seis plantas de uso etnomédico (*Acacia hindsii*, *Aristolochia maxima*, *Cissampelos pareira*, *Hamelia patens*, *Piper peltatum* y *Sansevieria hyacinthoides*) para neutralizar los efectos proteolítico y fosfolipasa A2 (PLA2) del veneno

de *B. asper* y en el segundo estudio, que fue una continuación, se evaluó la capacidad para inhibir el efecto coagulante que tenían dichas especies incluyendo otras cuatro especies más (*Bursera simaruba*, *Eryngium foetidum*, *Hamelia patens*, *Pimenta dioica*) (Saravia-Otten et al., 2017). Los resultados de ambas investigaciones concluyeron que no es recomendable el uso aislado de estas plantas en el tratamiento del envenenamiento por mordedura de *B. asper*, aunque posiblemente las que demostraron alguna actividad puedan resultar potenciadas al usarse en combinación con otras plantas, según la forma tradicional de preparación de los antidotos lo que podría potenciar su acción (Saravia-Otten et al., 2015, 2017).

Posteriormente, Chang (2017) evaluó la acción inhibitoria de los alcaloides de *Sansevieria trifasciata* y *Tradescantia spathacea* sobre el efecto hemolítico del veneno de *A. mexicanus*, concluyendo que es posible que los alcaloides de *T. spathacea* degraden las proteínas del veneno y recomienda realizar más estudios que evalúen la acción inhibitoria de dichos alcaloides en una mayor concentración y purificación.

Medidas de prevención

Es evidente que la mayoría de mordeduras ocurren en el pie, especialmente entre los campesinos, quienes usualmente trabajan descalzos ya sea por tradición o por razones económicas (Bolaños, 1982; Guerra-Centeno, 2015a) dato que clama por el uso de botas altas, zapatos o *leggings* de cuero cuando se viaja o trabaja en el campo; esto evita aproximadamente el 80% de los accidentes (Letona, 2012; Ministerio da Saúde, 2001).

Igualmente una proporción de accidentes ocurren en antebrazos, manos y dedos, como resultado directo del sistema agrícola utilizado en el área centroamericana, donde la mano es uno de los más importantes y activos instrumentos utilizados (Bolaños, 1982). Por lo tanto, se recomienda prestar atención al recolectar cultivos de árboles o arbustos, como el café, ya que algunas serpientes venenosas son arbóreas (Gutiérrez, 2009), además se indica el uso de guantes de cuero para manejar hojas secas, pilas de basura, leña, pajitas, etc., así como evitar introducir las manos en agujeros (Letona, 2012; Ministerio da Saúde, 2001).

Debido a que las serpientes se refugian en lugares cálidos, oscuros y húmedos, debe tenerse precaución al manipular pilas de leña, paja de frijol, maíz o caña (Ministerio da Saúde, 2001).

Así también, se sabe que donde hay roedores hay serpientes, por lo que se recomienda la limpieza de los almacenes y patios, evitando el acaparamiento de basura, deben cerrarse agujeros en paredes y grietas en puertas, así como evitar la acumulación de escombros, piedras, ladrillos, baldosas, maderas, al igual que matorrales altos alrededor de las casas, pues estas condiciones atraen y albergan pequeños animales que sirven como alimento para las serpientes (Letona, 2012; Ministerio da Saúde, 2001).

Recomendaciones

La Organización Mundial de la Salud indica que deben promoverse prioridades en investigación para garantizar que las herramientas clínicas necesarias para abordar los accidentes ofídicos estén disponibles (WHO, 2019).

El problema del envenenamiento ofídico es un problema multidimensional, ya que el trabajador agrícola es vulnerable natural, física, económica, social, política, cultural, educativa, ecológica e institucionalmente. Se ha propuesto que la información generada por la epidemiología social, podría ser utilizada para concientizar al sector empresarial, al gobierno, a la academia y a los consumidores sobre la necesidad de lograr soluciones que contribuyan a disminuir las inequidades en salud y a mejorar la resiliencia y la calidad de vida de los trabajadores del agro y de los colectores de los productos silvícolas (Bouroncle et al., 2015; Guerra-Centeno, 2015b, 2018a).

Es indispensable la elaboración de una ficha oficial obligatoria de reporte por parte del MSPAS, para llevar un mejor control de los pacientes que ingresan a un centro hospitalario debido a un accidente ofídico (Letona, 2012), además se debe apoyar con orientación técnica y materiales de aprendizaje a los programas de educación para la mordedura de serpientes a nivel comunitario (WHO, 2019) ya que como se reportó en el estudio realizado por Valdés y colaboradores sólo el 24.8% del personal médico entrevistado posee un nivel de conocimiento aceptable sobre esta enfermedad (Valdés et al., 1994). Por lo tanto, se sugiere también la elaboración de guías de identificación de especie y tratamiento para el personal médico y paramédico de las distintas instituciones de salud en el territorio nacional.

Sin olvidar que es necesario garantizar la disponibilidad y accesibilidad de antivenenos en diferentes regiones del país y que estos se distribuyan siguiendo un plan de gestión que tome en cuenta las regiones con

mayor incidencia de envenenamientos. Así como también debería ser considerado el acompañamiento médico de las personas que quedan con algún tipo de secuela física o psicológica luego del accidente ofídico ya que estas disminuyen su calidad de vida a largo plazo.

Referencias

- Acevedo, M., Wilson, L. D., Cano, E. B., & Vásquez-Almazán, C. (2010). Diversity and conservation status of the Guatemalan herpetofauna. *En Conservation of Mesoamerican amphibians and reptiles* (pp. 406-435). Eagle Mountain Publishing.
- Amazonas, D. R., Portes-Junior, J. A., Nishiyama-Jr, M. Y., Nicolau, C. A., Chalkidis, H. M., Mourão, R. H. V., ... Moura-da-Silva, A. M. (2018). Molecular mechanisms underlying intraspecific variation in snake venom. *Journal of Proteomics*, *181*, 60-72. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.03.032>
- Badilla, B., Chaves, F., Mora, G., & Poveda, L. J. (2014). Edema induced by *Bothrops asper* (Squamata: Viperidae) snake venom and its inhibition by Costa Rican plant extracts. *Revista de Biología Tropical*, *54*(2), 245. <https://doi.org/10.15517/rbt.v54i2.13865>
- Barahona, G. A. (1993). *Accidente ofídico: Estudio antropológico, clínico-epidemiológico, en el departamento de Chimaltenango, del 1 de enero de 1987 al 31 de diciembre de 1992*. Guatemala (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Barrantes, A., Solís, V., & Bolaños, R. (1985). Alteración de los mecanismos de la coagulación en el envenenamiento por *Bothrops asper* (Terciopelo). *Toxicon*, *23*(3), 399-407. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(85\)90024-8](https://doi.org/10.1016/0041-0101(85)90024-8)
- Bolaños, R. (1982). Las serpientes venenosas de Centroamérica y el problema del ofidismo. Primera parte. Aspectos zoológicos, epidemiológicos y biomédicos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, *3*(2), 165-184.
- Bouroncle, C., Imbach, P., Läderach, P., Rodríguez, B., Medellín, C., Fung, E., ... Donatti, C. I. (2015). La agricultura de Guatemala y el cambio climático: ¿Dónde están las prioridades para la adaptación? CGIAR Research Program on

- Climate Change. (Recuperado de <http://hdl.handle.net/10568/45942>)
- Bravo-Vega, C. A., Cordovez, J. M., Renjifo-Ibáñez, C., Santos-Vega, M., & Sasa, M. (2019). Estimating snakebite incidence from mathematical models: A test in Costa Rica. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(12), e0007914. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007914>
- Castellanos, E., & Rodas, L. (2017). Manejo de envenenamiento micrúrico. Reporte de 2 casos. *Revista del Colegio de Medicos y Cirujanos de Guatemala*, 156(2), 79-80.
- Chang J. E. (2017). *Inhibición in vitro del efecto hemolítico del veneno de la serpiente mano de piedra (Atropoides mexicanus) causado por alcaloides de Sansevieria trifasciata y Tradescantia spathacea (Tesis de licenciatura)*. Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala.
- Chávez, J. J. (2001). *Caracterización farmacopatológica del veneno de «mano de piedra», Atropoides nummifer (Ruppell, 1845, Squamata, Viperidae) y evaluación de la capacidad neutralizante de dos sueros anti-ofídicos polivalentes distribuidos en Guatemala (Tesis de licenciatura)*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Coe, F. G., & Anderson, G. J. (2005). Snakebite ethnopharmacopoeia of eastern Nicaragua. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 303-323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.026>
- da Silva Souza, A., de Almeida, J., Alcântara, J. A., Freire, M., Alecrim, M. das G. C., Lacerda, M., ... Monteiro, W. M. (2018). Snakebites as cause of deaths in the Western Brazilian Amazon: Why and who dies? Deaths from snakebites in the Amazon. *Toxicon*, 145, 15-24. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.02.041>
- Daltry, J. C., Wüster, W., & Thorpe, R. S. (1996). Diet and snake venom evolution. *Nature*, 379(6565), 537-540. <https://doi.org/10.1038/379537a0>
- Pardal, P. P., Pinheiro, A. C., Silva, C. T., Santos, P. R., & Gadelha, M. A. (2015). Hemorrhagic stroke in children caused by Bothrops marajoensis envenoming: a case report. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 21(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s40409-015-0052-5>
- Fatima, L-D., & Fatah, C. (2014). Pathophysiological and Pharmacological Effects of Snake Venom Components: Molecular Targets. *Journal of Clinical Toxicology*, 4(2). <https://doi.org/10.4172/2161-0495.1000190>
- Feitosa, E. L., Sampaio, V. S., Salinas, J. L., Queiroz, A. M., Da Silva, I. M., Gomes, A. A., ... Gutiérrez, J. M. (2015). Older age and time to medical assistance are associated with severity and mortality of snakebites in the Brazilian Amazon: A case-control study. *PLoS ONE*, 10(7), 1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132237>
- Furtado, M. F. D., Travaglia-Cardoso, S. R., & Rocha, M. M. T. (2006). Sexual dimorphism in venom of Bothrops jararaca (Serpentes: Viperidae). *Toxicon*, 48(4), 401-410. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.06.005>
- García, J. T. (1993). *Accidente ofídico: Estudio antropológico, clínico-epidemiológico, en el departamento de Izabal del 1 de enero de 1987 al 31 de diciembre de 1992 (Tesis de licenciatura)*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Giovannini, P., & Howes, M.-J. R. (2017). Medicinal plants used to treat snakebite in Central America: Review and assessment of scientific evidence. *Journal of Ethnopharmacology*, 199, 240-256. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.011>
- González, M. L. (1994). *Accidente ofídico: Estudio clínico, antropológico y epidemiológico realizado en la Región Sur del departamento de Huehuetenango. Iro. de enero de 1987 al 31 de diciembre de 1992, Guatemala (Tesis de licenciatura)*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Guerra-Centeno, D. (2015a). *Epidemiología social del accidente ofídico en Guatemala: Hacia la comprensión de una enfermedad desatendida (Tesis de doctorado)*. Universidad Panamericana, Guatemala.
- Guerra-Centeno, D. (2015b). Ética sobre el envenenamiento por serpiente en el agro paisaje de Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 2(1), 65-73.
- Guerra-Centeno, D. (2016). Perfil epidemiológico del accidente ofídico en las tierras bajas de Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 3(2), 127-138.

- Guerra-Centeno, D. (2018a). Fenomenología del accidente ofídico: El significado de los daños físicos para la víctima. *Revista Naturaleza, Sociedad y Ambiente*, 5, 1-10.
- Guerra-Centeno, D. (2018b). Morbilidad por accidente ofídico en Guatemala y su relación con la distribución geográfica de las especies de serpientes venenosas. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 19(3), 31834.
- Guerra-Centeno, D., Morán-Villatoro, D., Fuentes-Rousselin, H., Meoño-Sánchez, E., & Valdez-Sandoval, C. (2014). Herpetofaunal richness of Los Tarrales Natural Private Reserve, Atitlan Lake basin, Guatemala. *Anales de Biología*, (36), 23-31. <https://doi.org/10.6018/analesbio.36.5>
- Gutiérrez, J. M. (2009). Snakebite Envenomation in Central America. En S. P. Mackessy (Ed.), *Handbook of venoms and toxins of reptiles* (pp. 492-505). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Gutiérrez, J. M. (2014). Current challenges for confronting the public health problem of snakebite envenoming in Central America. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 20(1), 7. <https://doi.org/10.1186/1678-9199-20-7>
- Gutiérrez, J. M. (2019). Global availability of antivenoms: The relevance of public manufacturing laboratories. *Toxins*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/toxins11010005>
- Gutiérrez, J. M., Calvete, J. J., Habib, A. G., Harrison, R. A., Williams, D. J., & Warrell, D. A. (2017). Snakebite envenoming. *Nature Reviews. Disease Primers*, 3, 17063. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.63>
- Gutiérrez, J. M., & Sasa, M. (2002). Bites and envenomations by colubrid snakes in Mexico and Central America. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 21(1-2), 105-115. <https://doi.org/10.1081/TXR-120004743>
- Hui Wen, F., Monteiro, W. M., Moura da Silva, A. M., Tambourgi, D. V., Mendonça da Silva, I., Sampaio, V. S., ... Lacerda, M. (2015). Snakebites and scorpion stings in the Brazilian Amazon: Identifying research priorities for a largely neglected problem. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(5), 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003701>
- Instituto Nacional de Estadística. (2002). *Censos 2002: XI de población y VI de habitación*. Guatemala: Autor.
- Kasturiratne, A., Wickremasinghe, A. R., de Silva, N., Gunawardena, N. K., Pathmeswaran, A., Premaratna, R., ... de Silva, H. J. (2008). The global burden of snakebite: A literature analysis and modelling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLoS Medicine*, 5(11), 1591-1604. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050218>
- Letona, C. A. (2012). *Guía de animales ponzoñosos de Guatemala: Manejo del paciente intoxicado* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Lomonte, B. (2012). Revisión Venenos de serpiente: De la investigación al tratamiento. *Acta Médica Costarricense*, 54(2), 86-96.
- Longbottom, J., Shearer, F. M., Devine, M., Alcoba, G., Chappuis, F., Weiss, D. J., ... Pigott, D. M. (2018). Vulnerability to snakebite envenoming: a global mapping of hotspots. *The Lancet*, 392(10148), 673-684. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31224-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31224-8)
- López, M. A. (1993). *Accidente ofídico: Estudio antropológico, clínico-epidemiológico, en el departamento de Sacatepéquez, enero de 1987 al 31 de diciembre de 1992*. Guatemala (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Mackessy, S. P. (Ed.). (2009). *Section III: Reptile Venom Enzymes. Handbook of venoms and toxins of reptiles*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Maltez, J. C. (1994). *Accidente ofídico: Estudio retrospectivo, clínico, antropológico y epidemiológico, realizado en el departamento de Guatemala, Región Sur; del 1 de enero de 1987 al 31 de diciembre de 1992*, Guatemala (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Mazariegos, G. A. (1993). *Accidente ofídico: Estudio antropológico, clínico-epidemiológico en el Departamento de Petén Occidental, del 1 de enero de 1987 al 31 de diciembre de 1992*. Guatemala (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

- McCleary, R. J. R., & Kini, R. M. (2013). Snake bites and hemostasis/thrombosis. *Thrombosis Research*, 132(6), 642-646. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.09.031>
- Mendoza, M. V. (1993). *Accidente ofídico: Estudio retrospectivo, clínico, antropológico y epidemiológico, realizado en el Municipio de Amatitlán del 1 de enero 1987 al 31 de julio de 1993. Guatemala* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Menezes, M. C., Furtado, M. F., Travaglia-Cardoso, S. R., Camargo, A. C. M., & Serrano, S. M. T. (2006). Sex-based individual variation of snake venom proteome among eighteen *Bothrops jararaca* siblings. *Toxicon*, 47(3), 304-312. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.11.007>
- Ministerio da Saúde. (2001). *Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos* (2.^a ed.). Brasília: Autor.
- Ministerio da Saúde. (2014). *Guia de vigilância em saúde* (2.^a ed. Vol. 1). Brasília: Autor.
- Ministério da Saúde. (2019). *Guia de vigilância em saúde* (3.^a ed.). Brasília: Autor. Recuperado de http://bvsmms.saude.gov.br/bvsm/publicacoes/guia_vigilancia_saude_volume_unico_3ed.pdf
- Murallas, C. J. (1993). *Accidente ofídico: Estudio antropológico, clínico-epidemiológico, en el Departamento de El Progreso, enero de 1987 a diciembre de 1992. Guatemala* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Organización Panamericana de la Salud. (2009). *Manual para la identificación, prevención y tratamiento de mordeduras de serpientes venenosas en Centroamérica, Volumen I: Guatemala*. Guatemala: Autor.
- Overall, C. P. (1987). *Toxicidad de los venenos de Bothrops asper y Bothrops nummifer de Guatemala en ratón blanco* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Pérez-Gómez, A. S., Monteiro, W. M., João, G. A. P., Sousa, J. D. de B., Safe, I. P., Damian, M. M., ... Silva, I. M. da. (2019). Hemorrhagic stroke following viper bites and delayed antivenom administration: three case reports from the Western Brazilian Amazon. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 52, e20190115. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0115-2019>
- Ramos, J. R. (1994). *Cuadro clínico y hallazgos anatomopatológicos en accidente ofídico* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Rojas, E., Saravia, P., Angulo, Y., Arce, V., Lomonte, B., Chávez, J. J., ... Gutiérrez, J. M. (2001). Venom of the crotaline snake *Atropoides nummifer* (jumping viper) from Guatemala and Honduras: comparative toxicological characterization, isolation of a myotoxic phospholipase A2 homologue and neutralization by two antivenoms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 129, 151-162. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00198-3](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00198-3)
- Rojas, G., Gutiérrez, J. M., Gené, J. A., & Gómez, M. (1987). Neutralización de las actividades tóxicas y enzimáticas de cuatro venenos de serpientes de Guatemala y Honduras por el antiveneno polivalente producido en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 35(1), 59-67.
- Saravia-Otten, P., Hernandez, R., Gutiérrez, J. M., Mérida, M., & Cáceres, A. (2015). Evaluación de la capacidad neutralizante de extractos de plantas de uso popular en Guatemala como antidotos para el envenenamiento por la mordedura de *Bothrops asper*. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 2(1), 25-37.
- Saravia-Otten, P., Hernández, R., Marroquín, N., García, G., & Mérida, M. (2017). Inhibición de los efectos coagulante, fosfolipasa A 2 y proteolítico del veneno de *Bothrops asper* por plantas usadas tradicionalmente en Centroamérica. *Revista Ciencia, Tecnología y Salud*, 4(2), 203-216.
- Saravia, P., Rojas, E., Escalante, T., Arce, V., Chaves, E., Velásquez, R., ... Gutiérrez, J. M. (2001). The venom of *Bothrops asper* from Guatemala: Toxic activities and neutralization by antivenoms. *Toxicon*, 39(2-3), 401-405. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(00\)00122-77](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(00)00122-77)
- Silva de Oliveira, S., Campos Alves, E., dos Santos Santos, A., Freitas Nascimento, E., Tavares Pereira, J. P., Mendonça da Silva, I., ... Monteiro, W. M. (2019). Bothrops snakebites in the Amazon: Recovery from hemostatic disorders after Brazilian antivenom therapy. *Clinical*

- Toxicology*, 58(4), 1-9. <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1634273>
- Squaiella-Baptistão, C. C., Sant'Anna, O. A., Marcelino, J. R., & Tambourgi, D. V. (2018). The history of antivenoms development: Beyond Calmette and Vital Brazil. *Toxicon*, 150, 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.05.008>
- Uetz, P., Freed, P. & Hošek, J. (s. f.). The Reptile Database. Recuperado 26 de julio de 2019, de <http://reptile-database.reptarium.cz/search?search=guatemala+snakes&submit=Search>
- Valdés, A. M., Chuy, S., Lara, O., Torres, P., Escobedo, C., & Ibarra, G. (1994). Venenos y serpientes venenosas y ofidismo en Guatemala. *Revista*, 10(1), 16-19.
- Velásquez, A. E. (1993). *Accidente ofídico: Estudio antropológico, clínico, epidemiológico, en el departamento de Santa Rosa, del 1 de enero de 1987 al 31 de diciembre de 1992. Guatemala* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- World Health Organization. (2019). *Snakebite envenoming: A strategy for prevention and control*. Geneva: Autor.
- Yañez-Arenas, C., Townsend Peterson, A., Rodríguez-Medina, K., & Barve, N. (2016). Mapping current and future potential snakebite risk in the new world. *Climatic Change*, 134(4), 697-711. <https://doi.org/10.1007/s10584-015-1544-6>
- Yee-Seuret, S., Vargas-González, A., & Hernández-Torres, L. (2012). Mordeduras por serpientes venenosas en Guatemala. *Revista Electrónica de Portales Medicos.com*. Recuperado de <https://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/4946/1/Mordeduras-por-serpientes-venenosas-en-Guatemala.html>
- Zamuner, S. R., Zuliani, J. P., Fernandes, C. M., Gutiérrez, J. M., & Pereira Teixeira, C. D. F. (2005). Inflammation induced by Bothrops asper venom: Release of proinflammatory cytokines and eicosanoids, and role of adhesion molecules in leukocyte infiltration. *Toxicon*, 46(7), 806-813. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.08.011>

Frecuencia de anticuerpos IgG a seis agentes infecciosos en los estudiantes de la carrera de Química Biológica

Frequency of IgG antibodies to six infectious agents in students of the Biological Chemistry degree

Astrid L. Chanquin, Ana G. Hernández, Mynor G. Hernández, Osmar J. Gamboa,
Wendolin J. Samayoa, Lesly C. Suchini, Jorge L. De León, Karla J. Lange, Vivian L. Matta*

Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: vivian.matta@fulbrightmail.org

Recibido: 29 de agosto 2019 / Revisión: 16 de enero 2020 / Aceptado: 04 de marzo 2020

Resumen

Se determinó la frecuencia de anticuerpos IgG para *Toxoplasma gondii* y los virus de paperas, sarampión, rubéola, varicela y hepatitis B en 90 estudiantes de la carrera de Química Biológica de la Facultad de CCQQ y Farmacia. La mayor frecuencia se encontró para rubéola y sarampión, 98.9% para cada prueba y la menor frecuencia fue para *T. gondii* con 23.3%. No se encontró asociación significativa entre la positividad y el género, entre la positividad a paperas, sarampión, varicela y el haber sufrido la infección o haber estado en contacto con personas infectadas y entre la positividad a *T. gondii* y el consumir carne roja y/o comida callejera ($p > .05$). Únicamente en el caso de la hepatitis B se encontró una asociación significativa entre la positividad y la edad ($p = < .001$), el hecho de estar vacunado ($p < .001$) y el ser sexualmente activo ($p = .004$). Los porcentajes de vacunación en la población en estudio fue alta únicamente para hepatitis B (80%), mientras que para las otras infecciones fue 35.6% para rubéola y sarampión, 22.2% para varicela y 10% para paperas. Más de 82% de los estudiantes presentaron protección a los seis agentes estudiados y se recomienda realizar encuestas sero-epidemiológicas constantes, evaluar los programas de inmunización, identificar los grupos a riesgo y que las personas que no presenten anticuerpos se vacunen.

Palabras claves: Factores de riesgo, epidemiología, infección viral, toxoplasmosis, vacunación.

Abstract

The frequency of IgG antibodies for *Toxoplasma gondii* and the mumps, measles, rubella, varicella and hepatitis B viruses was determined in 90 students of the Biological Chemistry career of the Faculty of CCQQ and Pharmacy. The highest frequency was found for Rubella and Measles, 98.9% each, and the lowest frequency was for *T. gondii* with 23.3%. No significant difference was found between positivity and gender, between positivity to mumps, measles, chicken pox and having suffered infection or having been in contact with infected persons and between positivity to *T. gondii* and consuming red meat and / or street food ($p > .05$). Only in the case of Hepatitis B a significant difference between positivity and age ($p = .001$), the fact of being vaccinated ($p = .001$) and being sexually active ($p = .004$) was found. The percentage of vaccination in the study population was high only for Hepatitis B (80%), while for the other infections it was 35.6% for rubella and measles, 22.2% for varicella and 10% for mumps. More than 82% of the students presented protection to the six agents studied and it is recommended to carry out constant sero-epidemiological surveys, to evaluate the immunization programs, to identify the risk groups and that people who do not present antibodies get vaccinated.

Keywords: Risk factors, epidemiology, viral infection, toxoplasmosis, vaccination.



Introducción

Los estudiantes de la carrera de Química Biológica inician sus prácticas clínicas a partir del tercer año de la carrera, lo que implica estar en contacto con personas sanas, así como enfermas. Esto requiere que estén protegidos contra la mayor parte de las enfermedades infecto-contagiosas, entre ellas la rubéola, varicela, sarampión, paperas que tienen en común ser producidas por virus y ser exantemáticas. La adquisición de estas infecciones generalmente ocurre en niños y en forma natural induce la producción de inmunoglobulinas tipo G (IgG) y tipo M (IgM). En el pico virémico se elevan los niveles de IgM que va desapareciendo a las pocas semanas, mientras que las de tipo IgG se encuentran en post infección como anticuerpos de memoria. Por otro lado, pueden ser prevenidas a través del uso de la inmunoprofilaxis, la cual induce la producción de anticuerpos IgG protectores durante toda la vida.

Pese a ser enfermedades de la infancia, tienen consecuencias graves en adultos, como la rubéola y varicela que en mujeres gestantes puede originar la muerte en el feto o daños congénitos, o como las paperas que pueden causar orquitis en los varones que han llegado a la pubertad (Rodríguez-Balderrama et al., 2009).

Por otro lado, al estar en contacto con fluidos y materiales biológicos se hace necesario que estén protegidos contra la hepatitis B, ya que ésta se transmite principalmente por contacto sexual, exposición a sangre o fluidos corporales de una persona infectada (Hyams, 1995; Locarnini et al., 2015). La toxoplasmosis es una de las infecciones parasitarias más frecuentes en el mundo, considerada como zoonosis, es decir, se transmite de los animales al humano a través de diversas vías de contagio (Hernández-Cortazar et al., 2015). La principal vía de transmisión es la vía oral, debido al consumo y manipulación de carne contaminada, verduras y agua, entre otras.

Es por ello que se realizó este trabajo en estudiantes de tercero a quinto año de la carrera de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, con el objetivo de determinar la frecuencia de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* y los virus de paperas, sarampión, varicela, rubéola, hepatitis B, a fin de establecer si se encuentran protegidos contra las mismas. Esta frecuencia se comparó con el género, edad, el estar vacunado y algunos factores de riesgo específicos para cada infección. Esto tomando en cuenta que en 2017 la Federación Centroamericana y del Caribe de Salud Ocupacional (Fecasco), en la Guía de

Vacunación para los Trabajadores indican la recomendación de vacunación de personal de laboratorio clínico para hepatitis A y B, sarampión, paperas y rubéola.

Presentación del caso

Se realizó la detección de anticuerpos IgG contra seis agentes infecciosos; *T. gondii*, rubéola, varicela, paperas, sarampión y hepatitis B (anti-HBsAg) en 90 estudiantes de la carrera de Química Biológica, por un ensayo por inmuno absorción ligado a enzima (Elisa) Human® para cada agente con un rango de sensibilidad es 99.0-100% y de especificidad de 92.6-100%. Para determinar las absorbancias se utilizó el lector de placas de micro titulación Elisa (Awariness®), con una longitud de onda de 450 nm. La estimación cuantitativa de los niveles de anticuerpos IgG específicos se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

De los 90 estudiantes, 53 pertenecían a tercer año, 33 a cuarto y 4 estudiantes de quinto año de la carrera de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de ellos 28 fueron del género masculino (31.1%) y 62 del femenino (68.8%). El rango de edad fue de 19 a 31 años, evaluándose 10 estudiantes del rango de 19 a 20 años, 69 de 21 a 26 años y 20 de 27 a 31 años.

Los anticuerpos más frecuentes detectados fueron los específicos a rubéola y sarampión ambos con 98.9% (89/90), mientras que el menos frecuente fue a *T. gondii* con 23.3% (21/90) (Tabla 1).

Tabla 1
Frecuencia obtenida de anticuerpos IgG a los seis agentes infecciosos en la muestra de estudio (N = 90)

	Positivo		Negativo	
	N	%	N	%
Rubéola	89	98.9	1	1.1
Sarampión	89	98.9	1	1.1
Varicela	84	93.3	6	6.7
Paperas	75	83.3	15	16.7
Hepatitis B	74	82.2	16	17.8
Toxoplasma	21	23.3	69	76.7

Se encontró asociación significativa ($p < .001$) únicamente en los anticuerpos a la hepatitis B (Tabla 2).

Al analizar la frecuencia de anticuerpos obtenida a cada agente infeccioso con relación al género, no se encontró ninguna asociación significativa ($p > .05$), lo cual se presenta en la Tabla 3.

Otra de las variables evaluadas fue el estar vacunado, para ello se excluyó a la toxoplasmosis, encontrando una asociación significativa únicamente en el caso de la hepatitis B ($p > .001$) (Tabla 4). Se encontró que los porcentajes de vacunación fueron, 80% para hepatitis B, 35.6% para rubéola y sarampión, 22.2% para varicela y 10% para paperas.

Posteriormente se analizó la positividad obtenida de acuerdo al haber presentado la enfermedad o haber estado en contacto con alguna persona que presentaba la infección y no se encontró asociación alguna (Tabla 5). En el caso de la hepatitis B se asoció la positividad con el ser sexualmente activo, el 26.7% (24/90) de los estudiantes indicaron ser sexualmente activos, encontrando que estas dos variables presentan asociación significativa ($p = .004$).

En el caso específico de la toxoplasmosis se evaluó el consumo de carnes rojas y el comer en la calle, factores de riesgo importantes para la adquisición de la infección, sin embargo, no se encontró asociación significativa ($p > .05$).

Tabla 2

Distribución de la muestra del estudio según positividad y edad (N = 90)

	19 - 20		21 - 26		27 - 31		χ^2	valor p
	P*	N**	P	N	P	N		
Rubéola	10	0	62	1	17	0	0.4330	.805
Toxoplasma	2	8	11	52	7	10	1.0260	.600
Hepatitis B	8	2	52	11	2	15	31.9372	> .001
Paperas	8	2	52	11	15	2	0.4027	.818
Sarampión	10	0	62	1	17	0	0.4330	.805
Varicela	9	1	58	5	16	1	0.1562	.925

Nota. P* = Positivo, N** = Negativo.

Tabla 3

Distribución la positividad a los seis agentes infecciosos y el género

	Femenino		Masculino		χ^2	valor p
	P	N	P	N		
Rubéola	63	1	26	0	0.4110	.522
Toxoplasma	17	47	4	22	1.2914	.256
Hepatitis B	53	11	21	5	0.0528	.818
Paperas	53	11	22	4	0.0433	.835
Sarampión	64	0	25	1	2.4900	.115
Varicela	59	5	25	1	0.4675	.494

Nota. P* = Positivo, N** = Negativo

Tabla 4

Frecuencia de anticuerpos IgG a cinco agentes infecciosos y el estar vacunado (N = 90)

	Vacunación		No vacunación		No recuerda/refiere		χ^2	valor <i>p</i>
	P	N	P	N	P	N		
Rubéola	32	0	45	1	12	0	0.9670	.617
Hepatitis B	62	6	11	11			18.3950	> .001
Paperas	7	2	68	13			0.2222	.637
Sarampión	31	1	58	0			1.8300	.176
Varicela	17	3	49	2	18	1	2.9100	.233

Nota. P* = Positivo, N** = Negativo.

Tabla 5

Frecuencia de anticuerpos IgG específicos según algunas variables de interés (N = 90)

	Si		No		No refiere		χ^2	valor <i>p</i>
	P	N	P	N	P	N		
Presentó Enfermedad								
Rubéola	4	85	0	1			0.4700	.828
Paperas	10	65	0	15			2.2500	.134
Sarampión	6	83	0	1			0.7220	.788
Varicela	71	13	3	3			4.5662	.033
Estuvo en contacto								
Paperas	26	49	2	13			2.6544	.103
Sarampión	11	78	0	1			0.1410	.707
Varicela	71	13	0	1			5.2700	.022
Hepatitis B								
sexualmente activo	24	0	49	16	0	1	11.3000	.004

Discusión

Este trabajo se realizó con el fin de establecer el nivel de protección que tienen los estudiantes de la carrera de Química Biológica contra seis agentes infecciosos. Los resultados demostraron una protección mayor del 82% para los cinco virus evaluados (Tabla 1), lo cual se considera una protección alta.

El mayor porcentaje se obtuvo en rubéola y sarampión, ambos con 98.9%. Este porcentaje es bastante similar al reportado en el 2009 en mujeres embarazadas que acudieron a la consulta externa de la Maternidad Periférica de Amatitlán en el período 2008-2009 que fue 98.8%, estudio posterior a la campaña de vacunación realizada en el 2007 (Lorenzana, 2009). Otros estudios realizados reportan 95.5% en mujeres embarazadas que asisten a las Clínicas Familiares del Programa de Medicina Familiar de la USAC (Hausner, 2001), 82% en mujeres en edad reproductiva en el Hospital Distrital de Melchor de Mencos (Medina, 2002). Para el año 2006 el Programa Nacional de Inmunizaciones del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social señaló que la prevalencia de anticuerpos anti-rubéola en la población guatemalteca adulta era de 84.7%, el cual es ligeramente más bajo que el encontrado en este estudio. No existen datos recientes sobre el control de la enfermedad y puede haber casos no reportados principalmente en áreas rurales, en el 2010 se creó la Comisión Nacional para certificar al país libre de sarampión, rubéola y el síndrome de rubéola congénita (Organización Panamericana de la Salud [OPS] & Organización Mundial de la Salud [OMS], 2010). Es alentador el alto índice de protección que presentan los estudiantes de la muestra de estudio.

El último caso notificado de sarampión en población de Guatemala fue en el 1997 ya que en enero del 2018 hubo un reporte, pero correspondió a una persona que venía enferma desde Alemania. Según datos obtenidos en el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, la cobertura de vacunación desde el 2006 ha sido mayor del 88% para SPR (sarampión, paperas y rubéola), lo cual se evidencia en la frecuencia obtenida en este estudio para las tres infecciones, sin embargo, el porcentaje de estudiantes que indicó estar vacunado es muy bajo, lo cual es muy probable que se deba a que los estudiantes desconocían que vacunas han recibido.

La parotiditis es una enfermedad con distribución mundial endemo-epidémica. En las zonas templadas, el invierno y la primavera son las estaciones de mayor incidencia. En las zonas donde no hay vacunación sis-

temática, la enfermedad es endémica y pueden llegar a darse una tasa de hasta el 88%. En los últimos años los casos clínicos observados mundialmente se han vuelto infrecuentes tras la generalización de la triple vacunación contra el SPR. No se encontraron datos de la población guatemalteca, pero la frecuencia obtenida en este estudio (83%) es mayor a la reportada en un estudio realizado en el Hospital Universitario y Politécnico la Fe de Valencia, donde el 70.1% del personal facultativo del servicio de pediatría anticuerpos IgG contra el virus de paperas (Andani et al., 2014).

El único reservorio del virus de varicela zoster es el ser humano, y estadísticamente ocurren 3 millones de casos de varicela al año a nivel mundial (Peña-Rey et al., 2004). En este estudio el 93.3% de los estudiantes dio un resultado positivo para varicela. No se encontraron datos epidemiológicos generales de la población guatemalteca ya que la varicela en Guatemala no está sujeta a vigilancia epidemiológica, únicamente se encuentran datos circunscritos a ciertas dependencias o poblaciones específicas como datos aislados sin continuidad por lo que no es posible realizar ninguna comparación o análisis. Un estudio realizado entre enero de 2005 a junio de 2010 en niños que fueron atendidos en el servicio de Infectología del Hospital General del IGSS de la zona 9 reportó 122 casos de varicela complicada, siendo las complicaciones dermatológicas y neurológicas, lo que demuestra la necesidad de la vacunación (Mazariegos, 2012).

Lu (2014), reportó que en el período del 2002 al 2013, 333 pacientes fueron ingresados al Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación de Guatemala por complicaciones de varicela, reportando que del 2002 a 2005 ingresó el 47.44% de la población en estudio que presentaban complicaciones de varicela; en el período de 2006 a 2009 el 32.43% y entre los años 2010 a 2013 el 19.51%, lo que reflejó una disminución de los ingresos por complicaciones de varicela durante este período. En otros países la disminución en los casos de varicela puede deberse a la vacunación en contra del virus, sin embargo, en Guatemala la vacuna contra la varicela no se encuentra implementada en el esquema de inmunización. Por otro lado, en países desarrollados se realizan encuestas epidemiológicas frecuentes ya que se ha observado un incremento de casos de varicela zoster entre adolescentes y adultos, lo que podría deberse a un cambio en la edad de contacto con el virus (Miller, Vardien, & Farrington, 1993).

Un estudio realizado en México en el 2011 reveló una tasa de incidencia de infección por el virus de la varicela de 299.3 por cada 100,000 habitantes,

demostrándose además que la población infantil entre 1 a 4 años eran los más afectados por la infección (Rodríguez-Balderrama et al., 2009).

En este estudio el 82.2% de los estudiantes demostraron protección para la hepatitis B, lo cual es una consecuencia del requerimiento del personal docente hacia los estudiantes para su protección. Este porcentaje es ligeramente mayor que el encontrado en el 2004 en estudiantes de tercero a quinto año de la carrera de Odontología, en donde se reportó 65% de positividad (Franco, 2004), lo que demuestra que la vacunación en el personal de salud se le da importancia. Se ha demostrado que las personas vacunadas mantienen una memoria inmunológica de respuesta que persiste por más de 22 años y que es importante eliminar la transmisión ocupacional (Blumberg, 2013). Un estudio realizado en el 2015 demostró una cobertura del 48% en los trabajadores del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt de la ciudad de Antigua, el cual es mucho menor al encontrado en este estudio (Ramírez, 2015). Los datos demuestran que Centro América ha demostrado una disminución en la prevalencia entre 1990 y 2005 motivo por el cual ahora se sitúa en un nivel de baja endemicidad, lo cual se cree que es consecuencia de las medidas de prevención tomadas, entre ellas control en bancos de sangre, cambios de conducta sexuales y la vacunación (Ott, Stevens, Groeger, & Wiersma, 2012).

En el 2011, un estudio determinó los anticuerpos IgG contra *T. gondii* en mujeres en edad fértil de 15 a 45 años, obteniéndose una frecuencia del 50.43% (Estrada et al., 2012), la cual es mucho mayor a la de este estudio y permite inferir que la prevalencia es alta en Guatemala.

La concentración de anticuerpos obtenida para cada agente infeccioso, fue comparada con la edad de los estudiantes, encontrando una diferencia significativa únicamente para la hepatitis B ($p > .001$), lo cual puede deberse a los estudiantes de 4to año se le solicita que se apliquen la vacuna como requisito del curso de Inmunología, lo que puede explicar esta asociación.

No se encontró una diferencia significativa entre la frecuencia de positividad y el género de los estudiantes, lo cual coincide con lo reportado en la literatura (Gil et al., 1999; Ott et al., 2012; Rodríguez-Balderrama et al., 2009). Sin embargo, en un estudio realizado por Mazariegos (2012) encontró que el género masculino fue el que presentó más complicaciones post-varicela.

Al evaluar el estar vacunado con la positividad obtenida únicamente se encontró una diferencia significativa en el caso de la hepatitis B. Sin embargo, el número de estudiantes que indicaron haberse vacunado

contra las otras infecciones es muy bajo, probablemente se deba a que los estudiantes no recuerdan que vacunas les fueron aplicadas de niños y no solicitaron información al respecto a sus padres.

En el 2001 se introdujo la vacuna SRP al país como rutina, la mayoría de los estudiantes encuestados en esa fecha tenían entre 4-8 años de edad; lo que podría explicar su desconocimiento sobre la aplicación de la vacuna ya que fue administrada a corta edad o puede que no se les aplicara. Es importante recordar que estas tres infecciones se asocian a una inmunidad de por vida, por lo que es importante la inmunización con una amplia cobertura que impida la circulación del virus en la comunidad y el contacto con la población susceptible (OPS & OMS, 2016).

La introducción de la vacuna contra la varicela en el sistema de salud de los Estados Unidos alcanzó en el 2001 una efectividad total del 71% en la prevención de la infección por el virus de la varicela, de tal manera que de los vacunados sólo un 24% desarrolló varicela, la cual se presentó con un cuadro clínico más leve de lo habitual (menos de 50 lesiones, sin pródomos), pero siempre manteniendo la capacidad de transmitir la infección por medio de contactos (Peña-Rey et al., 2004). La vacuna contra la varicela está indicada para todos los pacientes susceptibles y especialmente a los trabajadores de los servicios de salud, personal que labora en guarderías y mujeres en edad fértil, entre los que se podría incluir a los estudiantes de este estudio (Marin et al., 2007). Por otro lado, es importante tener en cuenta que en otros países en los últimos 10 años la mortalidad debida a varicela en mayores de 14 años ha sido del 73% del total de la mortalidad, y que la tasa de complicaciones, hospitalización y mortalidad es mayor (Peña-Rey et al., 2004).

En el caso de las paperas, sarampión, rubéola y varicela se asociaron las variables de haber presentado la enfermedad o el haber estado en contacto con personas enfermas con la frecuencia de positividad obtenida, no obteniendo ninguna diferencia significativa lo que nos indica que estas dos variables no influyen en la adquisición de anticuerpos.

El 26.6% de los estudiantes indicó ser sexualmente activo, debido a que la hepatitis B puede ser transmitida por contacto sexual, se asoció la frecuencia obtenida con esta variable, encontrando que una diferencia significativa ($p = .004$).

La seroprevalencia de la toxoplasmosis está relacionada con las condiciones de vida, higiene y hábitos alimenticios, se sabe que puede ser adquirida por la

ingesta de frutas y hortalizas contaminadas. El consumo de carne cruda o mal cocinada es una fuente importante, se estima que el 72% de la carne de cordero, 28% de cerdo, 9% de equino y 4% de res que es comercializada contienen quistes tisulares viables de *T. gondii* (Grandía et al., 2013). En Guatemala, no se tiene información sobre este riesgo y se desconocen las normas higiénicas que siguen las personas que preparan esta comida, por lo que se evaluó el consumo de comida de la calle y el consumo de carnes rojas, encontrándose que no son estadísticamente significativo ($p = .998$ y $.753$, respectivamente), lo que indica que no hay una relación con la transmisión de *T. gondii*. Sin embargo, es muy importante que se lleve una vigilancia sanitaria de manera estricta en industrias alimentarias a nivel nacional, para asegurar un excelente control de calidad, que servirá de beneficio para todos los consumidores. Al realizar estas acciones se estará disminuyendo la probabilidad de infección por ingestión de quistes de *T. gondii* en carnes y embutidos, incluso también se debe educar a los estudiantes en cuanto.

En conclusión, más de 82% de los estudiantes presentan protección a los seis agentes estudiados, pero se recomienda realizar encuestas sero-epidemiológicas constantes, así como el estudio de los nuevos casos que permitan tener una actualización epidemiológica para así evaluar los programas de inmunización e identificar los grupos a riesgo. Por otro lado, se recomienda que todos aquellos estudiantes que no presentan anticuerpos se vacunen.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado por los estudiantes del curso de investigación I y II de la carrera de Química Biológica del 2017. Se les agradece a todos y a cada uno de ellos su valiosa participación.

Referencias

- Aguilar-Caballero, A., & Jiménez-Coello, M. (2015). Toxoplasmosis in Mexico: Epidemiological situation in humans and animals. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 57(2), 93-103. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000200001>
- Andani, J., Castañeda, P., Fuente, M. T., Giménez, M. J., Alcaraz, M. J., Gómez, F., ... Boitos, C. (2014). Seroprevalencia frente al sarampión, rubéola y parotiditis en personal facultativo del servicio de Pediatría del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia. *Revista Española de Salud Pública*, 88(5), 653-659.
- Blumberg, E. A. (2014). MMWR: CDC guidance for evaluating health-care personnel for hepatitis B virus protection and for administering postexposure management. *American Journal of Transplantation*, 14, 729-731. <https://doi/pdf/10.1111/ajt.12688>
- Estrada, A. M., Lemus, G. A., & Portillo, D. S. (2012). *Determinación serológica de anticuerpos IgG contra Toxoplasma gondii en mujeres de edad fértil de 15 -45 años que habitan en varias comunidades del departamento de Zacapa de Febrero a Julio del año 2011* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Franco, M. S. (2004). *Determinación de la inmunidad adquirida por la vacuna de la Hepatitis B en estudiantes de cuarto, quinto y sexto de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos, Ciclo académico 2003* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Odontología, Guatemala.
- Gil, A., Astasio, P., Ortega, P., Domínguez, V., & González, A. (1999). Seroprevalencia de anticuerpos frente a sarampión, rubéola, parotiditis y varicela en escolares madrileños. *Anales Españoles de Pediatría*, 50(5), 459-462
- Grandía, R., Entrena, Á., & Cruz, J. (2013). Toxoplasmosis en *Felis catus*: Etiología, Epidemiología y enfermedad. *Revista de Investigaciones Veterinaria del Perú*, 24(2), 131-149.
- Hausner, S. A. (2001). *Determinación de anticuerpos IgG contra Rubéola en pacientes embarazadas* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala.
- Hernandez-Cortazar, I., Acosta-Viana, K.Y., Ortega-Pacheco, A., Guzman-Marin, E.,
- Hyams, K. C. (1995). Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection: A review. *Clinical Infectious Diseases*, 20(4), 992-1000. <https://doi.org/10.1093/clinids/20.4.992>

- Locarnini, S., Hatzakis, A., Chen, D. S., & Lok, A. (2015). Strategies to control hepatitis B: Public policy, epidemiology, vaccine and drugs. *Journal of Hepatology*, 62(1), supplement S76-S86. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.01.018>
- Lorenzana, F. (2009). *Prevalencia de anticuerpos IgG anti-Rubéola en embarazadas que asisten a la maternidad periférica de Amatitlán* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Lu, F. A. (2014). *Caracterización de complicaciones por varicela en niños. Hospital Infantil de Infectología y Rehabilitación de Guatemala, agosto 2014* (Tesis de licenciatura). Universidad Rafael Landívar, Facultad de Ciencias de la Salud, Guatemala.
- Marin, M., Güris, D., Chaves, S. S., Schmid, S., Seward, J. F., & Advisory Committee on Immunization Practices, Centers for Disease Control and Prevention. (2007). Prevention of varicella: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Recommendations and Reports* 56(RR-4).
- Mazariegos, M. O. (2012). *Varicela complicada. Evolución intrahospitalaria en pediatría* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala.
- Medina, J. C. (2002). *Inmunidad contra el virus de la Rubéola en mujeres en edad productiva* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala.
- Miller, E., Vardien, J., & Farrington, P. (1993). Shift in age in chickenpox. *Lancet*, 341(8840), 308-309. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92663-E](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92663-E)
- Organización Panamericana de la Salud, & Organización Mundial de la Salud. (2010). Guatemala instituye Comisión Nacional para certificar eliminación de sarampión, rubéola y rubéola congénita. Recuperado de https://www.paho.org/gut/index.php?option=com_content&view=article&id=322:comision&Itemid=213
- Organización Panamericana de la Salud, & Organización Mundial de la Salud. (2016). Vacunas e inmunización. Datos, mapas y estadísticas de OPS/OMS. Recuperado de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=readall&cid=7342&Itemid=40927&lang=es
- Ott, J. J., Stevens, G. A., Groeger, J., & Wiersma, S. T. (2012). Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*, 30, 2212-2219. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.116>
- Peña-Rey, I., Pérez-Farinós, N., Cortés-García, M., & Amela-Heras, C. (2004). Coste-efectividad de la vacunación contra la varicela en adolescentes en España. *Gaceta Sanitaria*, 18(4), 287-294. [https://doi.org/10.1016/S0213-9111\(04\)72015-4](https://doi.org/10.1016/S0213-9111(04)72015-4)
- Ramírez, D. E. (2015). *Seroprevalencia de anticuerpos contra antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B en trabajadores del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina, Guatemala.
- Rodríguez-Balderrama, I., Ábrego-Moya, V., Cavazos-Elizondo, M. E., & Claudia, I. (2009). Varicela y el binomio madre-hijo. *Medicina Universitaria*, 11(43), 114-121.

Instrucciones para autores

Ciencia, Tecnología y Salud es la Revista de Investigación y Postgrado de la Universidad de San Carlos de Guatemala, orientada a divulgar los conocimientos de las áreas científicas, tecnológicas y de la salud humana y animal a la comunidad científica nacional e internacional. Constituye una publicación de carácter semestral no lucrativa en formato digital (Open Journal System-OJS) y en forma impresa, cuyos manuscritos, aceptados para publicación son sometidos a procesos de revisión y arbitraje por pares ciegos y externos, lo que garantiza al lector y autores un alto nivel y rigor académico.

Instrucciones generales (lea detenidamente todas las instrucciones para autor)

1. La Revista publica los siguientes tipos de manuscritos:
 - a. Artículos científicos
 - b. Artículos de revisión
 - c. Ensayos
 - d. Reseñas
 - e. Reporte de casos
 - f. Comunicaciones cortas
 - g. Conferencias de congresos científicos
 - h. Resúmenes de congreso
2. La revista presta consideración editorial a artículos originales inéditos en idioma español e inglés. Si el material a publicar ha sido presentado en forma parcial en algún Congreso Científico, indíquelo al final del resumen o en carta al editor.
3. Para enviar un manuscrito regístrate como autor en la plataforma OJS, (sección registrarse), los artículos incompletos que no cumplan las Instrucciones para Autores, serán devueltos sin evaluación.
4. Todos los trabajos deben presentarse en formato MS Word (versión 2007) o formato LaTeX (por medio de la plantilla que puede descargar en <https://github.com/hepfpeh/cts-DIGI>). Tamaño carta, letra Times New Roman 12 puntos, interlineado de 1.5, márgenes de 2.5 cm, a una columna, sin justificar, páginas numeradas y las citas y referencias de acuerdo al Manual de Publicaciones de la *American Psychological Association* (APA) 6a edición. El sistema de medidas utilizado debe ser el sistema métrico decimal y las palabras en otro idioma deben aparecer en cursiva, excepto las abreviaturas comunes en el idioma en que se escribe (et al., per se, a priori, etc.)
5. Todos los trabajos deben incluir una portadilla, donde se consigne el título corto (no mayor a 11 palabras), título en español e inglés, los nombres de los autores (nombre, apellido), su afiliación institucional (utilizar números arábigos en superíndice) y dirección electrónica para enviar correspondencia (se indicará al autor con un asterisco).
6. Los manuscritos que informen investigaciones con seres humanos o animales, deben incluir una sección de Aspectos

Éticos del trabajo, incluyendo la aprobación por un Comité de Ética cuando corresponda, el consentimiento informado en caso de estudios con seres humanos y los procedimientos utilizados para el manejo ético de animales de laboratorio.

7. Las tablas, figuras e imágenes, deben ser enviadas en archivos separados (archivos complementarios OJS) y en el formato original utilizado (Ej. .doc, .docx, .xls, .xlsx, .png, .jpg, TIFF). Las imágenes en colores, deben tener un mínimo de 300 dpi de resolución. Para el caso de mapas, se debe colocar los créditos, sistema de coordenadas y escala.

Instrucciones específicas:

Se recomienda a los autores revisar un número anterior de la revista para visualizar el contenido del artículo previo a su envío.

1. Artículo científico

Son artículos que informan sobre resultados de proyectos de investigación. La extensión máxima es de 20 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: Objetivos, metodología, resultados más relevantes y conclusión. No más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract (inglés): Objetivos, metodología, resultados más relevantes y conclusión. No más de 250 palabras, incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Métodos
- e. Resultados
- f. Discusión
- g. Agradecimientos (incluir fuente y número de financiamiento)
- h. Referencias (Normas APA)
- i. Tablas y Figuras (Normas APA)

2. Artículos de revisión

Los artículos de revisión presentan temas de importancia tratados por expertos y únicamente se aceptan por invitación del Consejo Editorial. La extensión máxima es de 20 páginas y deben incluir lo siguiente:



- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract (inglés): incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Contenido
- e. Conclusiones
- f. Referencias (mínimo 5 referencias)
- g. Tablas y Figuras (Normas APA)

3. Ensayos

Los ensayos son trabajos en que el autor aborda su interpretación de un tema relevante a la ciencia, la tecnología o la salud. Plantea argumentos y opiniones personales basados en literatura científica, concluyendo con una posición sobre el tema seleccionado. La extensión máxima es de 20 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract
- c. Introducción
- d. Contenido
- e. Conclusiones
- f. Referencias (Normas APA)

4. Reseñas

Las reseñas son revisiones y comentarios sobre nuevos libros (con ISBN), videos u otras obras. Su extensión máxima es de dos páginas y su formato es libre. Debe incluir la referencia bibliográfica completa, fotografía de la obra y dirección electrónica cuando aplique.

5. Reporte de casos

Estos artículos presentan en forma detallada y documentada casos especiales que merezcan la atención del ámbito de la revista. Pueden ser casos clínicos, tecnológicos o de otros campos de la ciencia. La extensión máxima es de 10 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract: incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Presentación del caso
- e. Discusión
- f. Referencias (Normas APA)
- g. Tablas y Figuras (Normas APA)

6. Comunicaciones cortas

Estos artículos presentan datos de interés sobre un estudio limitado o resultados preliminares de una investigación de impacto. Los artículos breves incluyen (pero no se limitan): desarrollo de nuevos materiales, experimentos y teoría de vanguardia, novedad en simulación y modela-

ción, elucidación de mecanismos químicos. La extensión máxima es de 10 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract: incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Métodos
- e. Resultados
- f. Discusión
- g. Agradecimientos
- h. Referencias

7. Conferencias de congresos científicos

Son conferencias presentadas en congresos o eventos científicos acordes a la temática de la revista. El Comité Organizador del congreso o evento científico hace una solicitud formal al Comité Editorial para la asignación editorial. Las conferencias son revisadas, editadas y seleccionadas por el Comité Organizador y no son evaluadas por pares. La extensión máxima es de 20 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Portadilla
- b. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- c. Abstract y keywords
- d. Introducción
- e. Contenido
- f. Referencias (Normas APA)

8. Resúmenes de congreso

Se publicarán ponencias orales o de poster de Congresos que así lo soliciten. Los trabajos incluyen:

- a. Título en español e inglés
- b. Nombre y afiliación de los autores
- c. Nombre del autor responsable al que se dirige la correspondencia
- d. Resumen: objetivo, metodología, resultados más relevantes y conclusión. Máximo 250 palabras, incluir 5 palabras clave.
- e. Abstract (resumen en inglés), incluir 5 keywords.
- f. Nombre del Congreso, lugar y fecha, y modo en que fue presentado (Oral o Póster)

Proceso de publicación

El proceso de publicación tiene tres etapas. La primera realizada por el Comité Editorial para revisar formato, redacción, estructura y estadística; con las observaciones se devuelve al autor para su corrección. La segunda etapa consiste en el envío a pares ciegos externos, en caso de opiniones contradictorias, se enviará a un tercer par. La última etapa consiste en la edición final (filología), diagramación y aceptación de prueba de imprenta. Los autores deberán contestar las demandas de corrección en cada etapa, en un máximo de 30 días, en caso contrario, el manuscrito se declarará rechazado y deberá comenzar el trámite de aceptación nuevamente.

Editorial

Artículos Científicos

Diversidad genética de materiales nativos de aguacate guatemalteco a través del marcador molecular AFLP

José A. Ruiz-Chután, Julio E. Berdúo-Sandoval, Marie Kalousová, Bohdan Lojka, Eloy Fernández, Jana Žiarovská, Amílcar Sánchez-Pérez

Evaluación anual del fitoplancton y su respuesta a la calidad de agua en el lago de Amatitlán, Guatemala

Evelyn Rodas-Pernillo, Camila A. Vasquez-Moscoso

Suplementación de vacas en lactación con *Crescentia alata* Kunth más urea

Edgardo A. Menéndez-López, Pablo H. Morales-Acevedo, Nery W. Galdámez-Cabrera, Mario R. Suchini-Ramírez

Antibiotic-Resistant Salmonella, isolated from cloacal swab samples from turtles in Guatemala

Dennis Guerra-Centeno, Joana Borrayo-Godínez, Carlos Valdez-Sandoval, Manuel Lepe-López, Federico Villatoro, Jacqueline Escobar, Mercedes Díaz-Rodríguez, Ligia Ríos

Detección de patógenos asociados a la enfermedad punta morada en los cultivos de papa y tomate en Guatemala

Julio E. Berdúo-Sandoval, José A. Ruiz-Chután, Luis Méndez, Luis Mejía, Douglas Maxwell, Amílcar Sánchez-Pérez

Identificación de marcadores moleculares (SNP) y genes candidatos asociados a la tolerancia genética al complejo mancha de asfalto en variedades nativas de maíz (*Zea mays L.*)

David O. González-Diéguéz, Carlos A. Orozco-Castillo

Artículo de Revisión

Biomarcadores suPAR y citocinas en la detección temprana de cáncer gástrico

Carmen I. Villagrán-Blanco

Envenenamientos por mordedura de serpiente en Guatemala: revisión de literatura

Irmgardt A. Wellmann, Dennis Guerra-Centeno

Los artículos científicos son indexados en:

latindex ROAD

DOAJ DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS

LILACS 

BASE

<http://digi.usac.edu.gt/ojsrevistas>