
Ciencia, Tecnología y Salud

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

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

Volumen 9

Número 2

julio / diciembre 2022

Artículos científicos

Artículos de revisión

Conferencia de congreso

Ensayos científicos

Resúmenes de congresos

Reporte de casos

Reseñas

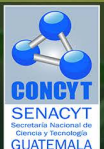


USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala



DC Dirección General
de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala

CG-sep
Coordinadora General
Sistema de Estudios de Postgrado



CONCYT
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.

Nombre: Dirección General de Investigación, editor | Rodas Morán, Andrea Eunice, editora ejecutiva
Título: Ciencia, Tecnología y Salud / Revista de Investigación y Postgrado; editor Dirección General de Investigación; editora ejecutiva Andrea Eunice Rodas Morán.
Descripción: Guatemala : Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Unidad de Publicaciones y Divulgación, 2022 | Volumen 9, número 2. (julio/diciembre 2022).
Identificadores: ISSN impreso 2410-6356 | ISSN electrónico 2409-3459
Temas: LEMB: Alimentación. | Agronomía. | Biología. | Conservación de los recursos naturales. | Física. | Industrias. | Matemática. | Medicina. | Medio ambiente natural. | Recursos naturales. | Salud pública. | Química.
Clasificación: CDD 500 C569
Disponible en <https://revistas.usac.edu.gt/index.php/cytes>

Universidad de San Carlos de Guatemala

Walter Ramiro Mazariegos Biolis

Rector

Lic. Luis Fernando Cordón Lucero

Secretario General

Dra. Alice Burgos Paniagua

Directora 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:

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

Teléfono: 2418 7950

Correo: cts@dig.usac.edu.gt



Fotografía de portada: Nicholas Helmuth (FLAAR).

Descripción de la fotografía de portada: *Neurolaena lobata* (Tres puntas).

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, 2022
Los textos publicados en este documento son responsabilidad exclusiva de sus autores.

Ciencia, Tecnología y Salud

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

Vol. 9 Num. 2 jul/dic 2022

Directorio / Board-Staff

Director de la revista

Alice Patricia Burgos-Paniagua

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Editor en jefe

Alice Patricia Burgos-Paniagua

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Editor Adjunto

Armando Cáceres

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Co-editora y Editora Ejecutiva

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

Erick J. Velásquez-Castillo

Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología, Guatemala

José A. Franco

Universidad del Norte de la Florida, Estados Unidos

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

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

Fernando García-Santamaría

Universidad de Costa Rica (UCR), Costa Rica

Eduardo López-Bastida

Centro de Estudios de Energía y Medio Ambiente, Cuba

Werner Ovalle

Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la
Caña, Guatemala

Freddy Araya

Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica

Carmen E. Madriz

Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica

Ciencia, Tecnología y Salud

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

Vol. 9 Num. 2 jul/dic 2022

Directorio / Board-Staff

Leonardo J. Mendoza-Blanco

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

Enrique Pazos

Escuela de Física y Matemáticas, Usac, Guatemala

Francisco Romero-Royo

Universidad Tecnológica Nacional, Costa Rica

Igor I. Slowing-Umaña

Iowa State University, United States of America

Liseth Perez

Technische Universität Braunschweig, Alemania

Rafael Fernandez-Botran

Associate Professor of Pathology & Laboratory Medicine,
Estados Unidos

Benjamin A. Rosales Rivera

Universidad Nacional de Ingeniería, Nicaragua

Rodrigo J. Gonzalez

Blavatnik Institute, Harvard Medical School,
Estados Unidos

Stewart Oakley

Civil Engineering Department, California State University,
Estados Unidos

Cecilio Alvarez Toledano

Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de
México, México

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. 9 Num. 2 jul/dic 2022

Contenido / Contents

Editorial / Editorial 131

Artículo Científico / Scientific Article

Comparación de series mensuales de precipitación y temperaturas de los Modelos CMIP6 para Guatemala

Monthly series comparison of precipitation and temperatures of the CMIP6 Models for Guatemala

Paris Rivera, Eduardo Herrera, Wener Ochoa 132

Comportamiento meteorológico durante la sequía de medio verano en Guatemala

Meteorological behavior during the mid-summer drought in Guatemala

Wener A. Ochoa-Orozco, Paris F. Rivera-Ramos, Eduardo Herrera 150

Identificación molecular y diversidad genética de las especies de nematodos *Globodera rostochiensis* y *G. pallida* en regiones productoras de papa de Guatemala

*Molecular identification and genetic diversity of the species of nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in potato growing regions of Guatemala*

José A. Ruiz-Chután, Julio E. Berdúo-Sandoval, Sergio Melgar, Marie Kalousová, Bohdan Lojka, Eloy Fernández, Jana Žiarovská, Amílcar Sánchez-Pérez 166

Evaluación de la resistencia a los antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en carne de cerdo comercializada en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala

*Evaluation of antibiotics resistance of *Escherichia coli* strains isolated in pork sold in municipal markets of Guatemala City*

Flor D. Porras, Kevin Flores, Jacqueline Escobar Muñoz 182

Producción de plásticos biodegradables a partir de bacterias de hábitats salinos aisladas de la Laguna de Ayarza

Production of biodegradable plastics from saline habitats bacteria isolated from Laguna de Ayarza

Ricardo Figueroa, Osberth Morales, Gustavo Álvarez, María Bran 189

Artículo de revisión / Review Article

Cristalogénesis biológica y cristalografía en la elucidación de la estructura tridimensional de las proteínas. Revisión narrativa

Protein tridimensional structure by biological crystallogenesis and crystallography. Narrative review

Omar Velásquez-González, Luis Amézquita-Morataya 199

Ciencia, Tecnología y Salud

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

Vol. 9 Num. 2 jul/dic 2022

Contenido / Contents

Neutralization of toxic activities of *Bothrops asper* snake venom by ethnomedicinal plants used in Central America, with emphasis in Guatemala: a review

Neutralización de actividades tóxicas del veneno de la serpiente Bothrops asper por plantas etnomedicinales utilizadas en Centroamérica, con énfasis en Guatemala: Revisión

Patricia Saravia-Otten, José M. Gutiérrez, Yann-Olivier Hay, Armando Cáceres..... 215

Ensayo Científico / Scientific Essay

Los manglares como ecosistemas prioritarios para aumentar la resiliencia ante el cambio climático: retos y oportunidades en el pacífico de Guatemala

The mangroves as priority ecosystems to increase the resilience to climate change: challenges and opportunities in the pacific of Guatemala

María A. Schoenbeck.....237

Instrucciones para autores

Instructions for authors..... 246

Ciencia, Tecnología y Salud

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

Vol. 9 Num. 2 jul/dic 2022

Editorial / Editorial

Materiales suplementarios en un artículo científico, retos para los autores

Dentro del proceso de generación de conocimiento, se produce una serie de información (e.g. datos, encuestas, nuevos métodos, fotografías) que permite complementar y fortalecer el conocimiento originado en una investigación. Este conocimiento que, posteriormente se traduce en transferencia y divulgación por medio de artículos científicos, también cuenta con otros materiales que, en conjunto con el artículo, se articulan para tener el panorama de la realidad estudiada. A partir del internet 2.0, los cambios de paradigmas en las diferentes áreas científicas, han transformado los procesos intrínsecos de cómo hacer y divulgar ciencia. Todo esto mejora y acelera los descubrimientos científicos, pero a la vez, produce nuevos estándares, interconectabilidad y retos para las comunidades científicas globales. Dentro de este contexto, los materiales suplementarios son una herramienta para la ciencia abierta, pero también brindan al autor-lector, investigador-investigador un espacio único de conexión para darle más información que la que contiene el artículo mismo, mayor transparencia y reproducibilidad del estudio. Aunque para las revistas científicas, los materiales suplementarios no es algo nuevo, y de hecho desde hace diez años se ha visto el aumento del uso de materiales suplementarios en revistas médicas (Schriger et al., 2011), para la revista *Ciencia, Tecnología y Salud* esto apenas empezó en el 2021, y se cuentan con unos pocos ejemplos de esto. Dentro de los retos, se debe fortalecer la política editorial para definir qué es y qué se permite colocar en esta sección. Muchas revistas sugieren que este espacio, aumente la transparencia y reproducibilidad de los artículos que son parte importante mas no crítica del artículo, en cuanto a instrumentos utilizados, datos crudos, código de los análisis, algoritmos, formulas, encuestas y pueden ser, además de otros tipos como fotografías o vídeos. Una

buena guía para materiales suplementarios puede ser la de la National Information Standards Organization (NISO) del 2013 para los autores y revistas. Aunque también se debe tomar en cuenta, que cada vez más se está normalizando esta sección y se ha observado problemáticas al respecto, en especial por la libertad que se le da a los autores para colocar información en esta sección, como lo señala Pop y Salzberg (2015), ya que es una información que no es revisada por pares, las referencias, no pueden ser registradas en los sistemas bibliométricos o es material difícil de entender para los lectores, en especial para los que no son de la comunidad científica. Los materiales suplementarios dan visibilidad y mayor transparencia al conocimiento que se publica, por lo que es una oportunidad para los autores de agregar información valiosa para los lectores y comunidad científica global.

Andrea E. Rodas-Moran
Editora ejecutiva

Referencias

- National Information Standards Organization. (2013). *Recommended Practices for Online Supplemental Journal Article Materials* (NISO RP-15-2013). National Information Standards Organization
- Pop, M., Salzberg, S. L. (2015). Use and mis-use of supplementary material in science publications. *BMC Bioinformatics* 16, 237. <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0668-z>
- Schriger, D. L., Chehrazi, A. C., Merchant, R. M., & Altman, D. G. (2011). Use of the internet by print medical journals in 2003 to 2009: a longitudinal observational study. *Annals of Emergency Medicine*, 57(2), 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2010.10.008>

Comparación de series mensuales de precipitación y temperaturas de los Modelos CMIP6 para Guatemala

Monthly series comparison of precipitation and temperatures of the CMIP6 Models for Guatemala

Paris Rivera ^{1*}, Eduardo Herrera², Wener Ochoa³

¹Instituto de Investigaciones de Ingeniería, Matemática y Ciencias Físicas, Universidad Mariano Gálvez de Guatemala

²Facultad de Instrumentación Electrónica, Universidad Veracruzana, México

³Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala

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

Recibido: 16 de octubre 2021 / Revisión: 19 de septiembre 2022 / Aceptado: 17 de octubre 2022

Resumen

Se comparan las métricas de 37 modelos climáticos globales (GCMs, por sus siglas en inglés) de la Fase 6 del Proyecto de Intercomparación de Modelos Acoplados (CMIP6) con el objetivo de simular el clima de Guatemala del periodo de 1971 al 2014. La temperatura y precipitación mensual fue comparada con los datos de observación de la Unidad De Investigación Climática de la Universidad del este de Anglia (CRU). Se generó un ranking de modelos basado en la menor distancia entre tres dimensiones basado en tres métricas; Coeficiente de Correlación de Pearson (CCP), Error medio cuadrático (RMSE) y Desviación estándar (DS). Este ordenamiento coincide con los mejores valores de eficiencia Nash-Sutcliffe (NSE) para temperatura y eficiencia Kling-Gupta (KGE) para la precipitación, demás se calculan las métricas; coeficiente de correlación de Spearman (CCS), errores de sesgo medio (MBE) y el absoluto medio (MAE). Para precipitación los primeros 5 modelos presentan valores KGE de entre 0.5 y 0.7, el CCP y CCS entre 0.7 a 0.8 comparados con CRU. Para temperatura los primeros 5 modelos presenta valores de NSE de entre 0.5 a 0.6, CCP y CCS de 0.8. Los modelos sobreestiman levemente la temperatura y subestiman la precipitación. Los modelos con mejor habilidad fueron CIESM para temperatura y el modelo IPSL-CM6A-LR para precipitación. Adicionalmente se compara el promedio de 66 estaciones locales con CRU, presentando un KGE de 0.51, CCP de 0.77 para precipitación y NSE de -0.17 y un CCP de 0.20 para temperatura. Finalmente, se presenta una tabla con los 10 primeros modelos para cada variable.

Palabras clave: Modelo climáticos, precipitación, temperatura

Abstract

Metrics from 37 global climate models (GCMs) from Phase 6 of the Coupled Model Intercomparison Project (CMIP6) with the purpose of simulating the climate of Guatemala from 1971 to 2014. Monthly temperature and precipitation were compared with data from observation of the Climatic Research Unit of the University of East Anglia (CRU). A ranking of models was generated based on the shortest distance between three dimensions based on three metrics; Pearson's Correlation Coefficient (PCC), Root Mean Square Error (RMSE), and Standard Deviation (SD). This ordering coincides with the best values of Nash-Sutcliffe efficiency (NSE) for temperature and Kling-Gupta efficiency (KGE) for precipitation; other metrics are calculated; Spearman's correlation coefficient (CCS), mean bias errors (MBE), and mean absolute error (MAE). For precipitation, the first 5 models present KGE values between 0.5 and 0.7, the CCP and CCS between 0.7 and 0.8 compared to CRU. For temperature, the first 5 models present NSE values between 0.5 to 0.6, CCP, and CCS of 0.8. The models slightly overestimate temperature and underestimate precipitation. The models with the best ability were CIESM for temperature and the IPSL-CM6A-LR model for precipitation. Additionally, the average of 66 local stations is compared with CRU, presenting a KGE of 0.51, CCP of 0.77 for precipitation, and NSE of -0.17, and a CCP of 0.20 for temperature. Finally, a table is presented with the first 10 models for each variable.

Keywords: Climatic model, precipitation, temperature



Introducción

Los modelos climáticos globales (GCMs, por sus siglas en inglés) son una representación numérica del sistema climático basada en las propiedades físicas, químicas y biológicas de sus componentes. Estos se utilizan como herramienta de investigación para estudiar y simular el clima y para fines operativos, en particular predicciones climáticas mensuales, estacionales e interanuales (Panel Intergubernamental del Cambio Climático [IPCC], 2014). Las simulaciones de los modelos no son exactas y tienen limitaciones al momento de simular el clima local (Lupo & Kininmonth, 2013), por lo que antes de utilizarlos es necesario evaluar su habilidad para reproducir el clima local, comparando con bases de datos globales o locales de preferencia.

La nueva generación de modelos climáticos de CMIP6 que pertenecen a la sexta fase del Proyecto de Inter-comparación de Modelos Climáticos del World Climate Research Program (WCRPs), permiten la obtención de diversos modelos para diferentes variables meteorológicas en una región específica, además muestra importantes mejorías para detectar el comportamiento climático del mundo, considerados ahora como modelos climáticos de alta sensibilidad. Al mismo tiempo, la respuesta climática transitoria permanece sin cambios y el calentamiento histórico simulado es compatible con las observaciones (Voldoire et al., 2019). Actualmente las distintas instituciones de investigación del clima ya presentan análisis realizados a partir de datos de CMIP6, enfocados en la evaluación de su habilidad, así como la generación de proyecciones de cambio climático. La nueva versión de CMIP (CMIP6) se ha comparado con sus predecesoras para distintas variables y en diversas regiones, encontrando en general que los modelos CMIP6 tienen menor diferencia con las observaciones en comparación con los modelos CMIP5 (Shu et al., 2020).

Las generaciones CMIP (CMIP3, CMIP5 y CMIP6) se han caracterizado su mejora continua, a tal grado que algunos modelos CMIP6 detectan patrones de forzantes climáticos como la Oscilación del Atlántico Norte, Modo Anual del Hemisferio Norte y el Modo Anual del Sur (NAO, NAM y SAM, por sus siglas en inglés) (Fasullo et al., 2020). Las precipitaciones simuladas para la antártica a nivel continental y regional, la mediana de los modelos ERA5, tienen una mejora insignificante de CMIP5 a CMIP6 y también una mejora de la temperatura cerca de la superficie (Roussel et al., 2020). Algunas comparaciones entre modelos globales para distintas variables climáticas

mencionan que en general, no hay una mejora significativa de CMIP5 sobre CMIP3 (Lee et al., 2013). En tal sentido los modelos acoplados (CMIP5) comparados con la generación anterior (CMIP3) encuentran diferencias con los datos de reanálisis, lo que indica una incertidumbre considerable con respecto a su simulación (Sillmann et al., 2013).

Los GCMs han sido utilizados para evaluar las extensiones de hielo marino del Ártico y la Antártida. La media multi-modelo CMIP6 puede reproducir adecuadamente los ciclos estacionales de ambas extensiones Ártica y Antártica. En comparación con los modelos CMIP5, los modelos CMIP6 tienen menor diferenciales entre modelos en valores medios y tendencias de dichas extensiones (Shu et al., 2020). Los GCMs también se utilizan para el análisis de eventos extremos climáticos tales como los detenidos por el Equipo de Expertos en índices de cambio climático (ETCCDI). Los resultados muestran que los modelos CMIP6 generalmente capturan los patrones globales y regionales observados de temperaturas extremas con mejoras limitadas en comparación con los modelos CMIP5 (Kim et al., 2020). Los modelos CMIP6 no solo se usan para simular precipitación y temperatura sino para estudios de forzantes climáticos como la Onda Circumpolar Antártica (ACW por sus siglas en inglés), en este caso la presión atmosférica fue analizada, encontrando que la capacidad de los modelos para simular la variación de la presión atmosférica del mar es mejor en los modelos del CMIP6 que los modelos CMIP5 (Lu et al., 2020).

En general los modelos CMIP5 simulan la precipitación con menor errores y menor dispersión que los modelos CMIP3 en los patrones de precipitación anual y estival (Gulizia & Camilloni, 2015). Sin embargo, en la parte oriental del sureste de América del Sur, un conjunto de modelos CMIP5 múltiples subestima el ciclo anual de precipitaciones y las sequías (Penalba & Rivera, 2016), pero capturan adecuadamente las variaciones de precipitación sobre la Pampa Occidental Argentina (Maenza et al., 2017). En África Oriental la media del conjunto de modelos CMIP6 en términos generales muestra un mejor rendimiento en la simulación del ciclo medio anual local de precipitación en comparación con los modelos CMIP5 (Ayugi et al., 2021), coincidiendo con Vinod y Agilan (2022), para el área de India.

Los datos CRU se utilizan para realizar las comparaciones de los GCMs en todo el mundo, en el caso de estudios para Sudamérica en la que se logró determinar el mejor grupo de modelos para esa región

(Lovino et al., 2018). Para esta región Palomino-Lemus y colaboradores (2015) también realizaron comparaciones con otros datos de reanálisis, como los de la National Centers for Environmental Prediction (NCEP por sus siglas en inglés). Evaluaciones de los modelos CMIP5 en el noreste de América del sur, encuentran que, todos los modelos reproducen adecuadamente los principales modos de variabilidad asociada con el Fenómeno del Niño y la Oscilación del Sur (ENOS) y con la del Atlántico tropical, sin embargo algunos modelos tienden a sobreestimar la varianza asociada con el primer modo (Palomino-Lemus et al., 2015). Pero es de hacer notar que los proyectos CMIP, mejoran continuamente, gracias a los adelantos tecnológicos y científicos, tal es el caso de un análisis en la región del Himalaya en donde se evaluaron los modelos globales y en general, los GCMs del CMIP5 fueron más hábiles en simular el ciclo anual de la variabilidad interanual en comparación con GCMs del CMIP3 (Meher et al., 2017). En general los modelos aún tienen dificultades para reproducir los patrones temporales, para Agyekumy y colaboradores (2022), la realización de promedios de conjunto de los modelos muestra mejores rendimientos en comparación con modelos individuales en la variable de temperatura principalmente.

Para Centroamérica el grupo multi-modelo CMIP5 tiene un rendimiento razonablemente bueno en la reproducción de la variabilidad observada, los modelos pueden reproducir la variabilidad observada en el Pacífico oriental y la mayoría de los modelos capturan la Sequía de Medio Verano sobre Centro-

américa (Sheffield et al., 2013). En el caso del grupo multi-modelos CMIP6, existen sesgos en las magnitudes de precipitación, pero en general capturan muy bien las características generales de la variación estacional en la región de Centroamérica (Almazroui et al., 2021). El ciclo anual de temperaturas observadas y simuladas por los modelos CMIP6 tienen una coherencia general, pero con un sesgo cálido de entre 0.4 a 0.5 °C para la región Centroamericana, respecto a CRU en el verano (JJA).

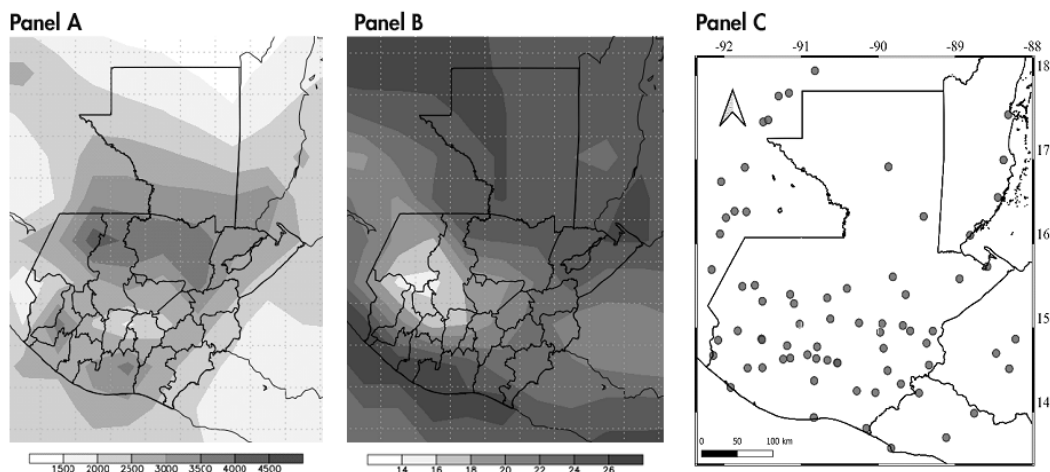
Este estudio compara las series mensuales de precipitación y temperatura de 37 GCMs del proyecto CMIP6 con la base de datos de la Unidad de Investigación Climática de la Universidad del este de Anglia de Inglaterra (CRU), por medio de varias métricas de dispersión aplicadas a los GCMs, para determinar los modelos con mejor rendimiento (Lovino et al., 2018; Palomino-Lemus et al., 2015). El objetivo es encontrar el grupo de modelos globales más adecuados para simular el clima de Guatemala para desarrollar futuras investigaciones.

Materiales y Métodos

La comparación que se realizó considera las series mensuales de precipitación y temperatura de un recorte espacial en el dominio: 13.5°N a 18°N y 88.1°W a 92.5°W, coordenadas que contienen dentro al territorio de Guatemala y parte de otros países centroamericanos (Figura 1).

Figura 1

Área de evaluación seleccionada (13.5°N a 18°N y 88°W a 92.5°W)



Nota. Panel A promedio anual de precipitación (mm) CRU TS 4.02; Panel B promedio de temperatura anual (°C) CRU TS 4.02 y Panel C Región con las estaciones locales.

Datos de modelos y de observación

Se utilizan las salidas de los modelos del periodo 1971-2014 de 37 GCMs (Tabla 1) integrados en la base de datos del proyecto CMIP6, que corresponden a las nuevas generaciones de los modelos utilizados en el AR6- IPCC de diferentes centros de investigación y modelación climática del mundo y la base de datos de referencia pertenece al grupo de datos de reanálisis del Climatic Research Unit (CRU), conjunto de datos climáticos con una cuadrícula de 0.5° de latitud por 0.5° de longitud en todos los dominios terrestres del mundo excepto la Antártida (Harris et al., 2020).

Los datos utilizados de CMIP6 corresponden a los experimentos *historical* según la codificación del

World Climatic Research Program (WCRP) las simulaciones utilizadas son las r1i1p1, donde *r* es el primer número de realización, *i* es el indicador del método de inicialización, y *p* el número de física perturbado. Más detalles se encuentran en Taylor y colaboradores (2012), la resolución espacial y temporal de entre 100 a 200 km² y mensual respectivamente. Entre estos se encuentran modelos acoplados océano-atmósfera (AOGCM por sus siglas en inglés), los modelos del sistema terrestre (ESM por sus siglas en inglés) y los modelos con procesos químicos atmosféricos (ChemAO y ChemESM por sus siglas en inglés). Además, se compara el promedio de 66 estaciones locales dentro de área de estudio, 43 de Guatemala, 12 de México y 4 de Belice, 4 de El Salvador y 3 de

Tabla 1

Modelos CMIP6 utilizados, nombres, instituciones, resolución y referencias

No.	Modelo CMIP6	Institución	Resolución espacial (km)	Referencia
1	ACCESS-CM2	Australian Community Climate and Earth-System Simulator	250	Dix et al. (2019)
2	AWI-CM-1-1-MR	Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research	100	Semmler et al. (2018)
3	BCC-CSM2-MR	Beijing Climate Center, Climate System Model	100	Wu et al. (2019)
4	BCC-ESM1	BBC, CMA. Beijing Climate Center Climate System Model.	250	Zhang et al. (2018)
5	CAMS-CSM1-0	China Meteorologic Administration	100	Rong et al. (2019)
6	CanESM5	Canadian Centre for Climate Modeling and Analysis	500	Swart et al. (2019)
7	CESM2	NSF-DOE-NCAR, National Science Foundation federally funded research and development center. National Center for Atmospheric Research.	100	Danabasoglu (2019)
8	CESM2-FV2	NSF-DOE-NCAR, National Science Foundation federally funded research and development center. National Center for Atmospheric Research.	250	Danabasoglu (2019)
9	CESM2-WACCM	NSF-DOE-NCAR, National Science Foundation federally funded research and development center. National Center for Atmospheric Research.	100	Danabasoglu (2019)
10	CESM2-WACCM-FV2	NSF-DOE-NCAR, National Science Foundation federally funded research and development center. National Center for Atmospheric Research.	250	Danabasoglu (2019)
11	CIESM	Department of Earth System Science, Tsinghua University	100	Huang (2019)
12	E3SM-1-0	Earth System Grid Federation	100	Bader et al. (2019)
13	E3SM-1-1	Department of Energy, Lawrence Livermore National Laboratory	100	Bader et al. (2019)
14	EC-Earth3	EC-Earth Consortium	100	(EC-Earth) (2019)
15	EC-Earth3-Veg	EC-Earth Consortium	100	(EC-Earth) (2019)

Tabla 1 (continuación)

No.	Modelo CMIP6	Institución	Resolución espacial (km)	Referencia
16	FGOALS-f3-L	LASG, Institute of Atmospheric Physics, Chinese Academy of Sciences	100	YU (2019)
17	FGOALS-g3	LASG, Institute of Atmospheric Physics, Chinese Academy of Sciences	250	Li (2019)
18	FIO-ESM-2-0	FIO-SOA First Institute of Oceanography State Oceanic Administration	100	Song et al. (2019)
19	GFDL-ESM4	NOOAA-GFDL, National Oceanic and Atmospheric Administration, Geophysical Fluid Dynamics Laboratory	100	Krasting et al. (2018)
20	GISS-E2-1-G	NASA-GISS. National Aeronautics and Space Administration. Goddard Institute for Space Studies	250	(NASA/GISS) (2018)
21	GISS-E2-1-G-CC	NASA-GISS. National Aeronautics and Space Administration. Goddard Institute for Space Studies.	250	(NASA/GISS) (2018)
22	GISS-E2-1-H	National Aeronautics and Space Administration. Goddard Institute for Space Studies.	250	(NASA/GISS) (2018)
23	INM-CM4-8	INM. Russian Institute for Numerical Mathematics Climate Model	100	Volodin et al. (2019)
24	INM-CM5-0	INM. Russian Institute for Numerical Mathematics Climate Model.	100	Volodin et al. (2019)
25	IPSL-CM6A-LR	Institut Pierre-Simon Laplace	250	Boucher et al, (2018)
26	KACE-1-0-G	National Institute of Meteorological Science	250	Byun et al. (2019)
27	MCM-UA-1-0	The University of Arizona	250	Stouffer (2019)
28	MIROC6	JAMSTEC. Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology.	250	Tatebe & Watanabe (2018)
29	MPI-ESM-1-2-HAM	MPI Max Planck Institute	250	Neubauner et al. (2019)
30	MPI-ESM1-2-HR	MPI Max Planck Institute	100	Jungclaus et al. (2019)
31	MPI-ESM1-2-LR	MPI Max Planck Institute	250	Wieners et al. (2019)
32	MRI-ESM2-0	Meteorological Research Institute	100	Yukimoto et al. (2019)
33	NESM3	Earth System Grid Federation	250	Cao & Wang (2019)
34	NorCPM1	EarthClim	250	Bentsen et al. (2019)
35	NorESM2-LM	NCC Norwegian Climate Centre	250	Seland et al. (2019)
36	NorESM2-MM	NCC Norwegian Climate Centre	100	Bentsen et al. (2019)
37	SAM0-UNICON	Global Climate Simulated by the Seoul National University Atmosphere Model Version 0 with a Unified Convection Scheme	100	Park & Shin (2019)

Honduras, este promedio está identificado en la tabla como “Región” (Figura 1C).

Los datos de referencia CRU están a una resolución de 0.5° y la resolución de las simulaciones de los modelos tiene resoluciones que van desde los 1 grados a 4 grados para la serie de 43 años, periodo 1971-2014.

Procesamiento de datos

Para los recortes de la región en estudio de los modelos globales se utilizó el software GRADS (Doty & Kinter, 1995), que además permitió realizar los promedios de las series del área en estudio para cada modelo global de las variables de precipitación y temperatura mensual. Para dichas series se calcularon las siguientes métricas; error de sesgo medio (MBE); indica si una simulación de los GCMs sobreestima o subestima los datos observados, error absoluto medio (MAE) y raíz del error cuadrático medio (RMSE); los cuales representan la magnitud del error entre la serie simulada y la observada, descripción de estas métricas se puede encontrar en Willmott & Matsuura, 2005, la eficiencia de Nash-Sutcliffe (NSE); que proporciona información sobre la habilidad predictiva de las series simuladas como se explica en Nash y Sutcliffe, 1970; este coeficiente varía entre $-\infty$ y 1, siendo 1 la puntuación perfecta de habilidad predictiva de la serie simulada, Moriasi y colaboradores (2007) sugirió que el rendimiento del modelo puede ser evaluado como “satisfactorio” si $NSE > 0.5$ y “muy bueno” si $NSE > 0.75$, la desviación estándar (DS); proporciona información sobre, que tan bien se ajustan los modelos a la variabilidad de los datos observados, el coeficiente de correlación Pearson (CCP) al igual que el coeficiente de correlación de Spearman (CCS); proporcionan información sobre, que tan bien se ajustan los modelos al comportamiento de los datos observados en relación lineal y monótona respectivamente, el error medio cuadrático (RMSE); proporciona información sobre, qué tan cercano están los datos simulados de los datos observados y finalmente el coeficiente de eficiencia Kling-Gupta (KGE), esta medida de bondad de ajuste contempla la correlación, sesgo y variabilidad (Gupta et al., 2009), en este caso valores superiores a 0.5 se consideran buenos (Rogelis et al., 2016). Todas estas métricas se presentan en tablas para su comparación en un ranking de modelos. Cada una de estas métricas proporcionan información sobre la variabilidad, sesgo y predictibilidad de cada modelo respecto a los datos de referencia observados.

El diagrama de Taylor fue utilizado para mostrar de forma cualitativa el rendimiento aproximado de las predicciones de los modelos, con respecto a los valores de referencia. La similitud entre dos parámetros se cuantifica en términos de su coeficiente de CCP, la raíz del error cuadrático medio centrado (CRMS) y la amplitud de sus variaciones, que es representada por su desviación estándar (DS) de los modelos. En el diagrama los modelos ubicados próximos al punto señalado como “CRU” u “Obs” = observado corresponden a los modelos que mejor acuerdan con la referencia (Taylor, 2001).

Para el análisis comparativo se realiza gráficos interanuales y de ciclo anual para visualizar el sesgo que tiene los modelos respecto a las series de referencia. Se utilizan diagramas de dispersión entre CRU y; el mejor modelo según las métricas evaluadas; el promedio de estaciones locales y el promedio del conjunto de los 37 modelos, cada diagrama contiene el coeficiente de determinación (R^2) en comparación con CRU y pendiente (m) en comparación con una m 1:1.

Para tener una medida cuantitativa de los que expresa el Diagrama de Taylor se utilizó la distancia mínima entre dos puntos en un sistema de coordenadas cartesianas tridimensional, en donde x , y y z serán representadas en el cálculo de las métricas; DS, CCP y CRMSE respectivamente. La distancia entre dos puntos cualesquiera $P1(x1, y1, z1)$ y $P2(x2, y2, z2)$ es:

$$d(p1, p2) = \sqrt{(x2 - x1)^2 + (y2 - y1)^2 + (z2 - z1)^2} \quad (1)$$

Esta medida generó el ranking de los modelos con menor distancia respecto a los datos de referencia, es decir la menor distancia entre dos puntos.

Resultados

Simulación histórica de precipitación mensual, 43 años (1971-2014)

El ranking de modelos se puede ver en la Tabla 2. En ella se muestran las métricas de los 37 modelos además del promedio de estaciones locales “Región”. En términos generales las simulaciones de los primeros 10 modelos reproducen muy bien la serie comparada con los datos CRU, los rangos de CCP y CCS oscilan entre 0.7 a 0.8. Las métricas RMSE y MAE son variables entre los modelos presentando se entre el rango

de 81 a 129 y de 61 a 98 respectivamente. La métrica MBE sugiere que la mayoría de los GCMs tienden a subestimar la precipitación (Lovino et al., 2018). En términos generales los errores estadísticos son altos y el NSE son relativamente bajas. Pero las mejores eficiencias están en los primeros 5 modelos los cuales varían de 0.4 a 0.6 en NSE y 0.6 a 0.7 en KGE.

Las series de tiempo de precipitación anuales de la serie de referencia CRU, (promedio de 62 estaciones), y modelos se presentan en la Figura 2, los GSMs en rango intermodelo (área gris).

El promedio de 37 modelos subestima la precipitación observada en un 48% en promedio, el modelo IPSL-CM6A-LR subestima en solo un 4% y el promedio de 71 estaciones locales subestima un 20%. Los porcentajes se estiman como,

$$\%prc = \left[\frac{S-O}{O} \right] * 100, \tag{2}$$

siendo S y O los valores promedio simulados y observados de las series de tiempo respectivamente.

Tabla 2

Métricas de comparación estadística entre las series temporales de precipitación mensual observada por CRU, simulaciones CMIP6 y promedio de estaciones locales “Región”, para el periodo (1971-2014). Ranking, Modelo, Distancia, KGE, NSE, CCP, CCS, RMSE, DS (mm/mes), MAE y MBE en (mm/mes)

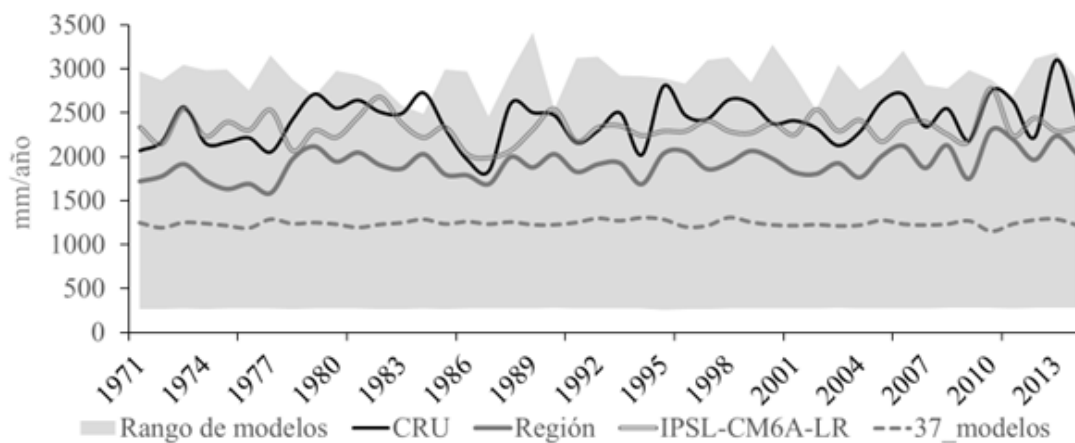
	Modelos CMIP6, CRU y Región	Distancia	KGE	NSE	CCP	CCS	RMSE	DS	MAE	MBE
	CRU	0.00	1	1	1	1	0	142.04	0	0
1	IPSL-CM6A-LR	83.58	0.77	0.67	0.82	0.80	81.26	122.45	61.19	-7.73
2	FGOALS-g3	97.57	0.72	0.53	0.82	0.81	97.39	148.03	73.75	41.58
3	MRI-ESM2-0	104.68	0.65	0.47	0.77	0.80	103.50	126.33	75.41	-47.98
4	NorESM2-MM	108.86	0.59	0.46	0.77	0.79	104.01	109.89	74.08	-51.99
5	CanESM5	110.33	0.68	0.40	0.75	0.81	110.16	148.07	78.96	-38.87
6	NESM3	117.80	0.56	0.33	0.76	0.80	116.40	123.94	88.09	-70.13
7	CESM2-WACCM	130.84	0.48	0.19	0.66	0.75	127.70	113.54	92.21	-68.26
8	MIROC6	137.08	0.41	0.16	0.71	0.73	129.79	97.95	98.51	-82.45
9	NorESM2-LM	138.27	0.41	0.13	0.73	0.75	132.20	101.53	98.01	-89.83
10	CESM2	143.64	0.38	0.07	0.65	0.73	137.17	99.42	101.25	-84.34
11	BCC-ESM1	144.92	0.48	-0.04	0.66	0.78	144.60	151.73	111.85	-79.50
12	SAM0-UNICON	145.62	0.33	0.14	0.67	0.68	131.24	78.93	94.03	-77.00
13	GFDL-ESM4	147.03	0.34	0.07	0.69	0.74	136.98	88.62	99.92	-89.97
14	KACE-1-0-G	148.94	0.34	0.01	0.69	0.77	140.95	93.90	106.30	-96.78
15	EC-Earth3	150.69	0.31	0.04	0.72	0.78	139.32	84.62	102.87	-96.76
16	EC-Earth3-Veg	150.92	0.32	0.01	0.67	0.77	140.99	88.20	102.91	-93.96
17	CIESM	156.15	0.28	-0.08	0.58	0.72	147.38	90.44	107.88	-91.09
18	MIROC-ES2L	157.51	0.26	-0.02	0.67	0.72	143.63	77.38	107.37	-96.18
19	GISS-E2-1-G	157.59	0.26	-0.04	0.61	0.67	144.61	79.42	105.51	-90.16
20	GISS-E2-1-G-CC	157.65	0.26	-0.06	0.57	0.63	146.42	83.58	107.17	-88.40
21	FIO-ESM-2-0	159.23	0.23	0.06	0.66	0.72	137.56	61.86	97.68	-81.07
22	MCM-UA-1-0	163.68	0.45	-0.27	0.53	0.59	160.10	176.11	114.42	-28.43

Tabla 2 (continuación)

	Modelos CMIP6, CRU y Región	Distancia	KGE	NSE	CCP	CCS	RMSE	DS	MAE	MBE
23	MPI-ESM1-2-LR	167.75	0.20	-0.13	0.75	0.77	151.16	69.31	116.36	-112.42
24	MPI-ESM1-2- HAM	177.18	0.15	-0.32	0.69	0.74	163.16	72.96	127.82	-123.93
25	CESM2-FV2	179.58	0.14	-0.42	0.54	0.59	169.32	82.21	128.24	-120.19
26	FGOALS-f3-L	185.05	0.07	-0.38	0.53	0.59	166.45	61.17	124.10	-114.07
27	E3SM-1-1	188.11	0.08	-0.49	0.56	0.62	173.35	69.00	132.37	-127.27
28	CAMS-CSM1-0	196.11	0.03	-0.44	0.74	0.77	170.38	44.94	130.42	-127.86
29	E3SM-1-0	196.40	0.03	-0.60	0.60	0.68	179.32	61.95	138.22	-136.56
30	BCC-CSM2-MR	196.60	0.01	-0.59	0.54	0.73	179.07	60.90	136.55	-132.16
31	GISS-E2-1-H	197.99	-0.01	-0.67	0.44	0.64	183.13	66.81	137.18	-131.51
32	CESM2-WACCM- FV2	199.18	0.00	-0.68	0.51	0.53	183.90	65.52	140.08	-137.51
33	INM-CM5-0	204.63	-0.14	-0.74	0.25	0.26	187.21	59.41	135.77	-124.66
34	NorCPM1	250.55	-0.34	-1.37	0.44	0.45	218.63	19.66	172.57	-172.46
35	INM-CM4-8	266.94	-0.44	-1.56	0.43	0.40	227.14	1.80	178.19	-177.95
36	MPI-ESM1-2-HR	267.12	-0.48	-1.56	0.35	0.33	227.15	1.49	178.06	-177.79
37	ACCESS-CM2	267.29	-0.52	-1.57	0.26	0.23	227.56	1.83	178.54	-178.26
	Región	115.52	0.51	0.47	0.77	0.80	103.43	90.60	74.11	-47.32

Figura 2

Serie anual de precipitación anual (mm/año) observada por CRU y simulada por los CIMIP6, modelo IPSL-CM6A-LR y Región



Se puede observar en la Figura 2 que el rango de 37 modelos (área gris) tiene una amplitud amplia y su promedio (línea gris discontinua) subestima los datos observados CRU, el promedio Región (línea gris oscuro) queda por debajo y el modelo IPSL-CM6A-LR (línea doble) es el que mejor se ajusta de todos los modelos. La serie de datos CRU y algunos modelos detecta los máximos de precipitación local que existieron en 1998 con el huracán Mitch y en 2010 con la Tormenta Agatha.

Los comparativos del ciclo anual de precipitación se puede observar la Figura 3, El rango de 37 modelos (área gris) tiene gran amplitud y su promedio subestima las observaciones CRU (línea negra) durante todo el año, los meses más cercanos son los meses de enero, febrero, marzo y diciembre, coincidiendo con parte de invierno austral. Algunos autores como Lovino y colaboradores (2018), Penalba y Rivera (2016) y Maenza colaboradores (2017), encontraron simulaciones adecuadas para los meses de menor precipitación y baja habilidad para los meses de mayor precipitación. El promedio de Región (línea gris oscuro) también subestima a CRU y el sesgo seco y la alta dispersión se reduce en gran medida por el modelo IPSL-CM6A-LR.

El modelo IPSL-CM6A-LR y CRU reproduce correctamente el ciclo medio anual de precipitación en la región del estudio con dos máximos de precipitación, característico de la región Centroamericana, además

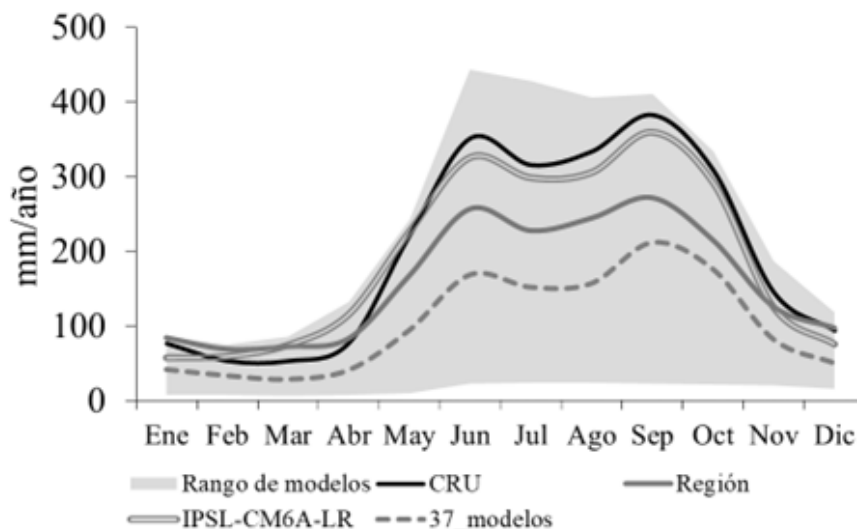
de la Sequía de Medio Verano (Canícula) la cual es adecuadamente simulada por los modelos en general.

Los gráficos de dispersión de precipitación mensual se pueden observar en la Figura 4, donde se compara la serie CRU en el eje X y en el eje Y el modelo IPSL-CM6A-LR (Figura 4A), Región (Figura 4B) y Promedio de 37 modelos (Figura 4C). Los círculos rellenos corresponden a los meses de poca precipitación mensual (Nov, Dic, Ene, Feb, Mar y Abr) en donde los modelos se ajustan bastante bien a las cantidades de lluvia, los meses de mayor precipitación en círculos sin relleno presentan una mayor dispersión en comparación con los meses de menor lluvia.

La regresión lineal del modelo IPSL-CM6A-LR presenta una pendiente (m) = 0.71 y un coeficiente de determinación (R^2) = .68 entendiendo que la mejor pendiente 1:1 y sería de valor de 1 y el mejor R^2 sería un valor de 1, el promedio de Región presenta una m = .49 y un R^2 = .60 y el promedio de 37 modelos obtiene m = .39 y R^2 = .74. En general, los modelos tienden a subestimar la precipitación media en los meses de lluvia y sobreestimar en meses con bajas precipitaciones, es decir subestimar las precipitaciones superiores a 400 mm y sobreestimar las precipitaciones por debajo de 20 mm. La dispersión de datos es menor para las precipitaciones bajas y aumenta para valores altos. Estos resultados sugieren que, si bien los GCM individuales son capaces de reconocer la variabilidad

Figura 3

Ciclo anual (mm/mes) de la precipitación observada por CRU y simulada por los CIMIP6, Modelo IPSL-CM6A-LR y Región



temporal de la serie, presentan dificultades para simular las cantidades de la lluvia mensual.

La gráfica de dispersión del conjunto de 37 modelos (Figura 4C) muestra bandas muy dispersas y un sesgo seco durante todo el año. Además, valores mensuales de baja precipitación (menores de 20 mm de lluvia) no son simulados por el ensemble. El modelo IPSL-CM6A-LR (Figura 4A) tiene un comportamiento similar a los datos observados CRU, pero subestima los meses de lluvia. En general, los modelos tienen bastante dispersión en los valores más altos de precipitación y menor dispersión en los valores bajos de precipitación. Estos resultados sugieren que, si bien los GCM individuales son capaces de reconocer la variabilidad temporal de la serie, presentan dificultades para simular las cantidades de la lluvia mensual. La Figura 4B muestra la dispersión entre los datos de Región y CRU, mostrando una menor dispersión los datos, pero con una subestimación en los valores de precipitación altos.

La Figura 5 muestra el rendimiento de los modelos en el Diagrama de Taylor. Los diagramas de Taylor resumen el grado de correspondencia entre los campos observados y simulados en términos de la relación de sus variaciones (Taylor, 2001). El grupo de los mejores modelos son los que más se acercan al origen CRU. Los valores de desviación estándar individuales indican valores similares entre trenes los modelos, pero el modelo IPSL-CM6-LR (punto gris con número 1)

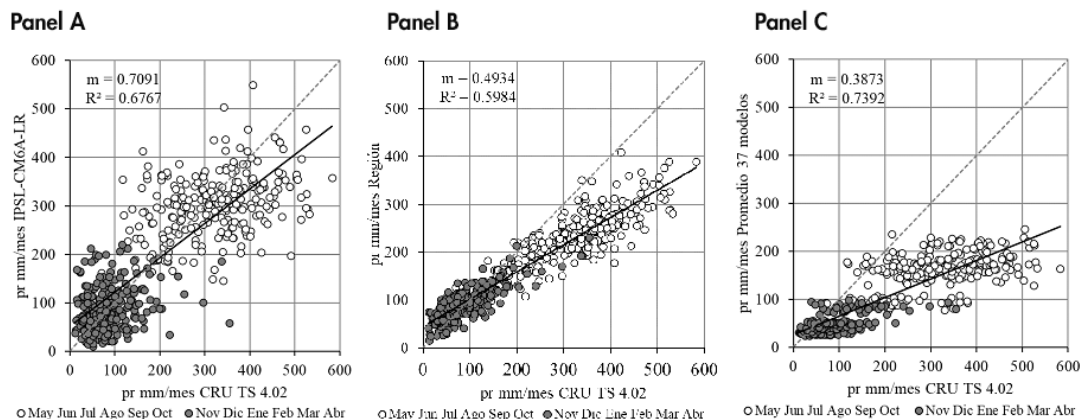
se acercan más a CRU (punto negro), además de cuentan con correlaciones superiores a .65. Los números corresponden al ranquin de la Tabla 2. El punto con número 1 corresponden al modelo IPSL-CM6A-LR y R corresponde a Región.

Simulación histórica de temperatura mensual, 43 años (1971-2014)

Las métricas de evaluación de los modelos CMIP6 de las simulaciones históricas del periodo 1971 a 2014 se muestran en el ranquin de la Tabla 3, en general todos los modelos indican que la temperatura media de la región seleccionada está bien simulada. Los modelos tienen correlaciones en un promedio de 0.8 y errores relativamente altos con un promedio de RMSE 1.4 °C, los valores de los errores MAE están en un promedio de 1.2 °C. El RMSE de los primeros 10 modelos está en un rango de 0.8 a 1 °C y un MAE de entre 0.6 a 0.8, los valores negativos de MBE muestran que los modelos son más bajos que los observado por CRU. Los modelos en general presentan una eficiencia NSE aceptables, las cuales son satisfactorias según lo recomendado por Moriasi y colaboradores (2007). Los 10 primeros modelos lograron las mejores métricas de evaluación, pero no en gran medida. El modelo CIESM presenta las mejores métricas con CCP y CCS de 0.85,

Figura 4

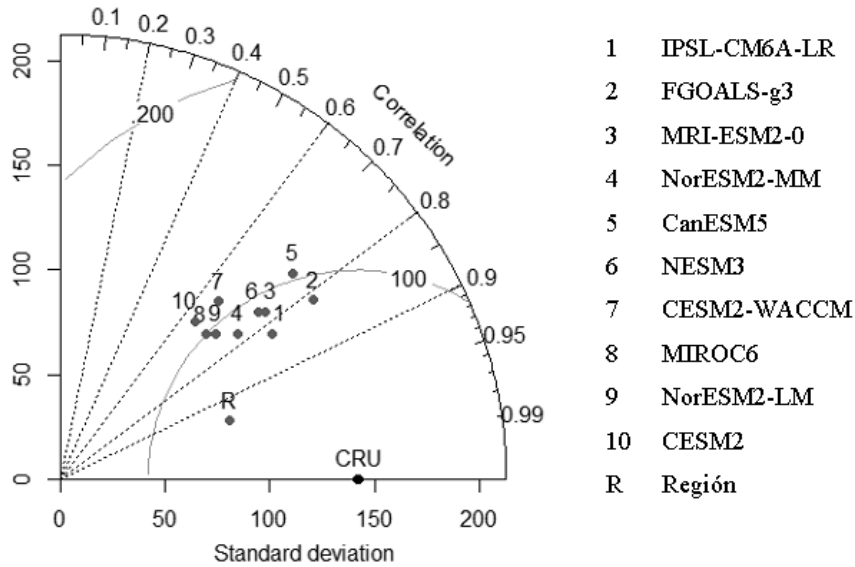
Gráficos de dispersión de precipitación mensual simulada versus observada



Nota. Panel A modelo IPSL-CM6A-LR; Panel B Región y Panel C Promedio de 37. La línea de regresión lineal se traza y su pendiente “m” se presenta juntas con el coeficiente de determinación R^2 en la esquina superior izquierda.

Figura 5

Gráficos de dispersión de precipitación mensual simulada versus observada



Nota. El punto negro corresponde a CRU, los puntos grises son los 10 mejores modelos, la numeración corresponde al ordenamiento de la Tabla 2. La curva centrada en CRU corresponde a CRMS: raíz de error medio cuadrático centrado y “R” al promedio Región de 66 estaciones locales.

NSE 0.65, RMSE 1.38 °C, MBE -0.03 °C y MAE 1.15 °C. En el caso de los datos de Región se puede mencionar que su correlación con los datos CRU es bajo.

La Figura 6 presenta la serie temporal de temperatura media anual para el modelo con mejores métricas CIESM (línea gris clara), CRU (línea negra), el promedio Región (línea gris oscura) y los modelos CMIP6 en rango de modelos (área gris) y su promedio en línea gris discontinua. El rango de los 37 modelos (área gris) presenta una gran amplitud y su promedio se ajusta la tendencia de a CRU. El promedio de Región queda por debajo de CRU y el mejor modelo CIESM se asemeja bastante a los datos de CRU (KGE = 0.77, NSE = 0.65 y CCP = 0.87). Todos los modelos presentan una tendencia muy similar a los datos CRU.

La climatología observada por CRU (línea negra) y los simulados por modelos, se puede ver en la Figura 7 donde se presenta el ciclo anual de temperatura. El promedio de 37 modelos (área gris) presenta una amplia amplitud y su promedio (línea discontinua) y

el modelo CIEM (línea gris clara) se ajustan muy bien a CRU. El promedio de Región (línea gris oscuro) queda por debajo de CRU en los meses de enero a agosto y se ajusta bien solamente en los meses fríos de septiembre a diciembre. El promedio de modelos reproduce bien en los meses de octubre, noviembre y diciembre, correspondiente a la transición de otoño a invierno boreal. Estos resultados sugieren que no todos los modelos logran simular correctamente el ciclo anual medio de temperatura observada.

Los gráficos de dispersión de la temperatura simulada por los modelos y CRU se presentan en Figura 8 para el modelo CIESM, Figura 8A para el promedio de Región, Figura 8B y para el promedio de los 37 modelos en la Figura 8C. La lineal línea de regresión de modelo CIESM presenta un $R^2 = .75$ y $m = 1.04$, Región con $R^2 = .5$ y $m = .5$ y el promedio de 37 modelos presenta un buen ajuste con $R^2 = .87$ y $m = 1$. La dispersión de los datos es similar en los meses fríos que en los meses cálidos.

Tabla 3

Métricas de comparación estadística entre las series temporales de temperatura mensual observada por CRU, simulaciones CMIP6 y promedio de estaciones locales "Región", para el periodo (1971-2014). Ranking, Modelo, Distancia, KGE, NSE, CCP, CCS, RMSE, DS (°C/mes), MAE y MBE en (°C/mes)

Modelos CMIP6, CRU y Región	Distancia	KGE	NSE	CCP	CCS	RMSE	DS	MAE	MBE
CRU	0.00	1	1	1	1	0	1.41	0	0
1 CIESM	0.88	0.77	0.65	0.87	0.87	0.83	1.68	0.65	-0.03
2 CESM2-WACCM	0.90	0.82	0.61	0.83	0.81	0.88	1.49	0.72	0.25
3 MRI-ESM2-0	0.93	0.78	0.61	0.86	0.86	0.88	1.66	0.68	-0.25
4 CanESM5	1.01	0.81	0.52	0.85	0.86	0.98	1.57	0.76	0.50
5 FGOALS-g3	1.02	0.76	0.52	0.83	0.83	0.98	1.65	0.72	-0.36
6 MPI-ESM1-2-HR	1.04	0.73	0.51	0.81	0.81	0.99	1.69	0.81	-0.13
7 NorCPM1	1.05	0.79	0.48	0.87	0.85	1.02	1.65	0.84	0.62
8 CESM2	1.07	0.81	0.45	0.83	0.82	1.05	1.54	0.87	0.59
9 E3ESM-1-0	1.08	0.69	0.51	0.84	0.82	0.99	1.79	0.78	0.14
10 NorESM2-MM	1.08	0.81	0.43	0.82	0.78	1.06	1.49	0.85	-0.60
11 FIO-ESM-2-0	1.10	0.75	0.44	0.84	0.83	1.06	1.68	0.81	-0.55
12 FGOALS-f3-L	1.11	0.79	0.41	0.84	0.81	1.08	1.60	0.84	-0.65
13 MPI-ESM1-2-LR	1.12	0.71	0.43	0.77	0.77	1.07	1.66	0.84	-0.04
14 GISS-E2-1-G	1.16	0.64	0.45	0.83	0.81	1.05	1.86	0.84	-0.09
15 EC-Earth3	1.18	0.69	0.38	0.82	0.83	1.12	1.76	0.89	-0.47
16 EC-Earth3-Veg	1.19	0.67	0.39	0.83	0.83	1.10	1.82	0.90	-0.42
17 IPSL-CM6A-LR	1.20	0.69	0.35	0.79	0.79	1.14	1.09	0.96	-0.75
18 AWI-CM-1-1-MR	1.21	0.70	0.31	0.73	0.72	1.17	1.59	0.95	0.37
19 MPI-ESM1-2-HAM	1.22	0.67	0.31	0.67	0.64	1.17	1.34	0.93	-0.36
20 E3Sm-1-1	1.22	0.62	0.38	0.85	0.83	1.11	1.90	0.91	0.46
21 GISS-E2-1-G-CC	1.25	0.56	0.40	0.85	0.83	1.09	2.00	0.88	-0.07
22 BCC-CSM2-MR	1.29	0.68	0.25	0.84	0.83	1.22	1.80	1.03	0.73
23 SAM0-UNICON	1.37	0.67	0.15	0.81	0.77	1.30	1.80	1.02	-0.76
24 NorESM2-LM	1.40	0.74	0.06	0.82	0.81	1.37	1.67	1.15	0.97
25 ACCESS-CM2	1.48	0.68	0.00	0.87	0.85	1.41	1.83	1.16	-1.07
26 KACE-1-0-G	1.58	0.76	-0.21	0.81	0.81	1.56	1.62	1.31	1.24
27 GFDL-ESM4	1.58	0.54	-0.05	0.89	0.88	1.45	2.04	1.16	-1.02
28 CESM2-FV2	1.63	0.65	-0.23	0.77	0.76	1.57	1.79	1.34	1.08
29 CAMS-CSM1-0	1.66	0.71	-0.31	0.86	0.83	1.62	1.77	1.37	-1.35
30 NESM3	1.71	0.64	-0.35	0.86	0.87	1.64	1.87	1.45	-1.32
31 MCM-UA-1-0	1.73	0.68	-0.42	0.82	0.80	1.68	1.79	1.42	1.34
32 INM-CM4-8	2.15	0.26	-0.80	0.83	0.81	1.89	2.43	1.45	1.17

Tabla 3 (continuación)

	Modelos CMIP6, CRU y Región	Distancia	KGE	NSE	CCP	CCS	RMSE	DS	MAE	MBE
33	INM-CM5-0	2.27	0.24	-1.03	0.82	0.80	2.01	2.46	1.59	1.31
34	BCC-ESM1	2.32	0.83	-1.68	0.85	0.86	2.31	1.42	2.18	2.18
35	CESM2-WACCM-FV2	2.33	0.61	-1.60	0.83	0.81	2.28	1.90	2.04	2.00
36	MIROC6	2.44	0.47	-1.79	0.60	0.61	2.36	1.89	1.91	1.79
37	GISS-E2-1-H	3.50	0.75	-5.12	0.80	0.80	3.49	1.53	3.37	3.37
	Región	1.88	0.04	-0.17	0.20	0.20	1.53	0.67	1.33	-0.53

Figura 6

Serie anual de temperatura anual (°C/año) observada por CRU y simulada por los CIMIP6, modelo CIESM y Región

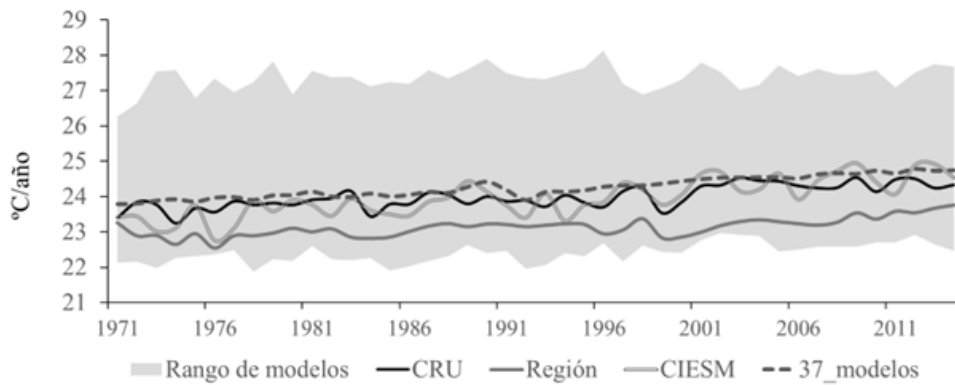
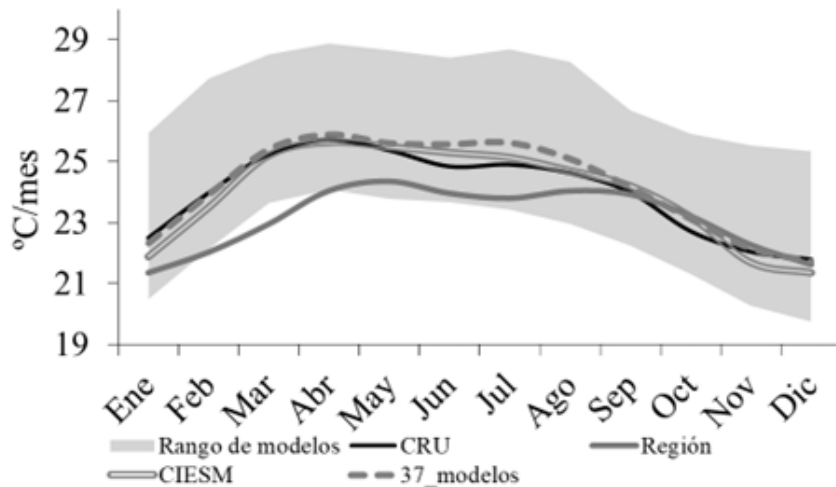


Figura 7

Serie anual de temperatura anual (°C/año) observada por CRU y simulada por los CIMIP6, modelo CIESM y Región



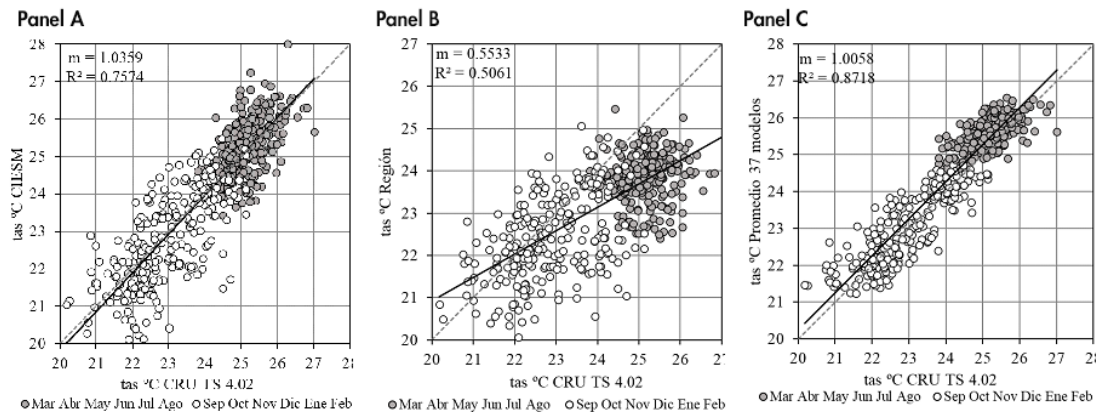
La Figura 9 muestra el diagrama Taylor de temperatura de la región seleccionada para los 10 mejores modelos y el promedio de Región (Datos de 66 estaciones locales). El punto negro de referencia CRU muestra que las observaciones tienen una desviación estándar de 1.4 °C. En general el diagrama muestra que los modelos representan correctamente la desviación estándar de referencia. Los modelos se presentan en el orden del ranking de la Tabla 3. Los coeficientes de correlación son superiores a 0.8. Además, los 5 modelos presentan correlaciones similares, sus desviaciones es-

tándar están entre los 1.06 a 1.85 y RMSE menores a 1. En términos generales, la gráfica de Taylor es consistente con el ordenamiento del ranking de modelos en base a la distancia de las métricas DS, C.C. Pearson y RMSE.

El punto negro corresponde a CRU, los puntos grises son los 10 mejores modelos, la numeración corresponde al ordenamiento de la Tabla 2. La curva centrada en CRU corresponde a CRMS: raíz de error medio cuadrático centrado y R al promedio Región de 66 estaciones locales.

Figura 8

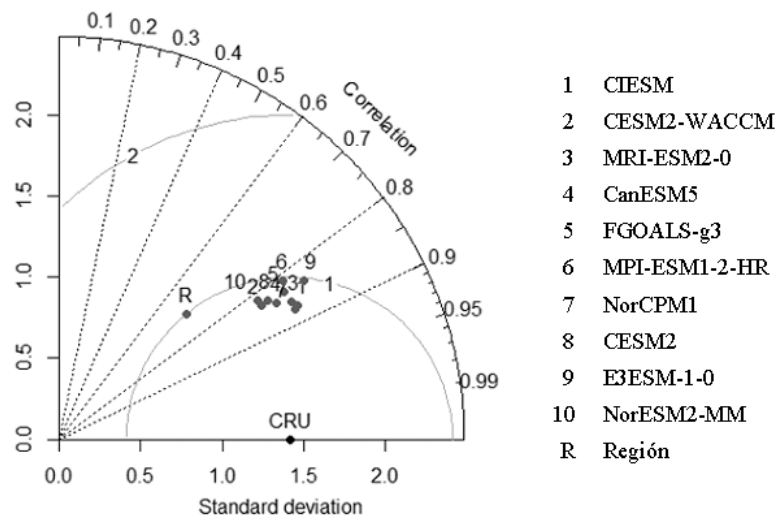
Serie anual de temperatura anual (°C/año) observada por CRU y simulada por los CIMIP6, modelo CIESM y Región



Nota. Panel A modelo CIESM; Panel B Región y Panel C Promedio de 37 modelos. La línea de regresión lineal se traza y su pendiente “m” se presenta juntas con el coeficiente de determinación R² en la esquina superior izquierda.

Figura 9

Diagrama de Taylor de las simulaciones de temperatura (periodo 1971-2014)



Los modelos que replican adecuadamente ambas variables del periodo comparado se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4

Ranking final de GCMs considerando su habilidad para reproducir temperatura y precipitación mensual del periodo de 1971 a 2014 de CRU

GCMs para Precipitación		GCMs para Temperatura	
1	IPSL-CM6A-LR	1	CIESM
2	FGOALS-g3	2	CESM2-WACCM
3	MRI-ESM2-0	3	MRI-ESM2-0
4	NorESM2-MM	4	CanESM5
5	CanESM5	5	FGOALS-g3
6	NESM3	6	MPI-ESM1-2-HR
7	CESM2-WACCM	7	NorCPM1
8	MIROC6	8	CESM2
9	NorESM2-LM	9	E3ESM-1-0
10	CESM2	10	NorESM2-MM

En la Tabla 4 se puede notar que los modelos FGOALS-g3, MRI-ESM2-0, NorESM2-MM, CESM2-WACCM, CESM2 (con sus números sombreados) están entre los primeros 10 modelos en ambas variables, por lo que los ajustes que se le realicen a estos modelos utilizando una reducción de escala estadística o dinámica deberían ser menores que los de los demás modelos para simulaciones históricas del clima de la región en estudio. También se puede observar que los modelos IPSL-CM6A-LR y CIESM son los mejores para cada variable, precipitación y temperatura respectivamente.

Discusión

Este documento evaluó la capacidad de los GCMs CMIP6 para simular el comportamiento espacio temporal observado en la región de estudio. Los GCMs fueron seleccionados de dos grupos de simulaciones CMIP6, para el periodo de 1971 a 2014. Las simulaciones mensuales de precipitación y temperatura fueron evaluadas con el grupo de datos CRU TS 4.02 observado. Las simulaciones de cada GCM y los grupos

multi-modelo fueron evaluados a través del MBE, el MAE, el RMSE, los coeficientes NSE, KAGE y las correlaciones de Pearson y Spearman. Estas métricas fueron calculadas para las series temporales con el promedio del área de la región de estudio. Los resultados permitieron seleccionar un subgrupo de modelos que representan mejor la precipitación y temperatura mensual en el periodo seleccionado.

Para la precipitación los coeficientes de correlación oscilan entre 0,34 a 0,81 respecto a CRU. En esa misma línea Choy y colaboradores (2022), encontraron para el Sur de África que los coeficientes de correlación tienden a estar entre 0.4 a 0.90 los cuales van a variar según la ubicación geográfica y la dinámica atmosférica de la región estudiada. El RMSE tienden a ser bastante uniformes entre modelos y varían entre 86 a 219 mm. Estos errores son altos en comparación con otras regiones de Suramérica (Gulizia & Camilloni, 2015) y en Lovino et al., 2018. Pero hay que tomar en cuenta que son regiones climáticas distintas a las de este estudio.

El coeficiente de correlación es más útil como medida de la fase entre series de tiempo, y los errores se pueden corregir utilizando estadísticas métodos (por ejemplo, reducción de escala). Los 10 modelos escogidos como mejores en base a la menor distancia en el diagrama en 3 dimensiones (Desv, RMSE y Cor Pearson) tuvieron correlaciones superiores a 0.75 se eligieron para realizar un promedio, lo modelos son los sombreados en la Tabla 4. Las puntuaciones estadísticas en estos 10 modelos son mejores que el resto de las modelos, los errores se reducen y aumenta la eficiencia.

Las observaciones de temperatura y las simulaciones muestran que la región tiene una tendencia de calentamiento en la temperatura media anual en los últimos 10 años. Las observaciones de CRU y las simulaciones de los GCMs, presentan un aumento en el ciclo anual de temperatura de aproximadamente de 0.5 °C. Los mejores 10 modelos alcanzan correlaciones en superiores a 0.8 respecto a CRU. Los modelos CIESM, CESM2-WACCM, MRI-ESM2-0, CanESM5 y FGOALS-g3 presentan buenos valores en las métricas de evaluación para la habilidad de simular la temperatura regional de CRU.

Las observaciones de precipitación de CRU de 1971-2014 muestran que la región tiene una marcada variabilidad interanual, la cual es difícil de simular por los GCMs. Para el caso del ciclo anual los modelos de CMIP6 simulan adecuadamente los dos máximos de precipitación anual y la sequía de medio verano de la región (Canícula), pero en general presentan una

cuantificación menor a CRU en promedio de casi un 50% de precipitación media anual.

Para precipitación el modelo IPSL-CM6A-LR muestra un mejor ajuste que los demás, reduciendo los sesgos y subestimando solo un 4% de la precipitación media anual de CRU. El promedio de todos los modelos subestima a CRU en un 48% y en la serie interanual este conjunto no identifica la precipitación máxima que existieron en algunos años en particular como en el 1998 cuando ocurrió el huracán Mitch, el 2005 cuando ocurrió el huracán Stan y más evidentemente en el 2010 cuando se produjo la tormenta tropical Agatha en la que produjo una precipitación media anual de superior a los 2,200 mm y los modelos subestimaron en casi 300 mm anuales. La mayoría de los MCG tienden a subestimar la precipitación según se observa en la métrica MBE, por lo tanto, los errores estadísticos de precipitación son altos, lo que resulta en bajas eficiencias de Nash-Sutcliffe.

La evaluación de las simulaciones permitió seleccionar un subconjunto de 10 modelos (IPSL-CM6A-LR, FGOALS-g3, MRI-ESM2-0, NorESM2-MM, CanESM5, NESM3, CESM2-WACCM, MIROC6, NorESM2-LM yCESM2) que mejor se reproducen los campos de precipitación y un subconjunto de 10 modelos (CIESM, CESM2-WACCM, MRI-ESM2-0, CanESM5, FGOALS-g3, MPI-ESM1-2-HR, NorCPM1, CESM2, E3ESM-1-0 y NorESM2-MM) que más hábilmente representa la temperatura media regional. Se espera que estos modelos que representan satisfactoriamente el clima histórico sean los más apropiado para simular el clima futuro. Aunque se reconoce que es necesario investigar otras señales climáticas detectadas los modelos de la Fase 6 del Proyecto de Intercomparación de Modelos Acoplados (CMIP6); como por ejemplo el fenómeno ENOS, para comprender aún más la habilidad de estos (Zhao & Sun, 2022).

Agradecimientos

Se agradece a los revisores anónimos por sus valiosos comentarios y observaciones. Se agradece al profesor Dr. Miguel Lovino por el asesoramiento de este artículo. Se agradece a Earth System Grid Federation (ESGF) por proporcionar acceso al conjunto de datos CMIP6. Se agradece al Servicio Meteorológico de Belice, a la Comisión Nacional del Agua (Conagua) de México, al Instituto Sismológico, Vulcanológico, Meteorológico e Hidrológico (Insivumeh) de Guatemala y al portal de datos de Centro Clima de

Cómitre de Regional de Recurso Hidráulicos (CRRH) de Centroamérica por los datos de estaciones locales obtenidos.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: todos los autores; P Rivera, E Herrera, W Ochoa.

Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: P Rivera.

Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: P Rivera, E Herrera.

Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: todos los autores. P Rivera, E Herrera, W Ochoa.

Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: todos los autores. P Rivera, E Herrera, W Ochoa.

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Agyekum, J., Annor, T., Quansah, E., Lamptey, B., & Okafor, G. (2022). Extreme precipitation indices over the Volta Basin: CMIP6 model evaluation. *Scientific African*, *16*, Artículo e01181. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01181>
- Almazroui, M., Islam, M. N., Saeed, F., Saeed, S., Ismail, M., Ehsan, M. A., Diallo, I., O'Brien, E., Ashfaq, M., Martínez-Castro, D., Cavazos, T., Cerezo-Mota, R., Tippett, M. K., Gutowski, W. J., Alfaro, E. J., Hidalgo, H. G., Vichot-Llano, A., Campbell, J. D., Kamil, S., ... Barlow, M. (2021). Projected Changes in Temperature and Precipitation Over the United States, Central America, and the Caribbean in CMIP6 GCMs. *Earth Systems and Environment*, *5*(1), 1-24. <https://doi.org/10.1007/s41748-021-00199-5>
- Ayugi, B., Zhihong, J., Zhu, H., Ngoma, H., Babausmail, H., Rizwan, K., & Dike, V. (2021). Comparison of CMIP6 and CMIP5 models in simulating mean and extreme precipitation over East Africa. *International Journal of*

- Climatology*, 41(15), 6474-6496. <https://doi.org/10.1002/joc.7207>
- Lim Kan Sian, K. T. C., Hagan, D. F. T., Ayugi, B. O., Nooni, I. K., Ullah, W., Babaousmail, H., & Ongoma, V. (2022). Projections of Precipitation Extremes based on Bias-corrected CMIP6 Models Ensemble over Southern Africa. *International Journal of Climatology*. Publicación anticipada en línea. <https://doi.org/10.1002/joc.7707>
- Doty, B., & Kinter, III, J. L. (1995). *Geophysical data analysis and visualization using the grid analysis and display system.*, En E. P. Szuszcwicz & J.H. Bredekamp (Eds.), *Visualization Techniques in Space and Atmospheric Sciences* (pp. 209-219). NASA.
- Fasullo, J. T., Phillips, A. S., & Deser, C. (2020). Evaluation of Leading Modes of Climate Variability in the CMIP Archives. *Journal of Climate*, 33(13), 5527-5545. <https://doi.org/10.1175/jcli-d-19-1024.1>
- Gulizia, C., & Camilloni, I. (2015). Comparative analysis of the ability of a set of CMIP3 and CMIP5 global climate models to represent precipitation in South America. *International Journal of Climatology*, 35(4), 583-595. <https://doi.org/10.1002/joc.4005>
- Gupta, H. V., Kling, H., Yilmaz, K. K., & Martinez, G. F. (2009). Decomposition of the mean squared error and NSE performance criteria: Implications for improving hydrological modelling. *Journal of Hydrology*, 377(1-2), 80-91. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2009.08.003>
- Harris, I., Osborn, T. J., Jones, P., & Lister, D. (2020). Version 4 of the CRU TS monthly high-resolution gridded multivariate climate dataset. *Scientific Data*, 7, Artículo 109. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0453-3>
- Kim, Y. H., Min, S. K., Zhang, X., Sillmann, J., & Sandstad, M. (2020). Evaluation of the CMIP6 multi-model ensemble for climate extreme indices. *Weather and Climate Extremes*, 29, Artículo 100269. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2020.100269>
- Lee, T., Waliser, D. E., Li, J. L. F., Landerer, F. W., & Gierach, M. M. (2013). Evaluation of CMIP3 and CMIP5 wind stress climatology using satellite measurements and atmospheric reanalysis products. *Journal of Climate*, 26(16), 5810-5826. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-12-00591.1>
- Lovino, M. A., Müller, O. V., Berbery, E. H., & Müller, G. V. (2018). Evaluation of CMIP5 retrospective simulations of temperature and precipitation in northeastern Argentina. *International Journal of Climatology*, 38(S1), Artículo e1158-e1175. <https://doi.org/10.1002/joc.5441>
- Lu, Z., Zhao, T., & Zhou, W. (2020). Evaluation of the Antarctic Circumpolar Wave Simulated by CMIP5 and CMIP6 Models. *Atmosphere*, 11(9), Artículo 931. <https://doi.org/10.3390/atmos11090931>
- Lupo, A., & Kininmonth, W. (2013). Global Climate Models and Their Limitations. En C. D Idso, R. M. Carter & S. F. Singer (Eds.), *Climate Change Reconsidered II, Physical Science* (pp. 7-148). Global Climate Models and Their Limitations. *Climate Change Reconsidered II*.
- Maenza, R. A., Agosta, E. A., & Bettolli, M. L. (2017). Climate change and precipitation variability over the western 'Pampas' in Argentina. *International Journal of Climatology*, 37(S1), 445-463. <https://doi.org/10.1002/joc.5014>
- Meher, J. K., Das, L., Akhter, J., Benestad, R. E., & Mezghani, A. (2017). Performance of CMIP3 and CMIP5 GCMs to simulate observed rainfall characteristics over the western Himalayan region. *Journal of Climate*, 30(19), 7777-7799. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-16-0774.1>
- Moriasi, D., Arnold, J., Van_Liew, M., Bingner, R., Harmel, R., & Veith, T. (2007). Model evaluation guidelines for systematic quantification of accuracy in watershed simulations. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 50(1), 885-900. <https://doi.org/10.1234/590>
- Nash, J. E., & Sutcliffe, J. V. (1970). River Flow Forecasting Through Conceptual Models Part 1-A Discussion of Principles. *Journal of Hydrology*, 10(3), 282-290. <https://doi.org/10.1080/00750770109555783>
- Panel Intergubernamental del Cambio Climático (Ed.). (2014). *Anexo II: Glosario. Cambio Climático 2014: Informe de Síntesis. Contribución de Los Grupos de Trabajo I, II y III Al Quinto Informe*

- de Evaluación Del Grupo Intergubernamental de Expertos Sobre El Cambio Climático.*
- Palomino-Lemus, R., Córdoba-Machado, S., & Esteban-Parra, M. J. (2015). Evaluación de modelos climáticos globales del CMIP5 sobre el noroeste de América del Sur. *Revista Biodiversidad Neotropical*, 5(1), 16-22.
- Penalba, O. C., & Rivera, J. A. (2016). Regional aspects of future precipitation and meteorological drought characteristics over Southern South America projected by a CMIP5 multi-model ensemble. *International Journal of Climatology*, 36(2), 974-986. <https://doi.org/10.1002/joc.4398>
- Rogelis, M. C., Werner, M., Obregón, N., & Wright, N. (2016). Hydrological model assessment for flood early warning in a tropical high mountain basin. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions*, March, 1-36. <https://doi.org/10.5194/hess-2016-30>
- Roussel, M.-L., Lemonnier, F., Genthon, C., & Krinner, G. (2020). Brief communication: Evaluating Antarctic precipitation in ERA5 and CMIP6 against CloudSat observations. *The Cryosphere Discussions*, 14(8), 2715-2727. <https://doi.org/10.5194/tc-2019-327>
- Sheffield, J., Camargo, S. J., Fu, R., Hu, Q., Jiang, X., Johnson, N., Karnauskas, K. B., Kim, S. T., Kinter, J., Kumar, S., Langenbrunner, B., Maloney, E., Mariotti, A., Meyerson, J. E., Neelin, J. D., Nigam, S., Pan, Z., Ruiz-Barradas, A., Seager, R., ... Zhao, M. (2013). North American climate in CMIP5 experiments. Part II: Evaluation of historical simulations of intraseasonal to decadal variability. *Journal of Climate*, 26(23), 9247-9290. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-12-00593.1>
- Shu, Q., Wang, Q., Song, Z., Qiao, F., Zhao, J., Chu, M., & Li, X. (2020). Assessment of Sea Ice Extent in CMIP6 With Comparison to Observations and CMIP5. *Geophysical Research Letters*, 47(9), Artículo e2020GL087965. <https://doi.org/10.1029/2020GL087965>
- Sillmann, J., Kharin, V. V., Zhang, X., Zwiers, F. W., & Bronaugh, D. (2013). Climate extremes indices in the CMIP5 multimodel ensemble: Part I. Model evaluation in the present climate. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, 118(4), 1716-1733. <https://doi.org/10.1002/jgrd.50203>
- Taylor, K. E., Balaji, V., Hankin, S., Juckes, M., Lawrence, B., & Pascoe, S. (2012). CMIP5 Data Reference Syntax (DRS) and Controlled Vocabularies. https://www.earthsystemcog.org/site_media/projects/wip/CMIP6_global_attributes_filenames_CVs_v6.2.6.pdf
- Taylor, K. E. (2001). Summarizing multiple aspects of model performance in a Single Diagram. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, 106(D7), 7183-7192. <https://doi.org/10.1029/2000JD900719>
- Voltaire, A., Saint-Martin, D., Sénési, S., Decharme, B., Alias, A., Chevallier, M., Colin, J., Guérémy, J. F., Michou, M., Moine, M. P., Nabat, P., Roehrig, R., Salas y Méliá, D., Séférian, R., Valcke, S., Beau, I., Belamari, S., Berthet, S., Cassou, C., ... Waldman, R. (2019). Evaluation of CMIP6 DECK Experiments With CNRM-CM6-1. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, 11(7), 2177-2213. <https://doi.org/10.1029/2019MS001683>
- Willmott, C. J., & Matsuura, K. (2005). Advantages of the mean absolute error (MAE) over the root mean square error (RMSE) in assessing average model performance. *Climate Research*, 30(1), 79-82. <https://doi.org/10.3354/cr030079>
- Zhao, Y., & Sun, D.-Z. (2022). ENSO Asymmetry in CMIP6 Models. *Journal of Climate*, 35(17), 5555-5572. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-21-0835.1>

Comportamiento meteorológico durante la sequía de medio verano en Guatemala

Meteorological behavior during the mid-summer drought in Guatemala

Wener A. Ochoa-Orozco ¹, Paris F. Rivera-Ramos ², Eduardo Herrera ³

¹Facultad de Ingeniería, Postgrado de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

²Instituto de Investigaciones de Ingeniería, Matemática y Ciencias Físicas de la Universidad Mariano Gálvez de Guatemala, Guatemala

³Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico

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

Recibido: 14 de octubre 2021 / Revisión: 9 de septiembre 2022 / Aceptado: 13 de octubre 2022

Resumen

El objetivo de esta investigación consistió en explorar el comportamiento histórico de la temperatura, precipitación y la radiación saliente de onda larga (OLR) para Guatemala, durante el período de sequía de medio verano (canícula). El procedimiento metodológico partió del uso de la base de datos de 38 estaciones meteorológicas del Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología, de Guatemala (Insivumeh), del periodo de 1971-2019. Se realizaron promedios para cada región del país; Norte, Caribe, Franja Transversal, Pacífico, Boca Costa, Oriente y Altiplano. Mediante series de tiempo con resolución temporal diaria, se evaluaron señales de cambio y se hicieron gráficas de OLR con la base de datos del Centro Nacional de Predicción Ambiental (NCEP, por sus siglas en inglés) de 2.5° x 2.5° de resolución. Los resultados muestran que la temperatura ha aumentado en dicho periodo, encontrando que en algunas regiones climáticas el aumento ha sido de 1 °C y en otras de 2 °C. Asimismo, se encontró que los días sin lluvia tienen una tendencia hacia el aumento, al igual que la radiación saliente de onda larga. La canícula, es un fenómeno meteorológico que está siendo afectado por el cambio climático, y en la medida que se siga experimentando un calentamiento diferencial entre los océanos Pacífico y Atlántico, influirá en el cambio de clima para Guatemala. En conclusión, durante la canícula se manifestaron señales de tendencia hacia el aumento de la temperatura, aumento de días sin lluvia y aumento de OLR.

Palabras clave: Cambio climático, canícula, temperatura, precipitación

Abstract

The objective of this research was to explore the historical behavior of temperature, precipitation and outgoing long-wave radiation (OLR) for Guatemala, during the midsummer drought period (canícula). The methodological procedure was based on the use of the database of 38 stations of the National Institute of Seismology, Volcanology, Meteorology and Hydrology, of Guatemala (Insivumeh), from the period 1971-2019. Averages were made for each region of the country; North, Caribbean, Transversal Strip, Pacific, Boca Costa, East and Altiplano. Using time series with daily temporal resolution, signals of change were evaluated and OLR plots were made using the National Center for Environmental Prediction (NCEP) database at 2.5° x 2.5° resolution. The results show that the temperature has reached in this period, finding that in some climatic regions the increase has been 1 °C and in others 2 °C. Likewise, it was found that the days without rain have a tendency to increase, as well as the outstanding long-wave radiation. The heat wave is a meteorological phenomenon that is being affected by climate change, and to the extent that differential heating between the Pacific and Atlantic oceans continues to be experienced, it will influence the climate change for Guatemala. In conclusion, during the heat wave there are signs of a trend towards an increase in temperature, an increase in days without rain and an increase in OLR.

Keywords: Climate change, heatwave, temperature, precipitation



Introducción

Comportamiento de variables meteorológicas durante la sequía de medio verano en Guatemala

La sequía de medio verano (Mid-Summer Drought [MSD], por sus siglas en inglés) o canícula, es un fenómeno meteorológico que se caracteriza por una disminución de la precipitación durante varios días, o semanas, durante la estación lluviosa en la región de Centroamérica (García Oliva, 2018; Magaña et al., 1999). Small y colaboradores (2007) y García Oliva (2018), coinciden en que la canícula, denominada también sequía de medio verano, está tipificada como una disminución en la precipitación pluvial durante la mitad de la temporada de lluvias en el sur de México y América Central. Para el caso de Guatemala, este fenómeno meteorológico de canícula se evidencia principalmente en las costas del Pacífico, el Altiplano y la región Central, tanto con días sin lluvias como con un aumento de temperatura entre 0.5 a 1 °C.

El fenómeno climático de sequía de medio verano, tiene una duración aproximada de seis quincenas; iniciando en la primera quincena de junio y finalizando en la segunda quincena de septiembre. En este período se registra una disminución en las lluvias del 32.7%, lo que indica que la presencia de la canícula no es la sequía total sino, más bien, la disminución en de precipitación. Según Small y colaboradores (2007) el calentamiento de la superficie sobre la tierra también juega un papel importante. En este período la temperatura se incrementa significativamente en la Costa Sur de Guatemala y la distribución espacial de este incremento posiblemente se relaciona con la distribución de la actividad convectiva durante esta época (García Oliva, 2018).

Además, cuando el uso de la tierra cambia a urbano, la tendencia de la temperatura es al aumento generando islas de calor durante el día, lo cual altera a la vez los patrones de precipitación (Gallo et al., 1996; Ochoa, 2021; Pérez, 2018).

Rodríguez-Vera y colaboradores (2019) encontraron patrones dominantes de variabilidad interanual e identificaron modos acoplados, evidenciando que el fenómeno climático denominado “El Niño-Oscilación del Sur” (ENOS) influye en casi todos los modos. Asimismo, demostraron también que la precipitación sobre el mar Caribe, es sensible a los modos de variabilidad acoplada viento-temperatura superficial del mar de junio a octubre, periodo en el cual se registra la canícula

para Guatemala. Estos modos parecen estar fuertemente relacionados con la variabilidad interanual de la sequía de medio verano y la migración meridional de la zona de convergencia intertropical en el Pacífico oriental, la cual es un área ubicada en el Océano Pacífico (Durán-Quesada et al., 2010; Mestas-Núñez et al., 2007).

Herrera y colaboradores (2015), concluyen que la disminución de la precipitación durante el verano en la mayor parte de las Américas tropicales está ligada al comportamiento de la corriente en chorro de nivel bajo en el Caribe (Caribbean Low-Level Jet [CLLJ], por sus siglas en inglés), cuya intensidad está anti correlacionada a la precipitación, pues presenta en el verano un máximo de intensidad en julio y conectada también a la actividad de ondas del este. Para Zermeño-Díaz (2019), el patrón espacial de la precipitación asociado a la canícula es más robusto durante el verano, pero se puede ver también en escalas de tiempo diarias, intraestacionales e interanuales. Además, también hay patrones específicos para viento y presión sugiriendo un acoplamiento mecánico que puede llevar a que los patrones espaciales sean extrapolados para entender ciertas tendencias. Magaña y Caetano (2005), describen la evolución temporal de varios parámetros meteorológicos en los mares intra americanos durante el experimento climático de las albercas de agua caliente (ECAC) y revisaron cuales resultados están de acuerdo y cuales refutan la teoría expuesta por Magaña y colaboradores (1999).

Rivera (2021), demostró que coincidentemente durante el periodo de la canícula, en los meses de julio y agosto hay señales que incrementan a la precipitación por la oscilación Madden-Julian en las fases 2 y 8 en la región sur de Guatemala. Por el contrario, se ha encontrado que esta oscilación no favorece fuertemente a la convección y la precipitación durante el primer máximo de lluvia, pero parece suprimir la lluvia en la mayor parte de la región de canícula, excepto en el suroeste de México en la canícula de agosto (Perdigón-Morales et al., 2019).

En Guatemala existen grandes áreas con escasa cobertura de estaciones meteorológicas, o donde las series temporales de observaciones históricas tienen datos faltantes, lo que dificulta estudiar y analizar la variabilidad de la precipitación a diferentes escalas de espacio y tiempo. En este artículo se muestra como la temperatura, los días sin lluvia y la radiación saliente de onda larga, han aumentado en el periodo de la canícula para Guatemala, analizando datos de temperatura del 1971 al 2019, encontrando que en algunas regiones climáticas el aumento ha sido de 1 °C y en otras regiones de 2 °C.

Materiales y métodos

Área de estudio

Guatemala se ubica en América Central (ver Figura 1). Tiene frontera al norte con México, al este con Belice y al sur con Honduras y El Salvador, al oeste está limitada por el océano Pacífico (254 km) y al este por el golfo de Honduras (148 km). Las diferentes zonas ecológicas varían desde el nivel del mar hasta aproximadamente 4,000 m s.n.m., con precipitaciones pluviales que varían desde los 400 hasta aproximadamente 4,000 mm anuales, con un clima cálido tropical,

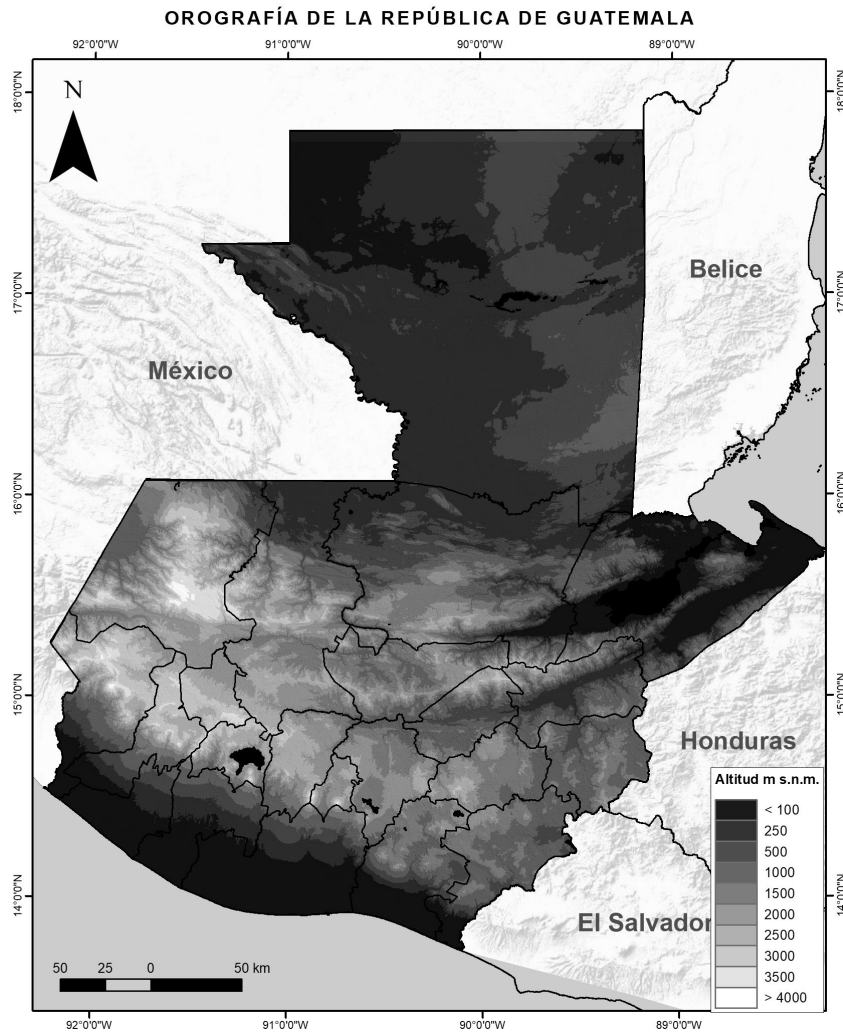
más templado en el altiplano. Es el país más poblado de Centroamérica con 14,901,286 habitantes según el censo del 2018 en un área de 108,889 km² (Instituto Nacional de Estadística [INE], 2019).

Datos utilizados

De la base de datos del Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología de Guatemala para el periodo de 1971-2019, se usaron los registros de temperatura y precipitación diaria de treinta y ocho estaciones de Guatemala. Todas las estaciones tienen un periodo de 1971 a 2019, se realizaron

Figura 1

Mapa de la República de Guatemala y de su orografía (altitud en m.s.n.m.)



promedios para cada región del país con las estaciones que corresponden a cada una de las siguientes regiones; Norte, Caribe, Franja Trasversal, Pacífico, Boca Costa, Oriente y Altiplano. Se usaron las series de tiempo de temperatura máxima y mínima con resolución temporal diaria para cada una de las estaciones, los datos faltantes de los registros diarios se estimaron con el promedio histórico correspondiente a cada estación y luego se realizaron los promedios por estaciones en cada región. Para evaluar las señales de cambio en el periodo de canícula, se usaron los meses de junio a octubre y para cada serie resultado de cada región se generó la de tendencia interanual con su respectivo coeficiente de correlación de Pearson (r^2) que permitió visualizar si la temperatura tiene una tendencia positiva o negativa.

Se utilizó el cálculo de índices del Grupo de Expertos en Detección e Índices de Cambio Climático (ETCCDI) formado conjuntamente por la Organización Meteorológica Mundial (OMM), del proyecto de variabilidad climática (CLIVAR) y la Comisión Conjunta de Oceanografía y Meteorología Marítima (JCOMM), quienes han impulsado a escala global dicho cálculo de índices de cambio climático a partir de datos diarios (Karl et al., 1999). Con estos índices del ETCCDI se obtuvieron las señales de cambio climático, específicamente en lo referente a los extremos meteorológicos desde el punto de vista climático.

Para temperatura se utilizaron los siguientes índices:

- (i) 125 FD Número de días con días de helada ($T_{min} < 0^\circ C$)
- (ii) 141 ETR días de rango de temperatura extrema intraanual ($T_h - T_l$)
- (iii) TMINmean Media de las temperaturas mínimas
- (iv) TMAXmean Media de las temperaturas máximas

Se analizaron las tendencias de datos de temperatura máxima y mínima de todo el país a partir de la metodología propuesta por el ETCCDI, la cual incluye un control de calidad probando la homogeneidad de los datos, con lo cual se minimizan los errores en los índices creados (índices de cambio climático). Se realizó un modelo lineal para cada mes durante el periodo 1971 a 2019 para las temperaturas máximas, de Guatemala, utilizando el promedio de treinta y ocho estaciones del país, para luego extraer para cada mes

y cada temperatura la pendiente de la recta de tendencia. Se realizó el cálculo de los índices de temperatura máxima promedio y temperatura mínima promedio del periodo total y del promedio de todas las estaciones para representar todo el país. Se calcularon índices de cambio climático; temperatura mensual promedio, máxima y mínima, la temperatura promedio mensual se obtuvo a partir de las series de datos observados de temperatura y precipitación de acuerdo con la metodología del "RCLimDex (1.0) User Manual" (Zhang et al., 2005). La base de datos de estos cálculos corresponde a los registros del promedio de 38 estaciones meteorológicas nacionales a escala diaria, para el periodo 1971 a 2019. Para el cálculo de las pendientes de las rectas de tendencia de la temperatura máxima, se utilizó la ecuación de la recta resultante para cada periodo. A partir de esta ecuación se extrajeron las pendientes (tasas de cambio) para representarlas en barras para los distintos periodos analizados.

Para el cálculo de OLR se utilizó la base de datos de NCEP (National Centers for Environmental Prediction) de $2.5 \times 2.5^\circ$ de resolución, con datos mensuales desde 1979 a 2020 (Liebmann & Smith, 1996). Para la precipitación se usó la base de datos mensual CHIRPS con resolución de $0.05 \times 0.05^\circ$, para el periodo de 1979-2020 (Funk et al., 2015).

Se utilizó un filtrado acondicionado para sumar los días consecutivos con precipitación igual a cero del promedio de 38 estaciones meteorológicas nacionales. Las cajas de bigotes (box plots, en inglés) de los días consecutivos sin lluvia durante julio y agosto del periodo de 1971 al 2019.

Se utilizaron datos mensuales del Índice estandarizado de precipitación ([SPI], por sus siglas en inglés; Guttman, 1999) para análisis de 3-meses (junio, julio y agosto) y de 6-meses (mayo, junio, julio, agosto, septiembre y octubre), con datos de la University of East Anglia (UEA) Climatic Research Unit (CRU) Global, con resolución de $0.5 \times 0.5^\circ$ también mensuales, para el periodo de 1979-2020. Los productos derivados de la OLR se hicieron con los datos respectivos al área $[93.75^\circ W - 88.75^\circ W]$ y $[12.5^\circ N - 17.5^\circ N]$, obteniendo tanto resultados espaciales, como una serie temporal correspondiente al promedio espacial.

Se obtuvo la climatología de precipitación acumulada mensual para las siguientes regiones, delimitándolas aproximadamente con las siguientes áreas rectangulares: [longitudes], [latitudes]; Petén: $[91^\circ W - 89.2^\circ W]$, $[16.1^\circ N - 17.8^\circ N]$, Caribe: $[89.46^\circ W - 88.54^\circ W]$, $[15.2^\circ N - 15.9^\circ N]$, Franja

Transversal: [91.5°W-89.46°W], [15.6°N-16.1°N], Occidente: [92.1°W-91.2°W], [14.7°N-15.6°N], Altiplano Central: [91.2°W-90.2°W], [14.56°N-15.6°N], Valles de Oriente: [90.2°W-89.3°W], [14.2°N-15.5°N], Boca Costa: [92°W-90.5°W], [14.3°N-14.6°N], Costa Sur: [92.3°W-90.1°W], [13.8°N-14.3°N]; ver Figura 2

Para el cambio de temperatura máxima desde el punto de vista espacial se realizó en base a las estaciones utilizadas, por medio de la herramienta Spline de ArcGis la cual utiliza un método de interpolación estimando valores, obteniendo la anomalía de temperatura entre los periodos (1971-2000) y (2001-2019). Los datos diarios de estaciones locales fueron homogenizados y rellenados mediante el método de la serie más cercana (Paulhus & Kohler, 1952); es decir que para completar los datos diarios se promedian los valores vecinos, normalizados dividiéndolos por sus respecti-

vos promedios promedio y luego se generó el modelo de regresión (Guijarro, 2018).

Resultados

Para la temperatura

La temperatura en los periodos de tiempo de la canícula se ha incrementado para Guatemala en el periodo de 1971-2019. Sin embargo; tal como se observa en la Figura 3, se evidencia entre 0.5 a 1 °C en algunas regiones como el caso del Caribe, Boca Costa, Costa Sur, Franja Transversal del Norte y Altiplano Central.

En la Figura 4 se observa el incremento de las temperaturas máximas promedios de los meses de junio a octubre para cada año de 1971 a 2019 para Guatemala.

Figura 2

Mapa de las regiones climáticas de Guatemala aproximadas con rectángulos

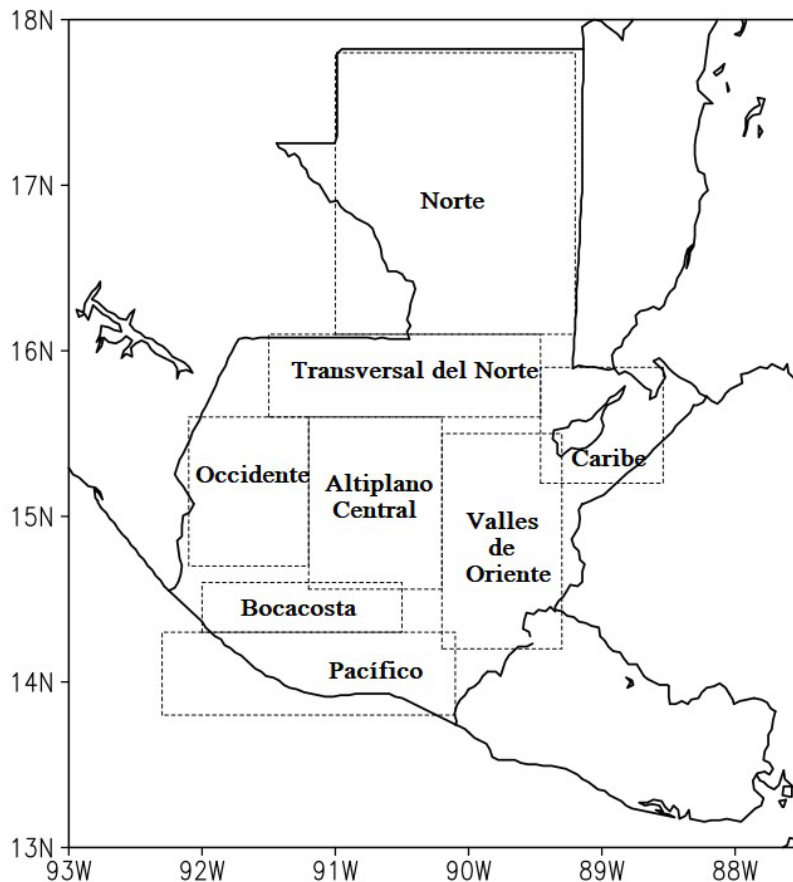


Figura 3

Cambios de temperatura (°C) en el periodo de canícula para Guatemala, 1971-2019

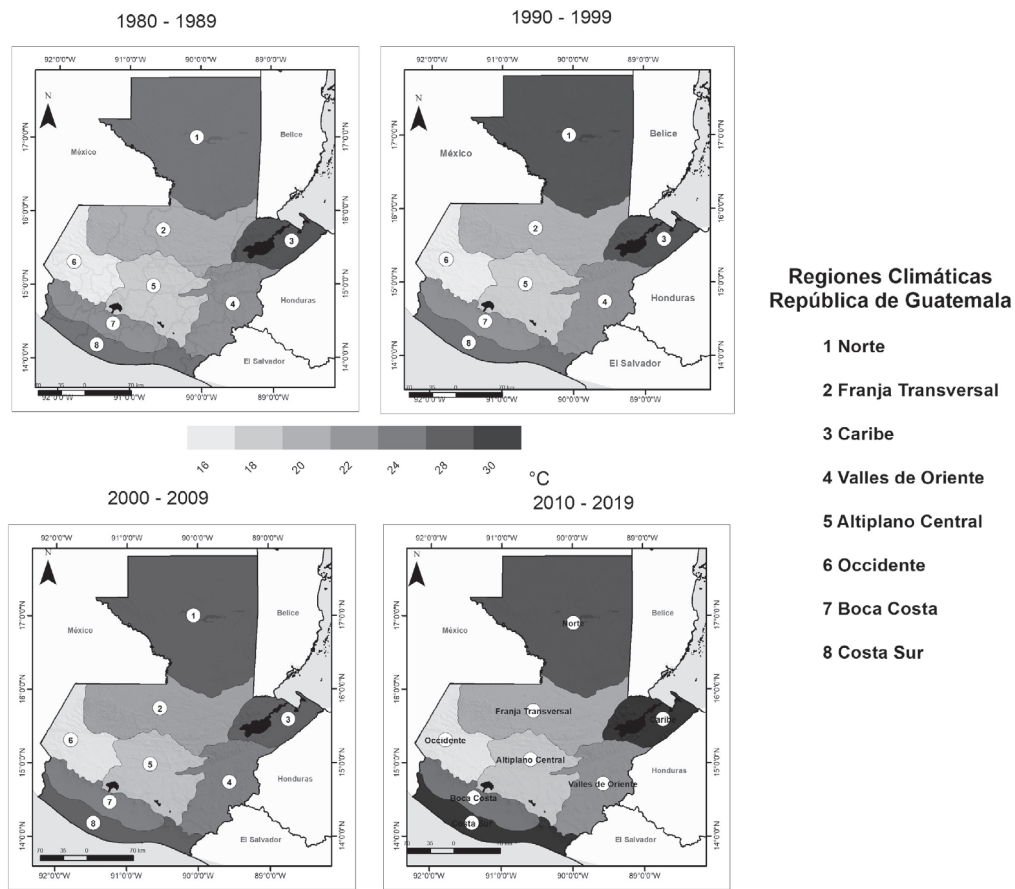
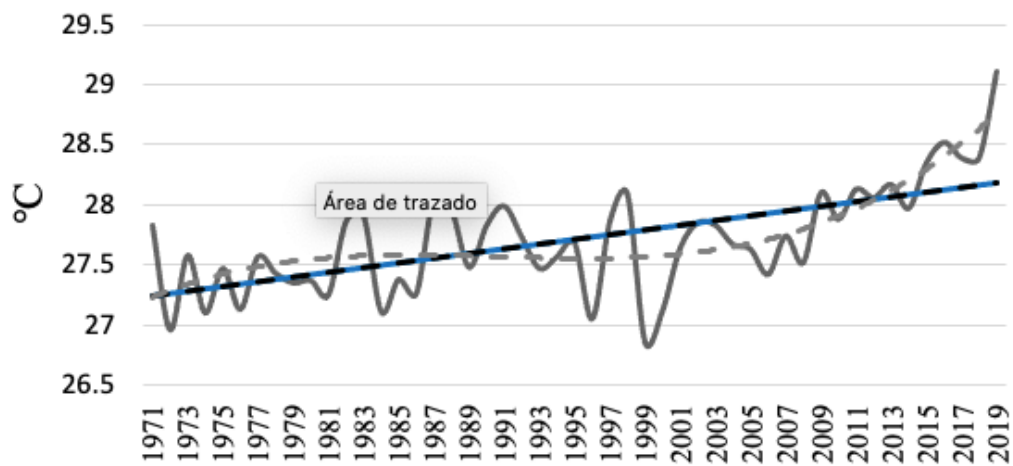


Figura 4

Promedio de temperatura máxima (°C) de junio a octubre, desde 1971-2019 para Guatemala



En la Figura 5 se observa que las temperaturas mínimas promedio mensual están incrementando su valor, lo cual evidencia un calentamiento significativo en el periodo canicular.

Derivado del cálculo de las pendientes se generó la gráfica de tendencias de julio, mes que fue el que más pendiente de aumento presentó de todos los meses del año. Al analizar tres periodos de comparación: (i) un periodo de 1971 al 2019 (49 años), (ii) un periodo del año 1971 al 1999 (29 años) y (iii) un periodo final el cual comprende del año 2000 al 2019 (20 años); se identificaron señales significativas de aumento constante de temperatura a nivel nacional a partir del año 2000 (ver Figuras 6 y 7).

Se puede observar en la Figura 7 que el primer periodo no presenta una tendencia claramente marcada (línea gris oscuro), pero en comparación con el segundo periodo (línea negra) sí que se presenta una tendencia de calentamiento. Coincidentemente este aumento de la temperatura máxima coincide con varias sequías fuertes que ha experimentado el país, como por ejemplo en los años 2001, 2009, 2015, 2016 y 2019.

También se obtuvo un resultado espacial para el cambio de temperatura máxima en julio para Guatemala en base a las estaciones utilizadas, por medio de la herramienta Spline de ArcGis, obteniendo la anomalía de temperatura entre los periodos (1971-2000) y (2001-2019) en la Figura 8.

Para la precipitación

Se elaboró la climatología de precipitación acumulada mensual para cada una de las regiones descritas anteriormente y aproximadas como secciones rectangulares, encontrando que las regiones del Altiplano Central, del Occidente, de Valles de Oriente, de Petén y de Costa Sur presentan un comportamiento agrupado similar, teniendo la menor cantidad de precipitación. Algo separadas con precipitación acumulada mensual superior a 100 mm/mes arriba de las anteriores están las regiones de la Franja Transversal y de Boca Costa pero también con comportamiento similar, con una señal típica de canícula con su disminución de precipitación durante julio y agosto. Notoriamente, se obtuvo que sólo para la región del Caribe no se exhibe el comportamiento de canícula (Figura 9).

Dentro del periodo que se considera de canícula, los meses de julio y agosto son los que presentan menor precipitación y para mostrar los cambios en estos meses se calcularon los días consecutivos sin lluvia durante esos meses.

Los días consecutivos sin lluvia durante julio y agosto del periodo de 1971 al 2019 se muestra en la Figura 10, se aprecia que el periodo de 1970 a 1995 los días consecutivos sin lluvia son de aproximadamente 20 días y para finales del periodo de 1996 a 2019 la media es de aproximadamente de 30 días consecutivos sin lluvia en los meses de julio y agosto.

Figura 5

Promedio de temperatura mínima (°C) de junio a octubre, desde 1971-2019

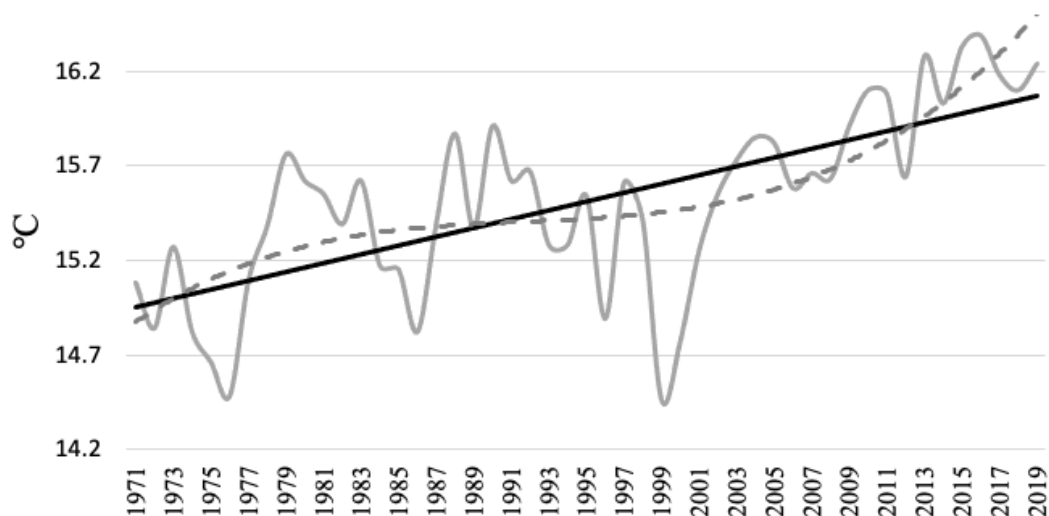
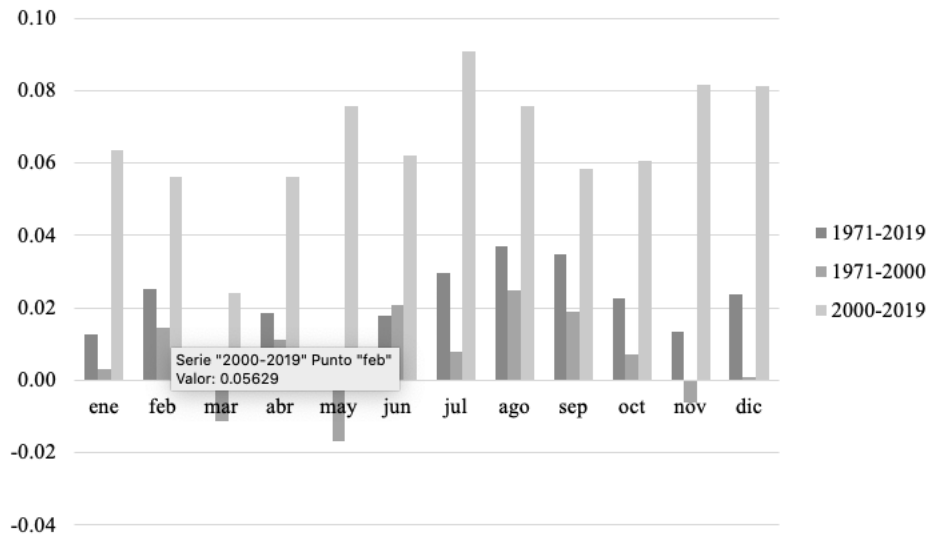


Figura 6

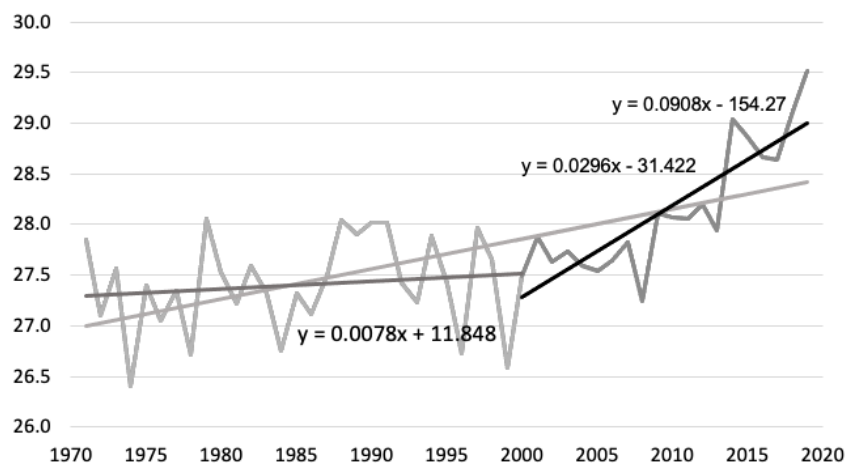
Comportamiento de las pendientes de temperatura máxima (°C/año)



Nota. Comportamiento de las pendientes de temperatura máxima (°C/año) tomando tres diferentes periodos: (1971-2019) barras grises oscuro, (1971-2000) barras grises, (2000-2019) barras grises claro.

Figura 7

Tendencias de temperatura maxima (°C/año)



Nota. Tendencias de temperatura máxima tomando las pendientes (°C/año) para tres diferentes periodos: (1971-2019) línea gris, (1971-2000) línea gris oscuro y (2000-2019) línea negra; para el mes de julio.

Figura 8

Anomalía de temperatura máxima (°C) para los periodos 1971-2000 y 2001-2019

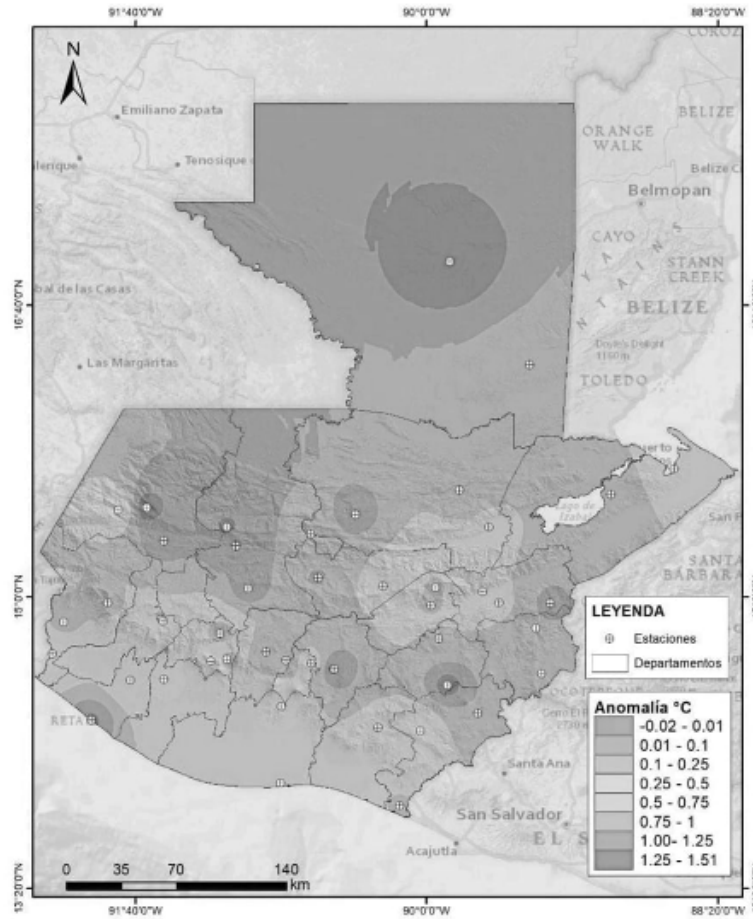


Figura 9

Climatología de precipitación acumulada mensual (mm/mes) en cada una de las regiones para el periodo 1979-2019

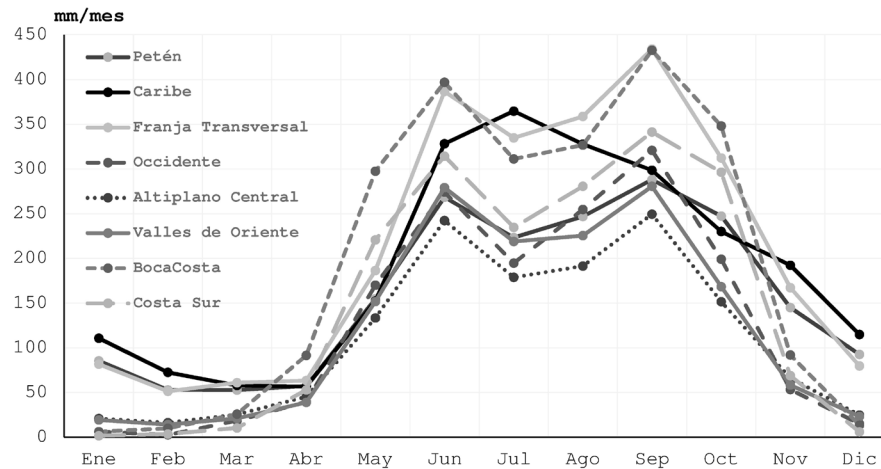
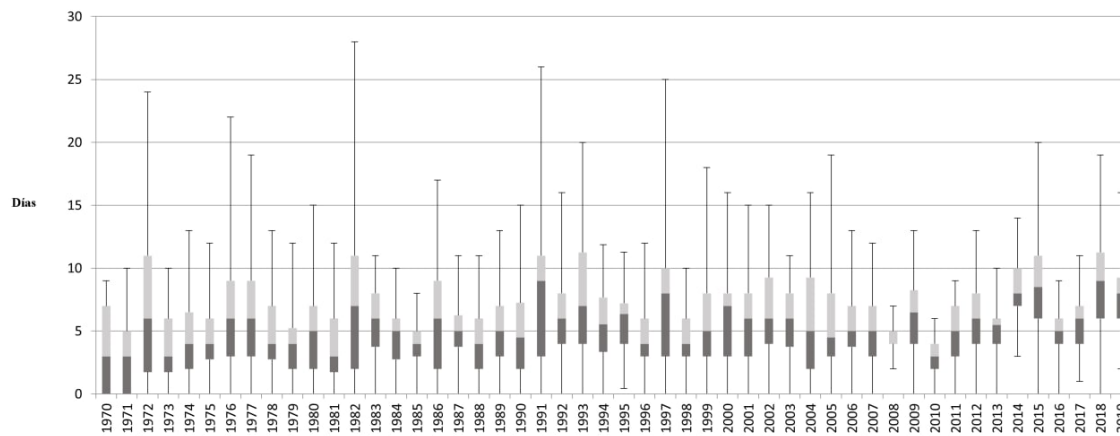


Figura 10*Días sin lluvia dentro de la canícula*

Para la OLR

La radiación saliente de longitud de onda larga (OLR), es aquella que se emite hacia el espacio después de que la radiación solar incidente sobre la atmósfera ha interactuado con cualquier elemento dentro de ella, como nubes o superficie. Se mide usando satélites y se usan unidades de flujo de energía (Wm^{-2}). Es una variable muy usada en el ámbito de las ciencias atmosféricas para encontrar áreas de desarrollo de nubes profundas o en su defecto, para averiguar en donde no las hay.

Para la región de Guatemala se hizo la climatología de OLR obteniendo un comportamiento acorde al de la precipitación (Figura 9), con dos picos de OLR mínima centrados en junio y en septiembre correspondientes a los máximos de precipitación en los mismos meses, con un periodo de aumento relativo de OLR en la mitad del verano, durante julio y agosto, correspondiente a la canícula. Al igual que para la precipitación, encontramos que la variabilidad es mayor para el segundo pico de OLR comparada con el primero, lo que indica que hay una mayor interacción de fenómenos meteorológicos hacia fines de la temporada lluviosa.

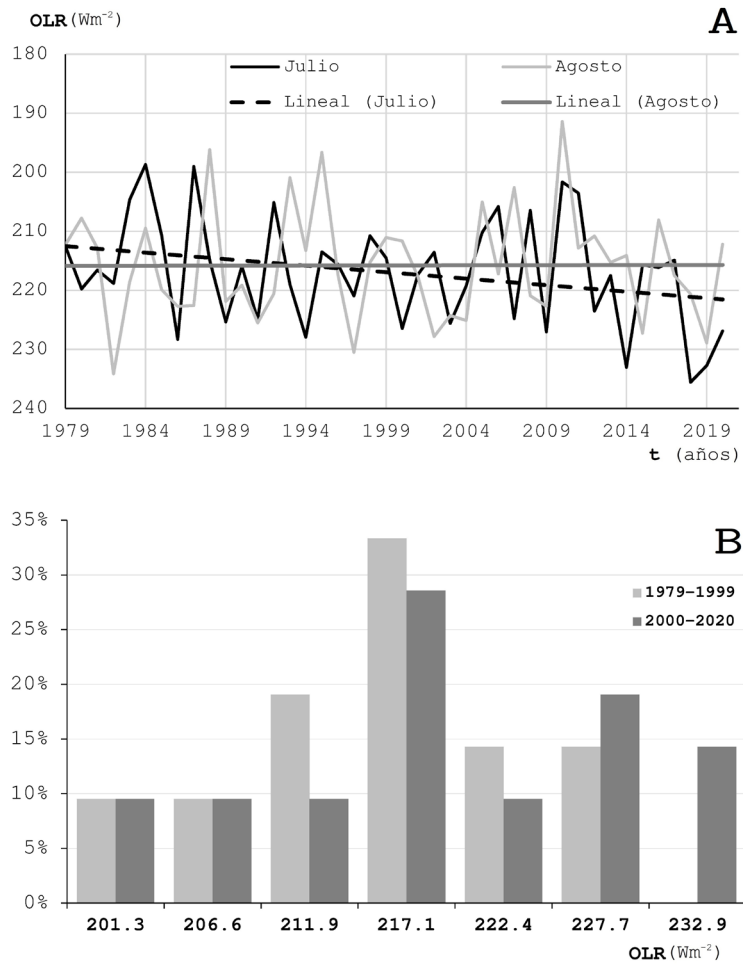
Centrándose en los meses de julio y agosto, se buscó una tendencia de OLR para julio y agosto, encontrando que sólo para julio se observa que hay una tendencia positiva de OLR y que es casi nula para agosto (Figura 11A), además observamos que en general, la OLR disminuye conforme el tiempo transcurre de julio a agosto lo que está de acuerdo a la climatología

de OLR, sin embargo, hay varios años que ocurre al contrario (1982, 1983, 1984, 1985, 1987, 1992, 1997, 2002, 2006, 2008, 2011 y 2015) y la OLR aumenta de julio a agosto más de un 20% del rango de variabilidad, es decir, más de 7 Wm^{-2} , lo que permite concluir que en esos años el periodo de canícula se prolongó. Basados en el resultado anterior, comparamos la frecuencia relativa de OLR en julio para dos periodos de 21 años cada uno (1979-1999) y (2000-2020), reafirmando que la OLR está incrementándose, en particular los valores mayores a 223 Wm^{-2} (Figura 11B), lo que sugiere que para julio la tendencia lineal de OLR indica que hay más días sin desarrollo de nubes profundas en la región.

Se determinaron los patrones espaciales de anomalías de OLR para julio y agosto desde 1979 a 2020, tomando que la anomalía negativa está asociada a un incremento de nubosidad y mayor probabilidad de precipitación y en el caso contrario, la anomalía positiva implica un decremento de la nubosidad y de la precipitación. Se encontró que para los años obtenidos anteriormente (1982, 1983, 1984, 1985, 1987, 1992, 1997, 2002, 2006, 2008, 2011 y 2015) a partir de la Figura 11a, para el mes de agosto la mayoría cumple con anomalía positiva (menor nubosidad) sobre el territorio de Guatemala, con la excepción de 1984 con anomalía negativa, 2011 considerado neutro, y de los años 1992 y 2006 con la anomalía positiva sobre el sur del país. El mes de julio no siguió la correspondencia de forma tan clara como agosto y sólo cumplió la condición de anomalía positiva el año de 1982.

Figura 11

Climatología de OLR de julio y agosto y frecuencia relativa de OLR para julio, periodos 1979-1999 y 2000-2020



Nota. Panel A: climatología de OLR de julio (línea continua negra) y agosto (línea continua gris claro) con sus respectivas tendencias lineales (guiones negros y línea gris oscura), Panel B: frecuencia relativa de OLR para el mes de julio para los periodos (1979-1999) en gris claro y (2000-2020) en gris oscuro.

Espacialmente, se agruparon varios años según la anomalía de OLR para julio y la subsecuente de agosto, prevaleciente sobre Guatemala en ese tiempo (año), obteniendo:

- Grupo 1, julio con anomalía negativa y agosto con anomalía negativa, patrón que representa un 19%: 1979, 1981, 1984, 1988, 2001, 2005, 2010, 2016.
- Grupo 2, julio con anomalía negativa y agosto con anomalía positiva, patrón que representa un 14.3%: 1983, 1985, 1987, 1996, 2002, 2008.
- Grupo 3, julio con anomalía positiva y agosto con anomalía positiva, patrón que representa un 19%: 1982, 1986, 1989, 1991, 2003, 2004, 2009, 2019.
- Grupo 4, julio con anomalía positiva y agosto con anomalía negativa, patrón que representa un 7.1%: 1994, 2000, 2007.

Aunque los grupos anteriores explican 59.4% de la variabilidad, encontramos patrones espaciales de anomalía de OLR con estructura de dipolo, la mayoría meridionales, que dividen al país y que pueden conducir a errores al hacer promedios espaciales.

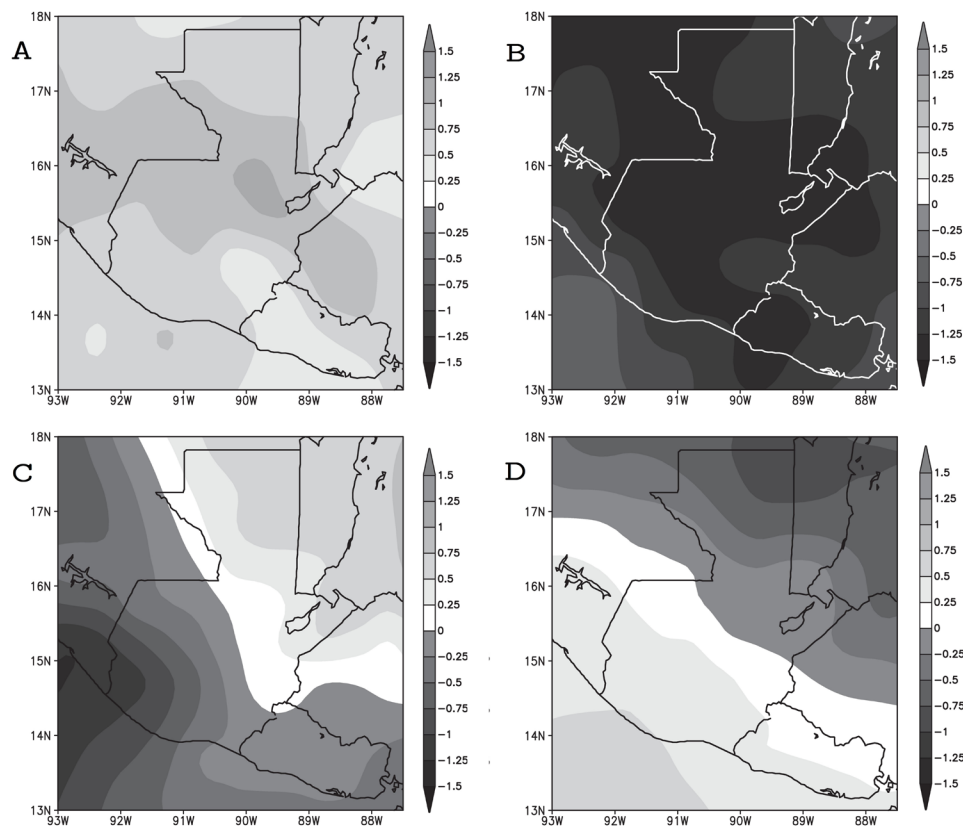
Para buscar una correspondencia entre los resultados anteriores de OLR con alguna medida de anomalía espacial de precipitación, se obtuvieron patrones espaciales de SPI para 3 y 6 meses. Los análisis de 3 meses se centraron en julio, es decir, tomando a junio, julio y a agosto (JJA), los de 6 meses tomaron los meses desde mayo a octubre (MJJASO), teniendo una mutua correspondencia de valores de SPI tanto en magnitud como en patrón espacial, lo que sirvió para complementarlos cuando existiera algún dato faltante. Por lo anterior, se decidió considerar únicamente los resultados de SPI de 3 meses y analizar los años de los grupos de mayor representatividad de OLR, así se obtuvo que: los años del grupo 1 (1979, 1981, 1984, 1988, 2005, 2010) tuvieron valores positivos de SPI (más lluvia que lo normal) con excepción para el año

2001 con significativa anomalía negativa ($SPI < -1$) y para 2016 donde los valores de SPI fueron cercanos a lo neutral ($-0.5 < SPI < 0.5$).

Para los años de los otros grupos se obtuvieron principalmente tres patrones: los que tuvieron valores con significativa anomalía negativa de SPI (menos lluvia que lo normal): 1989, 1994, 2001, 2003, 2004, 2007, 2009, 2012, 2014, 2015, 2018 y 2019. Y los que presentaron un dipolo de SPI con más lluvia en el norte-oriental y menos en el sur-poniente: 1982, 1983, 1986, 1987, 1992, 1999, 2000, 2013; y otro dipolo al revés del anterior (con menos lluvia en el norte-oriental y más en el sur-poniente): 1991, 1998, 2008 (Figura 12). Varios de los años que no entraron en la clasificación tuvieron valores de SPI no significativos (neutros) o patrones que no podían corresponderse con los definidos.

Figura 12

Patrones compuestos de SPI-3meses (junio, julio y agosto) para diferentes años



Nota. Panel A: anomalía positiva (1979, 1981, 1984, 1988, 2005, 2010 y 2020); Panel B: anomalía negativa (1989, 1994, 2001, 2003, 2004, 2007, 2009, 2012, 2014, 2015, 2018 y 2019); Panel C: dipolo norte húmedo y sur seco (1982, 1983, 1986, 1987, 1992, 1999, 2000 y 2013); Panel D: dipolo norte seco y sur húmedo (1991, 1998, 2008).

Discusión

En base a los resultados se confirma que los periodos de canícula para Guatemala tienen una tendencia de crecimiento de temperatura y se percibe que esta tendencia se mantenga en los siguientes años de acuerdo a los escenarios de cambio climático para Guatemala (Rivera et al., 2020), y que los episodios de varios días sin precipitación y con temperatura alta, serán cada vez más recurrentes. Según la tendencia lineal obtenida por el análisis, sabemos que el incremento no seguirá subiendo indefinidamente y que lo más probable es que ocurra una de dos cosas: tenga un límite físico o sea parte de una oscilación de un largo periodo de tiempo (baja frecuencia).

Las regiones guatemaltecas que evidencian un aumento de temperatura alrededor de 1 °C en el periodo de la canícula; son Caribe, Franja Transversal del Norte, Norte, Boca Costa y Costa sur, tal como se muestra en la Figura 2. Para cada región, se aprecia que la mayoría presenta el mínimo local de precipitación en el mes de julio y que para algunas regiones ese mínimo dura más, como en las regiones de Valles de Oriente y del Altiplano Central. Para todos los periodos estudiados, la temperatura, los días sin lluvia y la OLR presentan una tendencia positiva y por lo tanto de aumento de esas variables (temperatura, días sin lluvia y OLR), exceptuando marzo y mayo para el periodo de 1971 al 1999 en donde se presentó una tendencia negativa. Se ha demostrado que la OLR está inversamente correlacionada con la nubosidad, por lo cual un valor alto de OLR en un sitio indica que hay cielo despejado ahí, por el contrario, un valor bajo de OLR estará asociado con nubes profundas como las de tormenta (Adem, 1967).

Analizando los meses de la canícula (julio y agosto), se puede indicar que para la temperatura máxima, julio es el mes con mayor tendencia al aumento, y el mes de agosto presenta una tendencia alta también, en el periodo 2000 a 2019. Con esto se evidencia una señal significativa de que las temperaturas máximas son las que han estado aumentando durante el periodo de canícula primamente en el mes de julio a una tasa mayor que la de los demás meses durante el periodo 2000 a 2019 y para el periodo total 1971 a 2019 es el mes de agosto.

Respecto a los resultados de los análisis de OLR y de SPI, se encontró que en general coinciden en que para un mes de agosto seco ($SPI < 0$) hay correspondencia con valores de OLR altos (pocas nubes profun-

das), aunque para julio los resultados no fueron tan concluyentes, ya que la canícula puede iniciar hacia mediados del mes de julio haciendo que el promedio mensual de OLR no sea representativo. Lo que sí ha sido representativo es que para Guatemala se han encontrado dos patrones espaciales de SPI que se pueden tomar como medida de la anomalía de precipitación: (i) en el que todo el territorio presenta anomalía positiva o negativa (~ 45% de los casos) y (ii) un patrón de dipolo casi meridional sobre el país, con anomalía positiva/negativa en el norte/sur (~ 26% de los casos).

Dichos patrones espaciales de SPI, permiten señalar que existen principalmente dos fuentes de flujo de humedad hacia la región de Guatemala; una desde el norte, noreste y este que se puede denominar Caribe y otra proveniente principalmente del Pacífico, conclusiones que están de acuerdo con otros estudios (Durán-Quesada et al., 2017; Maldonado et al., 2017). En los años en que se presenta el dipolo, indica que una de las fuentes de humedad fue suprimida en algún momento de la temporada lluviosa. Además, observamos que varios patrones espaciales de OLR (no mostrados en el trabajo), sugieren un acoplamiento de tipo de circulación secundaria casi estacionario asociado a regiones con convección profunda al oriente de Guatemala (sobre Belice o en el noroeste de Honduras) que están acopladas a regiones de flujo de aire descendente (subsistencia) y sin precipitación sobre territorio guatemalteco.

Para los años con fase El Niño, se notó que en general se asocian al patrón espacial seco sobre todo el territorio (Figura 11B) y al patrón espacial de dipolo con el sur seco y el norte húmedo (Figura 11C) y que para el año de 1997 no se tuvo un patrón espacial significativo que entrara en alguna clasificación. Para años de fase La Niña, en general se asocian al patrón espacial húmedo sobre todo el territorio (Figura 11A) y al patrón espacial de dipolo con el sur húmedo y el norte seco (Figura 11D). En la mayoría de los casos los patrones de SPI y los de anomalía de precipitación construidos con otras bases de datos coincidieron, pero hubo algunos casos que presentaron discrepancias, notamos que el año 1999 tuvo un patrón antisimétrico para SPI y anomalía de precipitación acumulada (CHIRPS), lo que lleva a la necesidad de tener más datos y criterios para decidir cuales resultados son los que están ligados a la realidad.

En la región sur de Guatemala perteneciente al *corredor seco centroamericano* (Gotlieb et al., 2019), notamos que la anomalía negativa de precipitación ($SPI < 0$) se presenta con una frecuencia dos veces

mayor que la anomalía positiva ($SPI > 0$), para los años analizados en la Figura 11; lo cual no sólo está ligado a la condición seca de la región, sino a una variabilidad mayor durante los modos encontrados con anomalía negativa en todo el país y con dipolo meridional positivo (Figura 11B y C).

En materia de cambio climático para Guatemala, se proyectan aumentos en la temperatura de hasta 3.5 °C para el año 2050 y de hasta 6 °C para fines de siglo, Esa es la previsión si se continuara con un crecimiento lineal como el obtenido de 1980 al 2010. La mayoría de los estudios estiman una disminución del 30% de la precipitación anual para finales del siglo en el peor de los escenarios. En general, los impactos potenciales en el clima se reflejan en sequías que podrían ser más prolongadas y épocas de lluvia menos cuantiosas, pero más intensas (García Oliva, 2018; Rivera et al., 2020).

Suastegui y colaboradores (2019), concluyen que se espera que este fenómeno de la canícula se vea afectado a medida que la región de Centroamérica experimente un calentamiento diferencial mayor entre los océanos Pacífico y Atlántico (OP-OA) hacia fines del siglo XXI.

Agradecimientos

Al Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología de Guatemala por la proporción de los datos, así como a la empresa de Geingeniería, Agua y Ambiente 888, por contribuir con el análisis e interpretación de datos.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: todos los autores

Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: todos los autores

Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: todos los autores

Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: todos los autores

Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: todos los autores

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Adem, J. (1967). On the relations between outgoing long-wave radiation, albedo, and cloudiness. *Monthly Weather Review*, 95(5), 257-260. [https://doi.org/10.1175/1520-0493\(1967\)095<0257:OTR BOL>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0493(1967)095<0257:OTR BOL>2.3.CO;2)
- Durán-Quesada, A. M., Gimeno, L., & Amador, J. (2017). Role of moisture transport for Central American precipitation. *Earth System Dynamics*, 8(1), 147-161. <https://doi.org/10.5194/esd-8-147-2017>
- Durán-Quesada, A., Gimeno, L., Amador, J., & Nieto, R. (2010). Moisture sources for Central America: Identification of moisture sources using a Lagrangian analysis technique. *Journal of Geophysical Research*, 115, (D05). <https://doi.org/10.1029/2009JD012455>
- Funk, C., Peterson, P., Landsfeld, M., Pedreros, D., Verdin, J., Shukla, S., Husak, G., Rowland, J., Harrison, L., Hoell, A., & Michaelsen, J. (2015). The climate hazards infrared precipitation with stations-a new environmental record for monitoring extremes. *Scientific Data*, 2, Artículo 150066. <https://doi.org/10.1038/sdata.2015.66>
- Gallo, K. P., Easterling, D. R., & Peterson, T. C. (1996). The influence of Land Use/Land cover on climatological values of the diurnal temperature range. *Papers in Natural Resources*. 191. <http://digitalcommons.unl.edu/natrespapers/191>
- García Oliva, L. C. (2018). *Caracterización de la canícula en la región guatemalteca usando el modelo climático regional REGCM* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://ecfm.usac.edu.gt/sites/default/files/2018-11/Tesis%20Lilian%20Garc%C3%ADa.pdf>
- Gotlieb, Y., Pérez-Briceño, P. M., Hidalgo, H., & Alfaro, E. (2019). The Central American Dry Corridor: a consensus statement and its background. *Revista Yu'am*, 3(5), 42-51.
- Guijarro, J. A. (2018). *Homogenization of climatic series with Climatol*. State Meteorological Agency (AEMET). <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27020.41604>
- Guttman, N. B. (1999). Accepting the Standardized Precipitation Index: A calculation algorithm.

- Journal of the American Water Resources Association*, 35(2), 311-322.
- Liebmann, B., & Smith, C.A. (1996). Description of a Complete (Interpolated) Outgoing Longwave Radiation Dataset. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 77(6), 1275-1277.
- Herrera, E., Magaña, V., & Caetano E. (2015). Air–sea interactions and dynamical processes associated with the midsummer drought. *International Journal of Climatology*, 35(7), 1569-1578. <https://doi.org/10.1002/joc.4077>
- Instituto Nacional de Estadística. (2019). Principales Resultados. Encuesta Nacional de Empleo e Ingresos. <https://www.ine.gob.gt/sistema/uploads/2020/08/13/2020081353830FopQpWf6BcBWj8taVS3Q3mRKxgDsvwPe.pdf>
- Karl, T. R., Nicholls, N., & Ghazi, A. (1999). CLIVAR/GCOS/WMO workshop on indices and indicators for climate extremes: Workshop summary. *Climatic Change*, 42, 3-7. <https://doi.org/10.1023/A:1005491526870>
- Magaña, V., Amador, J., & Medina, S. (1999). The Midsummer Drought over Mexico and Central America. *Journal of Climate*, 12(6), 1577-1588. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(1999\)012<1577:TMDOMA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(1999)012<1577:TMDOMA>2.0.CO;2)
- Magaña, V., & Caetano, E. (2005) Temporal evolution of summer convective activity over the Americas warm pools. *Geophysical Research Letters*, 32, Artículo L02803. <https://doi.org/10.1029/2004GL021033>.
- Maldonado, T., Alfaro, E., Rutgersson, A., & Amador, J.A. (2017). The early rainy season in Central America: the role of the tropical North Atlantic SSTs. *International Journal of Climatology*, 37(9), 3731-3742. <https://doi.org/10.1002/joc.4958>
- Mestas-Núñez, A., Enfield, D., & Zhang, C. (2007). Water Vapor Fluxes over the Intra-Americas Sea: Seasonal and Interannual Variability and Associations with Rainfall. *Journal of Climate*, 20(9), 1910-1922. <https://doi.org/10.1175/JCLI4096.1>
- Ochoa, W. (2021). *Dinámica del uso de la tierra y la variabilidad climática en la subcuenca del río Panajachel, cuenca del lago de Atitlán, Sololá* [Tesis de doctorado inédita]. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Perdigón-Morales, J., Romero-Centeno, R., Barrett, B.S., & Ordonez, P. (2019). Intraseasonal Variability of Summer Precipitation in Mexico: MJO Influence on the Midsummer Drought. *Journal of Climate*, 32(8), 2313-2327. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-18-0425.1>
- Pérez, T. (2018). *Cambios de uso de suelo y de clima: Guatemala, un caso de estudio* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2018/enero/0769553/Index.html>
- Paulhus, J. L. H., & Kohler, M. A. (1952). Interpolation of missing precipitation records. Monthly Weather Review. *Journal of the Franklin Institute*, 80(8), 129-133. [https://doi.org/10.1016/0016-0032\(94\)90228-3](https://doi.org/10.1016/0016-0032(94)90228-3)
- Rivera, P., Ochoa, W., & Salguero, M. (2020). Escenarios de cambio climático para Guatemala, C.A. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, Programa de Doctorado en Cambio Climático y sostenibilidad..
- Rivera, P. (2021). *Variabilidad intraestacional de la precipitación en la región sur de Guatemala durante los 1980-2015, influenciada por la oscilación Madden-Julian* [Tesis de doctorado inédita]. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Rodriguez-Vera, G., Romero-Centeno, R., Castro, C.L., & Castro, V.M. (2019). Coupled Interannual Variability of Wind and Sea Surface Temperature in the Caribbean Sea and the Gulf of Mexico. *Journal of Climate*, 32(14), 4263-4280. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-18-0573.1>
- Small, R. J. O., Szoek, S. P. de, & Xie, S.-P. (2007). The Central American Midsummer Drought: Regional Aspects and Large-Scale Forcing. *Journal of Climate*, 20(19), 4853-4873. <https://doi.org/10.1175/JCLI4261.1>

- Suastegui, A., Franco, R., & Pavia, E. (2019). The mid-summer drought over Mexico and Central America in the 21st century. *International Journal of Climatology*, *40*(3), 1703-1715. <https://doi.org/10.1002/joc.6296>
- Zermeño-Díaz, D. M. (2019). The spatial pattern of midsummer drought as a possible mechanistic response to lower-tropospheric easterlies over the Intra-Americas Seas. *Journal of Climate*, *32*(24), 8687-8700. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-18-0528.1>
- Zhang, X., Hegerl, G., Zwiers, F. W., & Kenyon, J. (2005). Avoiding Inhomogeneity in Percentile-Based Indices of Temperature Extremes, *Journal of Climate*, *18*(11), 1641-1651. <https://doi.org/10.1175/JCLI3366.1>

Identificación molecular y diversidad genética de las especies de nematodos *Globodera rostochiensis* y *G. pallida* en regiones productoras de papa de Guatemala

Molecular identification and genetic diversity of the species of nematodes Globodera rostochiensis and G. pallida in potato growing regions of Guatemala

José A. Ruiz-Chután ^{1,2*}, Julio E. Berdúo-Sandoval ¹, Sergio Melgar³, Marie Kalousová ², Bohdan Lojka ², Eloy Fernández ², Jana Žiarovská ⁴, 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

³Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

⁴Department of Genetics and Plant Breeding, Research Centre AgroBioTech, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic.

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

Recibido: 05 de junio 2020 / Revisión: 15 de junio 2022 / Aceptado: 13 de octubre 2022

Resumen

En Guatemala, la producción del cultivo de papa se ve afectada por los nematodos *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*. La capacidad de ambas especies para formar quistes complica su control y provoca el aumento de sus poblaciones. En Guatemala se reporta la presencia de ambas especies de nematodos por identificación morfológica, sin embargo, no se ha realizado una confirmación molecular. Este es el primer estudio para validar la presencia de ambas especies de nematodos por PCR múltiple y la determinación de la diversidad y estructura genética de las poblaciones utilizando marcadores moleculares. Se realizaron muestreos en cuatro departamentos productores de papa del país. La identificación por PCR se realizó con el cebador común ITS5 y los cebadores PITSr3 específico para *G. rostochiensis* y PITSp4 para *G. pallida*. La caracterización molecular se realizó con el marcador AFLP. Se confirmó la presencia de las dos especies de nematodos en los cuatro departamentos. Los índices de diversidad Shannon y heterocigosidad esperada revelaron mayor diversidad genética en *G. rostochiensis* ($H = 0.311$, $He = 0.301$) que en *G. pallida* ($H = 0.035$, $He = 0.223$). Los métodos NJ, DAPC y PCA exhibieron una débil estructura entre las poblaciones de ambas especies de nematodos. Los resultados sugieren un patrón de dispersión desde Quetzaltenango hacia el resto del país, atribuido a la comercialización de semilla contaminada con nematodos. Se sugiere promover programas de socialización sobre los beneficios del uso de semilla certificada, además de constantes monitoreos moleculares para un diagnóstico certero de ambas especies de nematodos.

Palabras clave: PCR múltiple, nematodos formadores de quistes, diversidad genética, flujo genético, AFLP

Abstract

In Guatemala, potato crop production is affected by the nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. The ability of both species to form cysts complicates their control and causes an increase in their populations. In Guatemala, both species of nematodes have been reported by morphological identification; however, molecular confirmation has not been carried out. It is the first study to validate the presence of both nematode species by multiplex PCR and determine the diversity and genetic structure of the populations using molecular markers. Sampling was carried out in four potato-producing departments of the country. PCR identification was performed with the common primer ITS5 and the primers PITSr3 specific for *G. rostochiensis* and PITSp4 for *G. pallida*. We performed molecular characterization with the AFLP marker. We confirmed the presence of the two nematode species in the four departments. Shannon diversity and expected heterozygosity indices revealed higher genetic diversity in *G. rostochiensis* ($H = 0.311$, $He = 0.301$) than in *G. pallida* ($H = 0.035$, $He = 0.223$). The NJ, DAPC, and PCA methods exhibited weak structure among populations of both nematode species. The results suggest a dispersal pattern from Quetzaltenango to the rest of the country, attributed to the commercialization of seed contaminated with nematodes. We suggest promoting socialization programs on the benefits of using certified seeds and constant molecular monitoring for an accurate diagnosis of both species of nematodes.

Keywords: Multiplex PCR, cyst-forming nematodes, genetic diversity, gene flow, AFLP



Introducción

Después del maíz, arroz y trigo, la papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos alimenticios más importante a nivel mundial y más de la mitad de la producción proviene de países en desarrollo (Devaux et al., 2014). En Guatemala, la producción de papa es llevada a cabo principalmente por pequeños agricultores, quienes, en su mayoría, la destinan al autoconsumo y mercado nacional. Para el 2015, la distribución de la producción por departamentos se encontraba organizada entre Huehuetenango 32%, Quetzaltenango 23%, San Marcos 21%, Guatemala 6%, Sololá 4% y el resto de departamentos 14% abarcando un total de 30,000 manzanas y una producción de 11,872,600 quintales, generando 12,793 empleos permanentes (Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación [MAGA], 2016).

El cultivo de la papa es el principal hospedero de las especies de nematodos parásitos formadores de quistes *Globodera rostochiensis* (Woll) Behrens y *G. pallida* (Stone) Behrens (Flores-Choque et al., 2017; Santos et al., 1995). Estas dos especies de nematodos pueden ser devastadoras en los campos de producción del cultivo de la papa si no se controlan a tiempo, pudiendo llevar a los productores al abandono de los campos de cultivo (van de Vossen et al., 2014). Ambas especies de nematodos son consideradas entre las plagas más importantes en el cultivo de la papa por las pérdidas económicas generadas, las cuales alcanzan hasta el 12% de la producción mundial (Madani et al., 2010).

Las especies de nematodos *G. rostochiensis* y *G. pallida* son endoparásitos sedentarios que inducen sitios de alimentación modificados llamados sincitios cerca del tejido vascular en las células de la raíz (Sobczak et al., 2005). Se considera que ambas especies tienen capacidad de sobrevivir hasta por 30 años, incluso en ausencia de hospederos, debido a su capacidad de formar quistes (Ramírez-Suárez, 2014). La infección generada por ambas especies de nematodos causa crecimiento deficiente, amarillamiento, marchitamiento, deficiencias de nutrientes en campos muy infestados y acortamiento del sistema radicular (Gitty et al., 2011; Hajihassani et al., 2013).

En cuanto al centro de origen de ambas especies, se ha reportado a la región de los Andes al sur de Perú, desde donde se ha extendido hacia la mayoría de zonas productoras de papa alrededor del mundo (Grenier et al., 2010). Ambas especies de nematodos son conocidas por el daño que pueden causar al cultivo de papa, pero también por su alto potencial de dispersión (Alenda

et al., 2014; Plantard et al., 2008). Su capacidad de resistir la desecación, en la etapa de quiste, mejora considerablemente su capacidad de dispersión. Dadas las fuertes pérdidas económicas que pueden llegar a ocasionar, la especie *G. rostochiensis* ha sido cuarentenada en 106 países, mientras que la especie *G. pallida* ha sido cuarentenada en 52 países (Gamel et al., 2017).

Debido al impacto económico de estas especies de nematodos, es crucial un diagnóstico acertado a través de una identificación precisa. La identificación morfológica, basada en algunas características del segundo estado juvenil (J2) y del área perineal del quiste, ha sido utilizada, aunque con incertidumbre sobre la efectividad de los resultados (Seesao et al., 2016; Tirchi et al., 2016). A causa de la variabilidad de las principales características morfológicas y el traslape de los parámetros de diagnóstico en estas dos especies de nematodos, la identificación molecular por PCR es el método más recomendado (Powers, 2004; Quader et al., 2008). Actualmente, se han desarrollado variantes al PCR convencional a través del uso de PCR en tiempo real (Camacho et al., 2017; Nakhla et al., 2010), así como la identificación de patotipos mediante secuenciación (Mulyadi et al., 2014).

En el presente, existe un amplio interés por encontrar alternativas al uso de nematicidas, debido a sus impactos negativos al medio ambiente y salud humana (Kaur et al., 2016). Una de las alternativas es la utilización de genotipos de papa con resistencia genética, sin embargo, ambas especies de nematodos tienen diferentes espectros de virulencia que afectan de diversas formas los genes de resistencia (Da Conceição et al., 2003). Conocer la diversidad genética de las poblaciones de nematodos es imprescindible para advertir sobre variantes genéticas que pueden superar la protección que brindan los genes de resistencia introgresados a través de los programas de mejoramiento. Para esto, se han realizado estudios con diversos marcadores moleculares como RAPD (Chrisanfova et al., 2008), AFLP (Manduric & Andersson, 2003), SSR (Plantard et al., 2008), secuenciación de región ITS1 e ITS2 del rDNA (Nowaczyk et al., 2011) y secuenciación de genes nucleares para aproximaciones filogenéticas y (Tirchi et al., 2017) filogeográficas (Thevenoux et al., 2020).

En Guatemala existen registros morfológicos de la presencia de *G. rostochiensis* y *G. pallida*, reportándose densidades de hasta 5 quistes/g suelo en la región occidental. Esta situación representa un grave problema para los productores nacionales. Sin embargo, no se ha desarrollado un estudio de diversidad genética

de las poblaciones de ambas especies en las principales regiones de producción de papa a nivel nacional. Esta información es de vital importancia para el desarrollo de programas de mejoramiento en papa y para determinar como ha sido la dispersión de los nematodos, planteando así estrategias para su control. Por tanto, el objetivo de esta investigación fue realizar una confirmación molecular de la presencia de las especies *G. rostochiensis* y *G. pallida* por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y determinar la diversidad y estructura genética de las poblaciones de ambas especies de nematodos en las principales regiones productoras de papa del país.

Materiales y Métodos

Toma de muestras y extracción de quistes de *G. rostochiensis* y *G. pallida*

Durante los meses de abril a septiembre del 2019 se colectaron un total de 80 muestras de suelo distribuidas de la siguiente manera: departamento de Quetzaltenango, municipios de Concepción Chiquirichapa (diez),

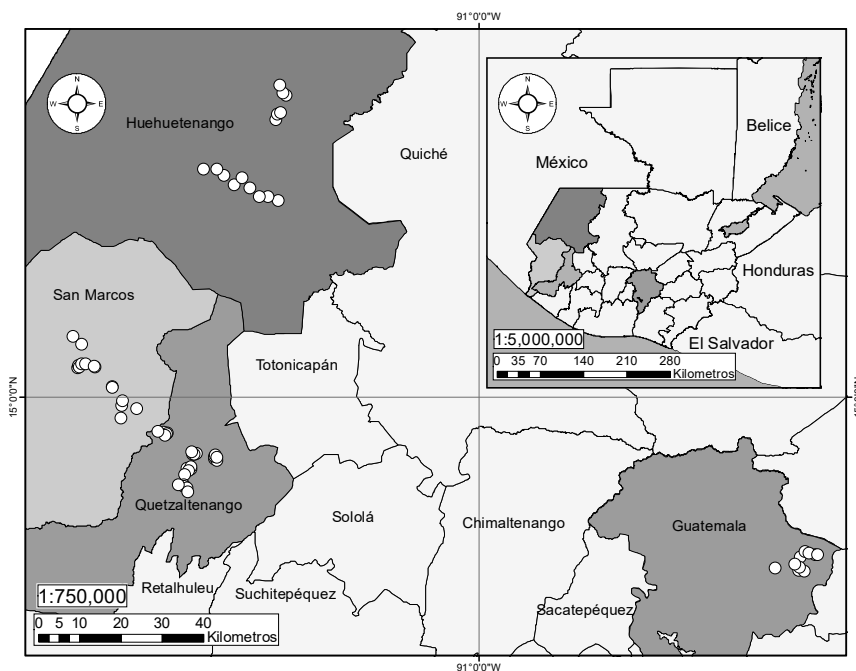
Palestina de los Altos (cinco), La Esperanza (siete), San Juan Ostuncalco (tres) y San Martín Sacatepéquez (cinco). Departamento de San Marcos, municipios de Tajumulco (cuatro), Ixchiguán (tres), San Marcos (ocho) y San Pedro Sacatepéquez (tres). Departamento de Huehuetenango, municipios de Chiantla (siete), San Juan Ixcoy (cuatro), San Pedro Soloma (cuatro) y Todos Santos Cuchumatán (cinco). Departamento de Guatemala, municipio de Palencia (doce) (Figura 1). Cada muestra fue tomada a una profundidad de 10 - 15 cm en el área de la rizófera del cultivo de papa empleando una pala previamente desinfectada con etanol al 70%. El suelo colectado fue depositado en bolsas plásticas estériles y transportado al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía, USAC en donde se realizó la extracción de los quistes por el método del flotador de Fenwick (1940). Posteriormente fueron secados y colocados en un tubo de 1.5 mL para ser almacenados a temperatura ambiente (Figura 2).

Extracción de ADN

Para la extracción del ADN se empleó el kit comercial Gentra® siguiendo la metodología propues-

Figura 1

Mapa de ubicación de las muestras colectadas en las zonas productoras de papa de la región occidental en los departamentos de Quetzaltenango, San Marcos y Huehuetenango; y la región central en el departamento de Guatemala



ta por el fabricante. Las extracciones se realizaron tomando 20 quistes por cada muestra. La calidad e integridad del ADN se determinó con el fluorómetro Quantus (Promega) y electroforesis en gel de agarosa al 0.8% con tampón Tris-Borato-EDTA (TBE) (1.0 M Tris-Borato, 20mM EDTA, pH 8.3) visualizado en transiluminador (Smart Blue E4000) con luz UV.

Identificación molecular de *G. rostochiensis* y *G. pallida*

Para la identificación molecular se realizó una PCR múltiple con el cebador común ITS5 (5'-GGAA-GTAAAAGTCGTAACAAGG-3') y el cebador específico para *G. rostochiensis* PITSr3 (5'-AGCGCAGACATGCCGCAA-3') y el cebador específico para *G. pallida* PITSp4 (5'-ACAACAGCAATCGTCGAG -3') por su alta especificidad en la identificación de ambas especies de nematodos (Bulman & Marshall, 1997). La PCR múltiple fue preparada para un volumen total de 25 μ L conteniendo 20mM Tris HCl (pH 8.3), 50mM KCl, 2mM MgCl₂, 0.16mM de cada dNTP, 0.25 μ M de cada cebador, 0.6 unidades de Taq polimerasa y

40 ng de ADN. Las condiciones para la PCR fueron las siguientes: 94 °C por 2 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 60 °C por 30s, 72 °C por 30 s y una extensión final de 72 °C por 5 min.

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 μ g/mL) en amortiguador TAE 1X, empleando un transiluminador de luz UV. Para la determinación del tamaño de los fragmentos obtenidos se utilizó un marcador de peso molecular de 3 kb (SibEnzyme Ltd.®). Las reacciones que generaron un fragmento de 434 pb fueron clasificadas como positivas para *G. rostochiensis*. Las reacciones que generaron un fragmento de 265 pb fueron clasificadas como positivas para *G. pallida*. Las reacciones que generaron un fragmento de 434 y 265 pb fueron clasificadas como positivas para ambas especies (Figura 3).

Las muestras de ADN que resultaron positivas para ambas especies en una misma PCR múltiple, fueron descartadas para el protocolo de AFLP para evitar que existiera mezcla de ADN de dos especies en una misma muestra.

Figura 2

Quistes de G. rostochiensis y G. pallida extraídos de campos de producción del cultivo de papa en el departamento de Quetzaltenango. Quistes remarcados dentro de cuadrados son ejemplos de G. rostochiensis. Quistes remarcados dentro de círculos son ejemplos de G. pallida

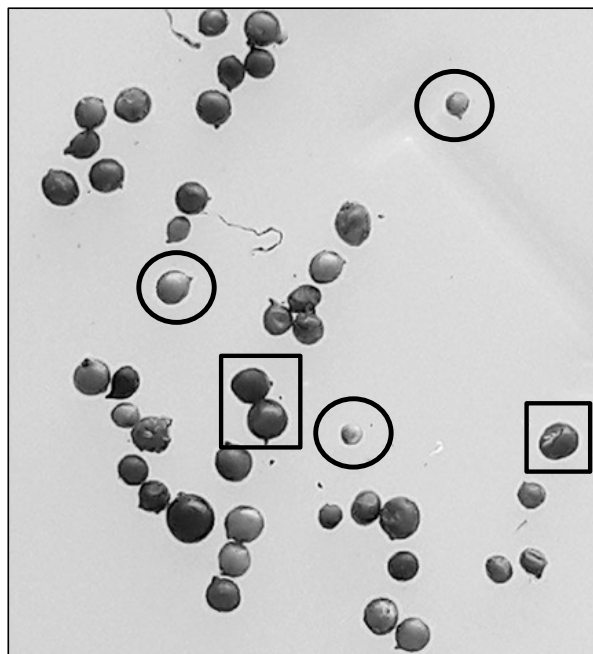
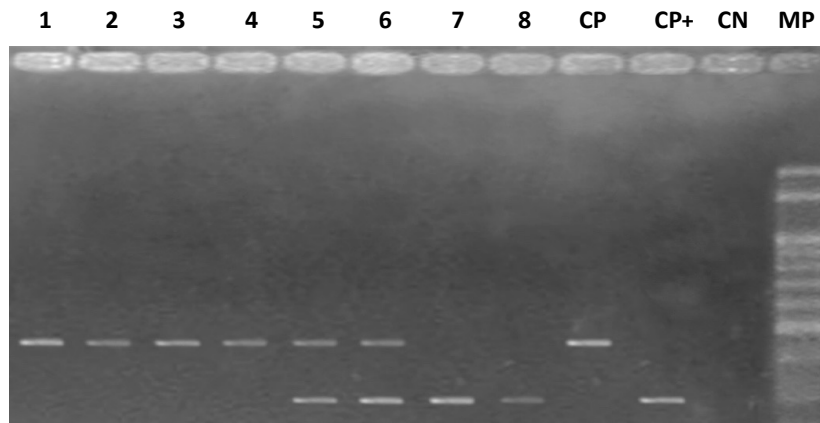


Figura 3

Productos amplificados por PCR con el cebador común ITS5 y el cebador PITsR3 específico para *G. rostochiensis* y el cebador PITSp4 específico para *G. pallida*



Nota. Carriles 1 – 4 muestras positivas para *G. rostochiensis* provenientes de Quetzaltenango, San Marcos, Huehuetenango y Guatemala respectivamente. Carriles 5 – 6 muestras positivas para *G. rostochiensis* y *G. pallida* provenientes de Quetzaltenango y Huehuetenango. Carriles 7 – 8 muestras positivas para *G. pallida* provenientes de San Marcos y Quetzaltenango. CP = control positivo para *G. rostochiensis*. CP+ = control positivo para *G. pallida*. CN = control negativo (agua bidestilada estéril). MP = marcador de peso molecular DNA Ladder 3 Kb (SibEnzyme Ltd.®).

Protocolo de AFLP para análisis de diversidad genética

Para realizar el genotipado de las muestras se utilizó el marcador molecular AFLP (Vos et al., 1995) siguiendo el protocolo descrito por Marché y colaboradores (2001) utilizando los cebadores E-TC + M-CAG durante la amplificación selectiva. Los productos de la PCR selectiva se visualizaron en un gel de poliacrilamida al 5% para poder observar las bandas amplificadas. La tinción del gel se realizó con nitrato de plata (Karam et al., 2006). El gel se dejó secar por 2 días y posteriormente se realizó la lectura del perfil de las bandas.

Análisis de datos

Delimitación molecular de *G. rostochiensis* y *G. pallida*

Para confirmar la presencia de ambas especies de *Globodera*, se creó una matriz binaria de presencia (1) ausencia (0) para cada uno de los loci amplificados a partir del perfil de bandas obtenido del gel de

poliacrilamida. La matriz se exportó al programa Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis Past v3.18 (Ryan et al., 2001) para generar un dendrograma tipo Neighbor-Joining (NJ) (Saitou & Nei, 1987) basado en la distancia genética de Dice y visualizado con el programa FigTree v1.4.3 (Rambaut, 2008).

La delimitación molecular de *G. rostochiensis* y *G. pallida* obtenida por el método NJ, se corroboró con un análisis discriminante de componentes principales (DAPC) (Jombart et al., 2010). El procedimiento utilizó la función `find.cluster` para identificar el número óptimo de grupos genéticos (K) con el método del codo a través del Criterio de Información Bayesiana (BIC) empleando el paquete `adegenet` v.2.1.6 (Jombart, 2008). Los grupos obtenidos se visualizaron con un diagrama de densidad sobre la primera función discriminante y un gráfico de barras exhibiendo el grado de ascendencia genética a cada grupo dado por la probabilidad posterior del DAPC.

Diversidad genética inter e intra-específica

La matriz binaria fue convertida en un objeto de clase `genind` utilizando el paquete `poppr` v.2.9.3

(Kamvar et al., 2014) implementado en el programa R v.4.2.0 (R Core Team, 2022). Para determinar la diversidad genética inter e intra-específica se calcularon los índices de diversidad de Shannon (H), Simpson (λ) y heterosigosidad esperada (He) (diversidad de Nei) con el paquete poppr. El porcentaje de loci polimórficos (PLP) y número de alelos diferentes (Na) fueron estimados con el programa GenoDive v3.0 (Meirmans, 2020).

Estructura genética de las poblaciones

Para explorar la estructura de las poblaciones de cada especie, se generaron dendrogramas de tipo NJ de cada una de las especies de nematodos siguiendo la metodología antes descrita. Para comparar la estructura genética obtenida con el NJ se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con el paquete ade4 v.1.7 (Bougeard & Dray, 2018). También se empleó un DAPC con la información a priori de los sitios de muestreo utilizando la función dapc del paquete adegenet. El número correcto de componentes principales y funciones discriminantes retenidas se confirmó con una función de validación cruzada (Xval.dapc).

Diferenciación poblacional

La diferenciación genética de las poblaciones de cada especie se exploró más a fondo mediante el análisis de varianza molecular (AMOVA) implementado en el paquete poppr. Los componentes de covarianza se utilizaron para calcular los índices de fijación Φ y la diferenciación de poblaciones (Grünwald & Hoheisel, 2006). La significancia se evaluó con una prueba de aleatorización utilizando 10,000 permutaciones. Para evaluar el aislamiento por distancia, se aplicó la prueba de mantel sobre las matrices de distancias genéticas y geográficas utilizando 10,000 permutaciones con el paquete ade4 v.1.7 (Bougeard & Dray, 2018). La diferenciación de poblaciones por pares se examinó con el índice Φ_{PT} con 10,000 permutaciones en el paquete mmod v.1.3.3 (Winter, 2012).

Resultados

De las muestras analizadas para la identificación molecular de las dos especies de nematodos con la PCR múltiple, 47 fueron positivas solo para *G. rostochiensis*, 18 fueron positivas solo para *G. pallida* y 15 fueron positivas para ambas especies. Las muestras positivas

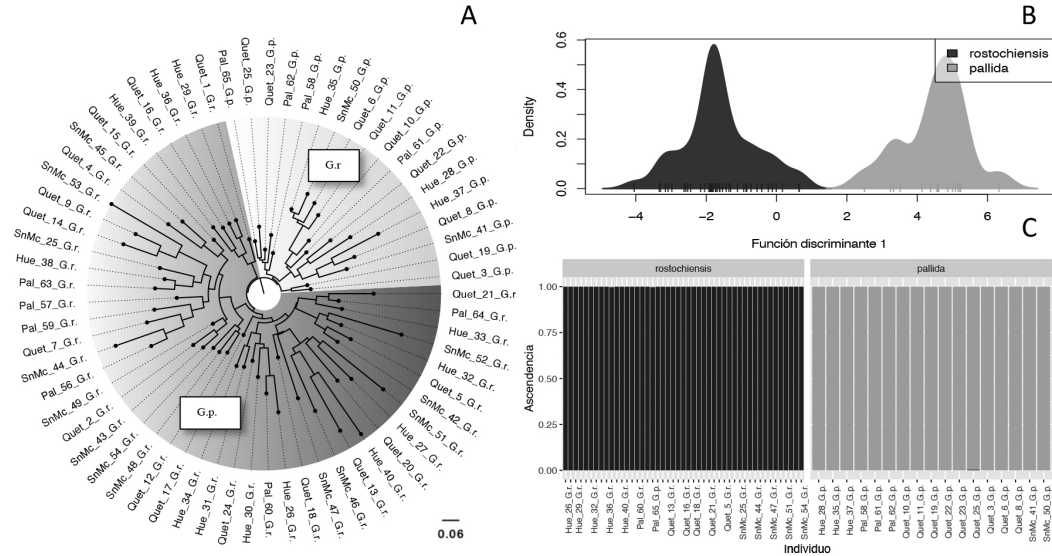
para *G. rostochiensis* amplificaron bandas de 434 pb y para *G. pallida* las bandas amplificadas fueron de 265 pb (Figura 3). En el departamento de Quetzaltenango 16 muestras fueron positivas solo para *G. rostochiensis*, 9 fueron positivas solo para *G. pallida* y 5 fueron positivas para ambas especies. En el departamento de San Marcos 13 muestras fueron positivas solo para *G. rostochiensis*, 2 fueron positivas solo para *G. pallida* y 3 fueron positivas para ambas especies. En el departamento de Huehuetenango 12 muestras fueron positivas solo para *G. rostochiensis*, 3 fueron positivas para *G. pallida* y 4 fueron positivas para ambas especies. En el departamento de Guatemala 6 muestras fueron positivas solo para *G. rostochiensis*, 4 fueron positivas solo para *G. pallida* y 3 fueron positivas para ambas especies.

El análisis de delimitación molecular permitió identificar dos grupos principales a partir del dendrograma NJ, los cuales correspondieron a cada una de las especies de nematodos en este estudio. El grupo G.r. reunió a todas las muestras correspondientes a *G. rostochiensis*, mientras que el grupo G.p. reunió a todas las muestras de *G. pallida* (Figura 4A). El método DAPC fue consistente con los resultados obtenidos con el dendrograma NJ al sugerir la presencia de dos grupos ($K = 2$) que se ajustaron a las dos especies de nematodos (Figura 4B). Las probabilidades posteriores de ascendencia a cada grupo corroboraron la presencia de ambas especies y la efectividad del DAPC para la delimitación de las dos especies (Figura 4C). En ambas especies de nematodos, el dendrograma NJ mostró una tendencia a la asociación de las muestras provenientes del occidente del país. También se observó una tendencia similar con las muestras provenientes del municipio de Palencia. Para el caso de las muestras provenientes del departamento de Quetzaltenango, se observó mayor grado de dispersión en comparación a los otros departamentos (Figura 4A).

La exploración de la diversidad genética de las especies de nematodos mostró que *G. rostochiensis* presenta mayor diversidad que *G. pallida*. La especie *G. rostochiensis* exhibió valores de PLP, Na, H, λ y He de 86, 1.720, 0.311, 0.970 y 0.301, respectivamente. La especie *G. pallida* mostró valores de PLP (64), Na (1.30), H (0.035), λ (0.941) y He (0.223) (Tabla 1). A nivel de *G. rostochiensis* la población de Quetzaltenango mostró el mayor valor de Na (1.120) y λ (0.938), mientras que la población de San Marcos presentó el mayor valor de H (0.357) y He (0.358). La población de palencia mostró los valores más bajos para todos los

Figura 4

Delimitación molecular de la especie *G. rostochiensis* y *G. pallida* a partir de la caracterización con el marcador molecular AFLP



Nota. Basada en Panel A: Dendrograma Neighbor-Joining (NJ). Panel B: Diagrama de distribución de densidades del análisis discriminante de componentes principales (DAPC). Panel C: Gráfico de barras que exhibe la probabilidad posterior de asignación a cada especie identificada por el DAPC. Al nombre de cada muestra se antepuso el sitio de colecta para facilitar su ubicación geográfica, Quet = Quetzaltenango, SnMc = San Marcos, Hue = Huehuetenango, Pal = Palencia; y la terminación G.r o G.p para indicar *G. rostochiensis* o *G. pallida*, respectivamente.

Tabla 1

Medidas de la diversidad genética de las especies *G. rostochiensis* y *G. pallida* y sus respectivas poblaciones

		N	PLP	Na	H	λ	He
Especie	<i>G. rostochiensis</i>	47	86	1.720	0.311	0.979	0.301
	<i>G. pallida</i>	17	64	1.300	0.252	0.941	0.223
	Total	64	75	1.510	0.340	0.984	0.291
<i>G. rostochiensis</i>	Población						
	Palencia	7	54	0.580	0.273	0.857	0.301
	Quetzaltenango	16	66	1.120	0.281	0.938	0.291
	San Marcos	13	80	0.360	0.357	0.923	0.358
	Huehuetenango	12	60	0.460	0.247	0.917	0.252
Total	48	65	0.630	0.289	0.979	0.301	
<i>G. pallida</i>	Población						
	Palencia	8	20	1.120	0.012	0.575	0.204
	Quetzaltenango	3	54	1.600	0.245	0.867	0.308
	San Marcos	3	14	1.304	0.085	0.5	0.219
	Huehuetenango	3	20	1.200	0.108	0.667	0.248
Total	17	27	1.315	0.137	0.938	0.298	

Nota. N= número de muestras analizadas, PLP = porcentaje de loci polimórficos, Na = número de alelos diferentes, H = índice de diversidad de Shannon, λ = índice de diversidad de Simpson, He = heterocigosidad esperada (diversidad genética de Nei)

índices de diversidad genética (Tabla 1). A nivel de *G. pallida* la población de Quetzaltenango presentó los valores más elevados de PLP (54), Na (1.6), H (0.245), λ (0.867) y He (0.308). Por otra parte, la población de Palencia exhibió los menores valores de Na (1.12), H (0.012), λ (0.575) y He (0.204).

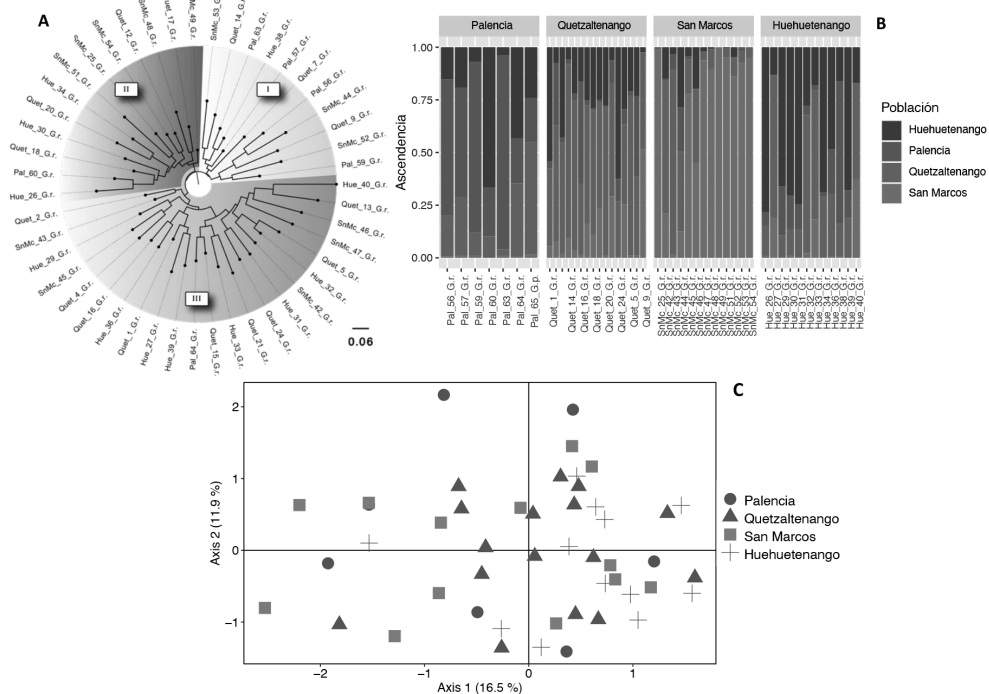
Respecto a la estructuración genética de las poblaciones de *G. rostrchiensis*, se identificaron 3 grupos principales en el dendrograma NJ (Figura 5A). El grupo I incluyó once muestras. La mayor parte de estas provinieron del municipio de Palencia, con la presencia de algunas muestras de la región occidental. El grupo II y III incluyeron 36 muestras provenientes de la región occidental con los departamentos de Quetzaltenango, San Marcos y Huehuetenango. La excepción fueron 2 muestras provenientes del municipio de Palencia. El DAPC exhibió una baja estructuración en las poblaciones al identificar que la probabilidad posterior de ascendencia de cada muestra está compuesta por una considerable mezcla de las diferentes poblaciones geográficas (Figura 5B). En el PCA, los dos

primeros ejes acumularon 28.4% de la variación total y las muestras se agruparon independientemente del origen geográfico (Figura 5C) confirmando el patrón identificado con el dendrograma NJ y DAPC.

De igual manera, en el análisis NJ para *G. pallida* también se identificaron 3 grupos principales (Figura 6A). El grupo I se conformó de cuatro muestras provenientes del municipio de Palencia y algunas muestras de Quetzaltenango. Los otros dos grupos incluyeron nueve muestras del occidentes del país con los departamentos de Quetzaltenango, San Marcos y Huehuetenango. La probabilidad posterior de ascendencia de cada muestra a su población geográfica de origen identificada por el DAPC, nuevamente mostró una débil estructuración de las poblaciones analizadas (Figura 6B) al igual que el dendrograma NJ. Los dos primeros ejes del PCA acumularon el 35.7% de la variación total y la mayoría de las muestras no mostraron un patrón de asociación hacia su origen geográfico (Figura 6C) reafirmando la disposición identificada en el dendrograma NJ y DAPC.

Figura 5

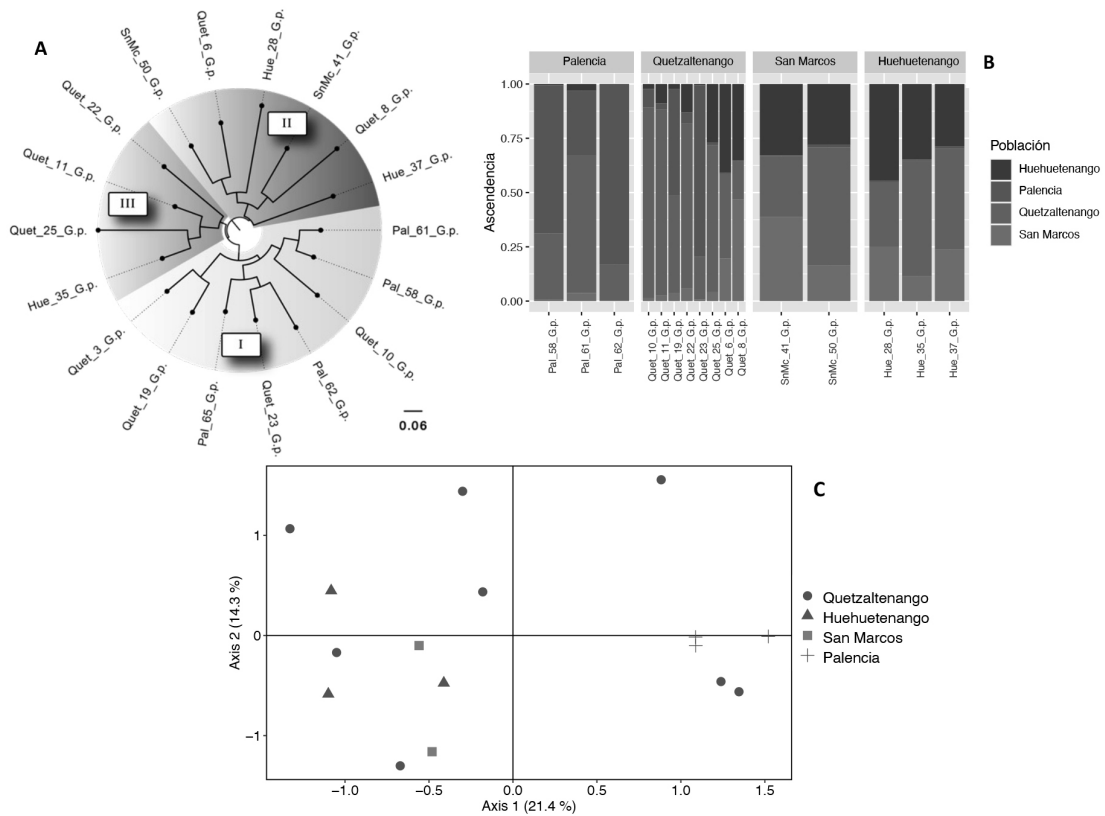
Estructura genética de las poblaciones de G. rostrchiensis



Nota. Basada en Panel A: Dendrograma Neighbor-Joining (NJ). Panel B: Asignación de probabilidades de cada muestra obtenida con el análisis discriminante de componentes principales (DAPC). Panel C: Diagrama de dispersión del análisis de componente principales (PCA). Los grupos diferenciados dentro del dendrograma están identificados como I, II y III.

Figura 6

Estructura genética de las poblaciones de *G. pallida*



Nota. Basada en Panel A: Dendrograma Neighbor-Joining (NJ). Panel B: Asignación de probabilidades de cada muestra obtenida con el análisis discriminante de componentes principales (DAPC). Panel C: Diagrama de dispersión del análisis de componente principales (PCA). Los grupos diferenciados dentro del dendrograma están identificados como I, II y III

La baja estructura de las poblaciones en ambas especies fue confirmada con el análisis de diferenciación poblacional a través del AMOVA. Para el caso de *G. rostochiensis* el AMOVA indicó que la diversidad genética ocurre mayormente dentro de las poblaciones (98.6%) y solamente 1.4% de la variación se presenta entre las poblaciones. El estadístico Φ_{PT} utilizado para estimar la divergencia entre poblaciones, mostró un valor bajo (0.001) y no significativo ($p > .05$) (Tabla 2). El análisis de diferenciación genética por comparación pareada confirmó la ausencia de divergencia poblacional en *G. rostochiensis* ya que ninguna comparación fue estadísticamente significartiva ($p > .05$) (Tabla 3).

En cuanto a *G. pallida*, el AMOVA indicó que la diversidad genética también se presenta mayormente

dentro de las poblaciones (96%) y solamente 4% de la variación es exhibida entre las poblaciones. Al igual que *G. rostochiensis*, el análisis de diferenciación genética por comparación pareada confirmó la ausencia de divergencia poblacional en *G. pallida* ya que no hubo comparación estadísticamente significativa ($p > .05$) (Tabla 4). Esta situación sugiere un alto flujo genético entre las poblaciones en ambas especies de nematodos. El análisis de aislamiento por distancia a través de la prueba de mantel no mostró una correlación significativa ($p > .05$) entre la distancia geográfica y genética para las poblaciones en ambas especies de nematodos, confirmando la ausencia de estructura poblacional y el alto flujo genético entre poblaciones.

Tabla 2*Detalle del análisis molecular de varianza AMOVA*

Nivel jerárquico	Suma de cuadrado	Componente de la varianza	Porcentaje de variación	Φ Phi	<i>p</i>
<i>G. rostochiensis</i>					
Entre poblaciones	19.285	0.03	1.4	$\Phi_{PT} = 0.001$.502
Dentro de poblaciones	284.798	6.473	98.6		
<i>G. pallida</i>					
Entre poblaciones	16.317	0.218	4	$\Phi_{PT} = 0.045$.266
Dentro de poblaciones	60.389	4.645	96		

Tabla 3

Análisis de diferenciación por comparación pareada de poblaciones de G. rostochiensis. Valores por debajo de la diagonal indican la magnitud de diferenciación (Φ_{PT}). Valores por encima de la diagonal indican el valor de probabilidad

Población	Palencia	Quetzaltenango	San Marcos	Huehuetenango
Palencia	--	0.430	0.428	0.337
Quetzaltenango	0.000	--	0.452	0.464
San Marcos	0.000	0.000	--	0.260
Huehuetenango	0.012	0.000	0.051	--

Tabla 4

Análisis de diferenciación por comparación pareada de poblaciones de G. pallida. Valores por debajo de la diagonal indican la magnitud de diferenciación (Φ_{PT}). Valores por encima de la diagonal indican el valor de probabilidad

Población	Palencia	Quetzaltenango	San Marcos	Huehuetenango
Palencia	--	0.157	0.079	0.090
Quetzaltenango	0.075	--	0.367	0.483
San Marcos	0.259	0.000	--	0.466
Huehuetenango	0.341	0.000	0.000	--

Discusión

El marcador molecular AFLP fue utilizado debido a la alta capacidad en la identificación de regiones polimórficas en estudios de diversidad genética de ambas especies de nematodos (Marché et al., 2001; Qin et al., 2000). Por otra parte, con los datos obtenidos en la identificación molecular, se confirma la presencia de ambas especies de nematodos en el país, las cuales habían sido previamente descritas mediante caracterización morfológica. Con esto se valida la eficiencia de los cebadores específicos para la identificación precisa de las dos especies de nematodos (Gorgadze et al., 2019).

Los resultados moleculares de la investigación, replican las experiencias reportadas en otros estudios donde se ha confirmado la presencia de ambas especies de nematodos como Costa Rica (García et al., 2009) Venezuela, (Casanova et al., 2012), Canadá (Mimee et al., 2017) y Portugal (Camacho et al., 2017) entre otros ejemplos. Cabe mencionar que, la identificación molecular para ambas especies de nematodos, dada su importancia a nivel mundial, es recomendada por la Organización Europea y Mediterránea de Protección Vegetal (EPPO, 2017).

Los resultados mostraron que 15 de las 80 muestras analizadas manifiestan la presencia de ambas especies de nematodos. Esto se relaciona con la problemática que viven los agricultores ya que, al no ser especies antagonistas, cada una desarrolla su ciclo, incrementando el número de quistes hasta el punto de infestación completa de las áreas (Douda et al., 2014; Gamel et al., 2017). Cuando esto sucede, el tubérculo de papa experimenta una reducción severa en su tamaño, por lo que no es posible su comercialización y genera pérdidas económicas significativas a los productores. Además, la presencia de poblaciones de ambas especies, supone una fuerte problemática al emplear variedades de papa con resistencia a solo una de las especies (Tirchi et al., 2017). A nivel nacional, se dispone de materiales resistentes únicamente a *G. rostochiensis*, lo que representa una debilidad en la estrategia de control de *G. pallida*.

Los diferentes índices de diversidad revelaron que existen una alta diversidad genética en cada una de las especies analizadas, así como una mezcla de alelos entre las poblaciones, deducido a partir de la débil estructuración genética identificada. La diversidad genética en las poblaciones *G. rostochiensis* ($He = 0.252 - 0.358$, $PLP = 54 - 80$) fue similar a la reportada en poblaciones rusas ($He = 0.14 - 0.23$,

$PLP = 44 - 96$) (Chrisanfova et al., 2008), lo cual coincide con el hecho de que en ambos casos la especie ha sido introducida y los valores de diversidad son propios de un efecto fundador. Por otra parte, las poblaciones de *G. pallida* exhibieron valores de diversidad genética ($He = 0.204 - 0.308$) menores a la reportada en poblaciones peruanas ($He = 0.59 - 0.70$) (Montarry et al., 2019). Esta situación se explica debido a que el centro de origen de *G. pallida* se ubica en la región andina entre Perú, Chile y Bolivia (Grenier et al., 2010) por lo que los índices de diversidad son mayores debido a la existencia de una mayor cantidad de variantes alélicas.

El análisis de estructura poblacional permitió establecer algunos patrones y escenarios sobre la dispersión de las especies de nematodos en las poblaciones de estudio. En ambas especies se observó una alta similitud genética y tendencia al agrupamiento de las muestras de la región central, aunque con inclusión de muestras del occidente del país. Por otra parte, la mayoría de las muestras de occidente de los departamentos de Huehuetenango y San Marcos mostraron cercanía genética. Sin embargo, las muestras del departamento de Quetzaltenango fueron las más dispersas, encontrándose relacionadas con los otros departamentos, lo que significa que existen alelos que han sido compartidos desde este punto hacia el resto de las poblaciones debido al flujo genético. Respecto a esta situación, cabe mencionar que la habilidad de dispersión de los nematodos por sí solos, es baja (Cantalapiedra-Navarrete et al., 2014; Roux et al., 2016). Esto deja al factor humano como el principal responsable de la dispersión de ambas especies de nematodos (Alenda et al., 2014). Este escenario se confirmó a través de los análisis de aislamiento por distancia, el cual indicó la ausencia de una correlación significativa entre la distancia genética y geográfica, así como el análisis de diferenciación poblacional que mostró la falta de divergencia genética entre las poblaciones de ambas especies de nematodos. Esto sugiere que las poblaciones analizadas de ambas especies de nematodos pueden considerarse como metapoblaciones.

El alto grado de mezcla en los sitios de procedencia de las muestras propone una débil estructura poblacional debido a un constante flujo genético entre las poblaciones analizadas, evidenciando la dispersión de los nematodos entre las zonas muestreadas (Picard et al., 2004). Para ambas especies fue común observar la presencia de muestras de Quetzaltenango en los grupos formados por los dendrogramas, DAPC y PCA. Esto se debe a que Quetzaltenango es el mayor distribuidor

de semilla a nivel nacional, no obstante, basado en las observaciones de campo durante la toma de muestras, es frecuente el incumplimiento de las normas y regulaciones fitosanitarias para la producción de semilla certificada. De este modo, la distribución de semilla contaminada con nematodos, desde este punto al resto del país, es el principal mecanismo de dispersión de *G. rostochiensis* y *G. pallida*. Esto es lo que ha ocasionado la escasa diferenciación genética de las poblaciones identificada en los análisis de estructuración.

Esta situación aumenta el riesgo del incremento en la diversidad genética de las poblaciones de ambos nematodos, ya que además de la mutación como fuente de incremento de diversidad, el flujo genético introduce alelos nuevos a las poblaciones. Por esta razón, es fundamental reducir al mínimo la conectividad genética entre las poblaciones con el objetivo de evitar el desarrollo de variantes genéticas más virulentas y con el potencial de superar la resistencia de los genotipos de papa. Este hecho también resalta la importancia de apoyar los programas de mejoramiento de papa a nivel nacional, ya que los genotipos desarrollados en otros países pueden ser susceptibles a la variantes genéticas de *G. rostochiensis* y *G. pallida* desarrolladas en las poblaciones guatemaltecas.

El fenómeno de dispersión, entre las poblaciones de estas dos especies de nematodos, también ha sido reportado en otros estudios con marcadores moleculares en poblaciones de América del Sur, Reino Unido y Turquía (Hoolahan et al., 2012; Toktay et al., 2020). Es importante mencionar que las principales zonas de producción de papa en Guatemala se ubican en las regiones occidental y central, las cuales están geográficamente distantes por aproximadamente 200 - 300 km. Esto remarca la acción antropogénica en la dispersión de *G. rostochiensis* y *G. pallida*.

La determinación de la diversidad genética en las poblaciones de nematodos es un factor determinante para el planteamiento de programas de mejoramiento de papa que, en conjunto con otras prácticas de control, ayudan a mitigar el daño de estos nematodos (Bhardwaj et al., 2012; López et al., 2015). Tras confirmar la presencia y determinar la estructura y diversidad genética de las poblaciones de *G. rostochiensis* y *G. pallida* en el país, es importante realizar esfuerzos, a través de instituciones especializadas, para capacitar a los productores de semilla en la implementación de tecnologías que mejoren los estándares fitosanitarios. Con esto se reducirá el riesgo de la comercialización de semilla de papa contaminada con las especies de

nematodos formadores de quistes. Por último, es fundamental remarcar que el flujo genético entre las poblaciones de nematodos promueve el aumento de la diversidad genética al propiciar el intercambio de alelos que pueden dar origen a nuevas variantes genéticas más agresivas y difíciles de controlar. Ante esta situación, es fundamental minimizar la dispersión de los nematodos y para esto se sugiere el desarrollo de programas que promuevan el uso de semilla de papa certificada libre de nematodos. Además, para garantizar que se están estableciendo medidas que eviten la dispersión de los nematodos y otras enfermedades asociadas al cultivo de papa, se debe continuar con los monitoreos moleculares para evaluar los patrones de dispersión.

Agradecimientos

A la Dirección General de Investigación (Digi) por financiar la presente investigación a través de la partida presupuestaria 4.8.63.4.48.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: JAR-C, JEB-S, AS-P, SM

Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: JAR-C, JEB-S, ASP

Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: JAR-C, JEB-S

Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: JAR-C, MK, BL

Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: JAR-C, JEB-S, SM, JZ, EF, ASP

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

Alenda, C., Montarry, J., & Grenier, E. (2014). Human influence on the dispersal and genetic structure of French *Globodera tabacum* populations. *Infection, Genetics and Evolution*, 27, 309-317. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.07.027>

- Bhardwaj, V., Umamaheshwari, R., Sharma, R., Kaushik, S. K., Joseph, T. A., Singh, B. P., & Gebhardt, C. (2012). Potato cyst nematode (PCN) resistance: Genes, genotypes and markers- an update. *Journal of Breeding and Genetics*, *44*(2), 202-228.
- Bougeard, S., & Dray, S. (2018). Supervised multiblock analysis in R with the ade4 package. *Journal of Statistical Software*, *86*(1), 1-17. <https://doi.org/10.18637/jss.v086.i01>
- Bulman, S., & Marshall, J. (1997). Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, *25*(123-129).
- Camacho, M., Nóbrega, F., Lima, A., Mota, M., & Inácio, M. (2017). Morphological and molecular identification of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in Portuguese potato fields. *Nematology*, *19*(8), 883-889. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003094>
- Cantalapiedra-Navarrete, C., Castillo, P., & Palomares-Rius, J. E. (2014). Cryptic species in plant-parasitic nematodes. *Nematology*, *16*(10), 1105-1118. <https://doi.org/10.1163/15685411-00002831>
- Casanova, M., Jiménez-Pérez, N., Hernández, A., & Crozzoli, R. (2012). Especies de *Globodera* asociadas con el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en Venezuela. *Fitopatología Venezolana*, *16*(1), 16-23.
- Chrisanfova, G., Charchevnikov, D., Popov, I., Zinovieva, S., & Semyenova, S. (2008). Genetic variability and differentiation of three Russian populations of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Russian Journal of Genetics*, *44*(5), 533-538. <https://doi.org/10.1134/S1022795408050049>
- Da Conceição, I. L. P. M., Dos Santos, M. C. V., De Olivereria Abrantes, I. M., & De Almeida Santos, M. S. N. (2003). Using RAPD markers to analyse genetic diversity in Portuguese potato cyst nematode populations. *Nematology*, *5*(1), 137-143. <https://doi.org/https://doi.org/10.1163/156854102765216759>
- Devaux, A., Kromann, P., & Ortiz, O. (2014). Potatoes for sustainable global food security. *Potato Research*, *57*(3-4), 185-199. <https://doi.org/10.1007/s11540-014-9265-1>
- Douda, O., Zouhar, M., Renčo, M., & Marek, M. (2014). Molecular and morphological exploration of a mixed population of two potato-parasiting nematode species, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Helminthologia*, *51*(1), 3-6. <https://doi.org/10.2478/s11687-014-0201-3>
- EPPO. (2017). PM 7/40 (4) *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *EPPO Bulletin*, *47*(2), 174-197. <https://doi.org/10.1111/epp.12391>
- Fenwick, D. W. (1940). Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*, *18*(4), 155-172. <http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X00031485>
- Flores-Choque, Y. Y., Bravo, R., Lima, I., & Machaca, C. (2017). Prospección de nematodos fitoparásitos en cultivo de papa (*Solanum Tuberosum* L.) de la región Puno. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, *19*(1), 11-20. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.251>
- Gamel, S., Letort, A., Fouville, D., Folcher, L., & Grenier, E. (2017). Development and validation of real-time PCR assays based on novel molecular markers for the simultaneous detection and identification of *Globodera pallida*, *G. rostochiensis* and *Heterodera schachtii*. *Nematology*, *19*(7), 789-804. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003086>
- García, D., García, C., Montero, Z., Salazar, L., & Brenes, A. (2009). Morphological and molecular identification of potato cyst-forming nematode *Globodera pallida* in soil samples from Costa Rica. *Revista Latinoamericana de la Papa*, *15*(1), 38-45.
- Gitty, M., Tanha maafi, Z., Arjmandian, A., & Pishavar, S. (2011). Occurrence of potato golden cyst nematode in Iran and its distribution in Hamedan province. *Agricultural Biotechnology*, *2*(1), 53-61.
- Gorgadze, O., Gaganidze, D., Nazarashvili, N., Abashidze, E., & Gvritishvili, E. (2019). Identification of potato cyst nematodes

- (*Globodera rostochiensis*, *Globodera pallida*) spread in Samtskhe - Javakheti and Samegrelo - Zemo Svaneti regions of Georgia. *International Journal of Development Research*, 9(5), 27669-27673.
- Grenier, E., Fournet, S., Petit, E., & Anthoine, G. (2010). A cyst nematode “species factory” called the Andes. *Nematology*, 12(2), 163-169. <https://doi.org/10.1163/138855409X12573393054942>
- Grünwald, N. J., & Hoheisel, G. A. (2006). Hierarchical analysis of diversity, selfing, and genetic differentiation in populations of the oomycete *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology*, 96(10), 1134-1141. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1134>
- Hajihassani, A., Ebrahimian, E., & Hajihassani, M. (2013). Estimation of yield damage in potato caused by Iranian population of *Globodera rostochiensis* with and without aldicarb under greenhouse conditions. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15(2), 352-356.
- Hoolahan, A. H., Blok, V. C., Gibson, T., & Downton, M. (2012). A comparison of three molecular markers for the identification of populations of *Globodera pallida*. *Journal of Nematology*, 44(1), 7-17.
- Jombart, T. (2008). ADEGENET: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403-1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11, Artículo 94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Kamvar, Z. N., Tabima, J. F., & Grünwald, N. J. (2014). Poppr: An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, 2, Artículo e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Karam, D., Westra, P., Niessen, S. J., Ward, S. M., & Figueiredo, J. E. F. (2006). Assessment of silver-stained AFLP markers for studying DNA polymorphism in proso millet (*Panicum miliaceum* L.). *Revista Brasileira de Botânica*, 29(4), 609-615. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000400011>
- Kaur, T., Jasrotia, S., Ohri, P., & Manhas, R. K. (2016). Evaluation of in vitro and in vivo nematicidal potential of a multifunctional streptomycete, *Streptomyces hydrogenans* strain DH16 against *Meloidogyne incognita*. *Microbiological Research*, 192, 247-252. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.07.009>
- López, M., Riegel, R., Lizana, C., & Behn, A. (2015). Identification of virus and nematode resistance genes in the chilota potato Genebank of the universidad austral de Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75(3), 320-327. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392015000400008>
- Madani, M., Subbotin, S. A., Ward, L. J., Li, X., & De Boer, S. H. (2010). Molecular characterization of canadian populations of potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* using ribosomal nuclear RNA and cytochrome *b* genes. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 32(2), 252-263. <https://doi.org/10.1080/07060661003740033>
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. (2016). El Agro en cifras, 2016.
- Manduric, S., & Andersson, S. (2003). Potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *G. pallida*) from Swedish potato cultivation - An AFLP study of their genetic diversity and relationships to other European populations. *Nematology*, 5(6), 851-858. <https://doi.org/10.1163/156854103773040754>
- Marché, L., Valette, S., Grenier, E., & Mugniéry, D. (2001). Intra-species DNA polymorphism in the tobacco cyst-nematode complex (*Globodera tabacum*) using AFLP. *Genome*, 44(6), 941-946. <https://doi.org/10.1139/gen-44-6-941>
- Meirmans, P. G. (2020). Genodive version 3.0: Easy-to-use software for the analysis of genetic data of diploids and polyploids. *Molecular Ecology Resources*, 20(4), 1126-1131. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13145>
- Mimee, B., Soufiane, B., Dauphinais, N., & Bélair, G. (2017). A qRT-PCR method to evaluate viability of potato cyst nematode (*Globodera* spp.). *Canadian Journal of Plant Pathology*, 39(4), 503-513. <https://doi.org/10.1080/07060661.2017.1382574>

- Montarry, J., Bardou-Valette, S., Mabon, R., Jan, P. L., Fournet, S., Grenier, E., & Petit, E. J. (2019). Exploring the causes of small effective population sizes in cyst nematodes using artificial *Globodera pallida* populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1894), Artículo 20182359. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2359>
- Mulyadi, S., Bambang, R., & Triman, B. (2014). Molecular and pathotype identification of potato cyst nematodes. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 18(1), 17-23.
- Nakhla, M., Owens, K., Li, W., & Wei, G. (2010). Multiplex Real-Time PCR assays for the identification of the potato cyst and tobacco cyst nematodes. *Plant Disease*, 94(8), 959-965. <https://doi.org/https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-0959>
- Nowaczyk, K., Dobosz, R., Budziszewska, M., Kamasa, J., & Obrepalska-Stepłowska, A. (2011). Analysis of diversity of golden potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis*) Populations from Poland using molecular approaches. *Journal of Phytopathology*, 159(11-12), 759-766. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01837.x>
- Picard, D., Plantard, O., Scurrah, M., & Mugniéry, D. (2004). Inbreeding and population structure of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) in its native area (Peru). *Molecular Ecology*, 13(10), 2899-2908. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02275.x>
- Plantard, O., Picard, D., Valette, S., Scurrah, M., Grenier, E., & Mugniéry, D. (2008). Origin and genetic diversity of Western European populations of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 17(9), 2208-2218. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03718.x>
- Powers, T. (2004). Nematode molecular diagnostics: From bands to barcodes. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 367-383. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140348>
- Qin, L., Overmars, H., Helder, J., Popeijus, H., Rouppe van der Voort, J., Groenink, W., van Koert, P., Schots, A., Bakker, J., & Smant, G. (2000). An efficient cDNA-AFLP-based strategy for the identification of putative pathogenicity factors from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(8), 830-836. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2000.13.8.830>
- Quader, M., Nambiar, L., & Cunnington, J. (2008). Conventional and real-time PCR-based species identification and diversity of potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) from Victoria, Australia. *Nematology*, 10(4), 471-478. <https://doi.org/10.1163/156854108784513860>
- R Core Team. (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Rambaut, A. (2008). FigTree v1.1.1: Tree figure drawing tool.
- Ramírez-Suárez, A. (2014). Especies cuarentenadas de nematodos fitoparásitos para México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32(Suplemento), 39-40.
- Roux, C., Fraïsse, C., Romiguier, J., Anciaux, Y., Galtier, N., & Bierne, N. (2016). Shedding light on the grey zone of speciation along a continuum of genomic divergence. *PLoS Biology*, 14(12), Artículo e2000234. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000234>
- 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>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Santos, M. S. N., Evans, K., Abreu, C. A., Martins, F. F., & Abrantes, I. M. (1995). A review of potato cyst nematodes in Portugal. *Nematologia Mediterranea*, 23(1), 35-42.
- Seesao, Y., Gay, M., Merlin, S., Viscogliosi, E., Aliouat-Denis, C., & Audebet, C. (2016). A review of methods for nematode identification. *Journal of Microbiological Methods*, 138, 37-49. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.05.030>

- Sobczak, M., Avrova, A., Jupowicz, J., Phillips, M. S., Ernst, K., & Kumar, A. (2005). Characterization of susceptibility and resistance responses to potato cyst nematode (*Globodera* spp.) infection of tomato lines in the absence and presence of the broad-spectrum nematode resistance Hero gene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18(2), 158-168. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0158>
- Thevenoux, R., Folcher, L., Esquibet, M., Fouville, D., Montarry, J., & Grenier, E. (2020). The hidden diversity of the potato cyst nematode *Globodera pallida* in the south of Peru. *Evolutionary Applications*, 13(4), 727-737. <https://doi.org/10.1111/eva.12896>
- Tirchi, N., Mokabli, A., Troccoli, A., de Luca, F., & Fanelli, E. (2017). Distribution and identification of potato cyst nematodes from Ain Defla region, Algeria Tirchi. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 9(3), 9-20. <https://doi.org/10.2113/gselements.7.5.313>
- Tirchi, N., Troccoli, A., Fanelli, E., Mokabli, A., Mouhouche, F., & de Luca, F. (2016). Morphological and molecular identification of potato and cereal cyst nematode isolates from Algeria and their phylogenetic relationships with other populations from distant their geographical areas. *European Journal of Plant Pathology*, 146, 861-880. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0965-z>
- Toktay, H., Evlice, E., Imren, M., Özer, G., Ali, M. A., & Dababat, A. (2020). Characterization of potato golden cyst nematode populations (*Globodera rostochiensis*) in Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 23(6), 1095-1100. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1390>
- van de Vossenbergh, B. T. L. H., Voogd, J. G. B., Westenberg, M., & Karssen, G. (2014). Comparison of three conventional PCR test (Bulman & Marshall, 1997) versions for the molecular identification of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis* cysts and juveniles. *EPPO Bulletin*, 44(1), 27-33. <https://doi.org/10.1111/epp.12101>
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Friters, A., Pot, J., Paleman, J., Kuiper. (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21), 4407-4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- Winter, D. J. (2012). Mmod: An R library for the calculation of population differentiation statistics. *Molecular Ecology Resources*, 12(6), 1158-1160. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2012.03174.x>

Evaluación de la resistencia a los antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en carne de cerdo comercializada en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala

Evaluation of antibiotics resistance of Escherichia coli strains isolated in pork sold in municipal markets of Guatemala City

Flor D. Porras *, Kevin Flores, Jacqueline Escobar Muñoz

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

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

Recibido: 14 de abril 2021 / Revisión: 15 de junio 2022 / Aceptado: 25 de octubre 2022

Resumen

La resistencia a los antimicrobianos es un problema de salud pública a nivel mundial que va en aumento y se ve reflejada en la falta de eficacia de los tratamientos de infecciones bacterianas con antibióticos en humanos y en animales. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la resistencia a los antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en carne de cerdo expendida en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala. Se identificaron los antibióticos que presentaron mayor resistencia y mayor sensibilidad *in vitro* frente a las cepas de *E. coli* aisladas a partir de 76 muestras de carne de cerdo. Se realizó un muestreo aleatorio simple con afijación proporcional por mercado. Para la identificación de las cepas de *E. coli* se utilizó la prueba de IMViC y para evaluar la resistencia a los antimicrobianos se utilizó la prueba de Kirby Bauer empleando 9 antibióticos. Se aisló *E. coli* en el 55% (42/76) de las muestras. La resistencia en las 42 cepas aisladas fue: tetraciclina (83%) neomicina (50%) y sulfametoxasole + trimetoprim (50%). 83% de las cepas (35/42) fueron resistentes a 2 antibióticos y 50% (21/42) a 3 antibióticos o más. Se obtuvo mayor sensibilidad con ceftriaxona (91%), amikacina (83%), gentamicina (65%) y ácido nalidíxico (65%). Se concluye que existe resistencia a los antibióticos evaluados, lo que constituye un riesgo para la salud pública ya que se encuentra en cepas aisladas en un alimento para consumo humano.

Palabras clave: Salud pública, Antibiótico, Carne de cerdo, Kirby Bauer

Abstract

Antimicrobial resistance is a global public health threat that is increasing and is reflected in the lack of efficacy of bacterial infection treatments with antibiotics in humans and animals. The objective of this study was to evaluate the resistance to antibiotics of *Escherichia coli* strains isolated from pork in the municipal markets of Guatemala City. Antibiotics with the highest resistance and those with the highest sensitivity *in vitro* against the strains of *E. coli* were evaluated. A simple random sampling was carried out with proportional allocation by market, and 76 samples were collected. IMViC test was used to identify the *E. coli* strains, and antibiotics resistance was evaluated using the Kirby Bauer with nine different antibiotics. *E. coli* was isolated in 55% (42/76) of the samples. Resistance was evaluated in the 42 isolates. Antibiotic resistance was detected to tetracycline (83%), neomycin (50%), and sulfamethoxazole + trimethoprim (50%). All isolates presented resistance to at least one antibiotic; it was determined that 83% (35/42) showed resistance to two antibiotics and 50% (21/42) showed resistance to three antibiotics or more. The sensitivity obtained was higher for ceftriaxone (91%), amikacin (83%), gentamicin (65%), and nalidixic acid (65%). In conclusion, antibiotic resistance was detected, which constitutes a risk to public health since it is found in isolated strains in food for human consumption.

Keywords: Public health, Antibiotic, Pork, Kirby Bauer



Introducción

La resistencia a los antibióticos es importante a nivel mundial ya que es considerada una amenaza para la salud mundial (humana y animal) y la seguridad alimentaria. Se presenta cuando las bacterias se adaptan y crecen en presencia de antibióticos (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2016; Pormohammad et al., 2019). La adaptación es parte del proceso evolutivo de las bacterias patógenas y comensales; y puede ocasionar una pérdida de la eficacia de los antibióticos frente a infecciones bacterianas (Silbergeld et al., 2008). Las bacterias son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permiten tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso de que se emplee ese antibiótico específico (Jawets et al., 2010).

Los mecanismos a través de los cuales las bacterias adquieren resistencia contra los fármacos, son los siguientes: (1) Los microorganismos producen enzimas que destruyen al fármaco activo, como en el caso de las bacterias Gram negativas que son resistentes a los aminoglucósidos, esto es debido a que poseen un plásmido, que producen enzimas que destruyen al fármaco; (2) cambian su permeabilidad al fármaco; (3) forman un sitio de acción estructural modificado para el fármaco; (4) forman una vía metabólica modificada que desvía la reacción que es inhibida por el fármaco (Jawets et al., 2010).

Derivado de la resistencia a los antibacterianos, se observa falta de efectividad de los tratamientos en clínicas y hospitales; tanto en humanos como en animales.

Para este estudio se realizó aislamientos de *E. coli* debido a que se ha utilizado extensamente como indicadora de resistencia y se ha evidenciado que va en aumento principalmente a sulfametoxazol, tetraciclinas y betalactámicos de amplio espectro (Zhang et al., 2016). Además, se ha aislado en diferentes tipos de carnes (bovino, pollo y cerdo) en mercados.

Alarcón y colaboradores (2020) aislaron *E. coli* a partir de 200 muestras de carne molida de bovinos; 46.5% (93/200) presentaban la bacteria. Pissetti y colaboradores (2017) aislaron 319 cepas de *E. coli* en canales de cerdo; el 86.2% (275/319) de cepas eran resistentes al menos a un antimicrobiano y el 71.5% (228/319) presentaba multiresistencia. En otro estudio realizado por Ruiz-Roldán y colaboradores (2018) se recolectaron 138 muestras de carne: 64 de pollo, 44 de res, y 30 de cerdo; y se evidenció resistencia a

trimetoprim-sulfametoxazol, ampicilina, tetraciclina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina y cloranfenicol, observándose mayor resistencia en la carne de pollo y cerdo. En Lima, Perú se realizó un estudio similar por Monterroso y colaboradores (2019) donde aislaron 36 cepas de *E. coli* procedentes de porcinos de granjas tecnificadas encontrando resistencia a ácido nalidíxico (89%), a cloxacilina (83%) y a amoxicilina-ácido clavulánico (69%).

Como se puede observar, en los estudios mencionados, la *E. coli* aislada en carne de cerdo presenta resistencia a diferentes antibióticos; lo que constituye un riesgo para la salud pública. Cabe mencionar que no existen estudios en Guatemala en los que se evalúe la resistencia antibacteriana en carne de cerdo a pesar de ser un alimento de venta libre para consumo humano y de haberse consumido 88 toneladas en el país en el 2019 (Ministerio de Economía, 2019).

Para finalizar, el objetivo del presente estudio fue evaluar por primera vez en Guatemala la resistencia a diferentes antibióticos en cepas de *E. coli* aisladas en carne de cerdo.

Materiales y Métodos

Tipo de estudio y obtención de muestras

El estudio fue de carácter descriptivo de corte transversal. Se recolectaron muestras de carne de cerdo en los mercados municipales de la Ciudad de Guatemala en el periodo de septiembre-octubre del 2020, el procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Recolección de datos

Se realizó un muestreo aleatorio simple con afijación proporcional por cada mercado. La prevalencia de *E. coli* se calculó tomando en cuenta un valor de prevalencia esperada del 55% (Yandug et al., 2016), nivel de confianza del 95%, el tamaño de la población (342 expendios de carne de cerdo distribuidos en 22 mercados municipales), con una precisión del 8%. Se visitaron 76 expendios de carne de cerdo para la recolección de las muestras; cada muestra contenía 4 onzas de carne cruda de cerdo. Se empacaron en

bolsas estériles individuales, rotuladas y transportadas, para su análisis, en una hielera a temperatura de 2-6 °C al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Procesamiento de muestras e identificación de *E. coli*

Inicialmente, se realizó un enriquecimiento, se depositó 25 g de la muestra en 225 mL de agua peptonada en bolsas estériles Whirl-Pak (Nasco), se homogenizó por 3 min y se incubó durante 4 h a 37 °C. Posteriormente, se inoculó 0.5 mL del contenido en placas de agar Chromocult® (Lange et al., 2013) para coliformes (AOAC *Performance Tested*) y se incubó a 37 °C durante 24 h (Merck, 2005).

Se realizó el estudio macroscópico de las colonias y las que presentaron características cromogénicas de color azul oscuro o violeta fueron presuntamente identificadas como *E. coli*, luego se procedió a realizar un cultivo por agotamiento en el medio de cultivo Agar Tripticosa Soya (Merck, 2005) para su purificación, el cual se incubó durante 24 h a 37 °C. Se tomaron tres a cinco de las colonias aisladas para realizar las pruebas bioquímicas confirmatorias que permitieron identificar las características metabólicas de la bacteria. Las pruebas utilizadas fueron: Indol, Rojo de Metilo, Voges Proskauer y Citrato; a estas pruebas se les denominan IMViC (Koneman et al., 2004).

Evaluación de la resistencia y/o sensibilidad a antibióticos

Los aislamientos confirmados como *E. coli* se les expuso a los antibióticos contenidos en los sensibilizadores. Para este fin, se preparó un inóculo, con turbidez de 0.5 de MacFarland, a partir de las cepas aisladas. Se sembró cada inóculo en placas de agar Müller-Hinton (Mueller & Hinton, 1941) y se aplicaron los sensibilizadores. A continuación, se incubó las placas por 24 h a 37 °C. Al terminar el tiempo de incubación se realizó la lectura y evaluación de la resistencia/sensibilidad a los antibióticos (Stanchi et al., 2007).

Los antibióticos evaluados fueron: enrofloxacina, gentamicina, neomicina, tetraciclina, amikacina, ceftriaxona, ácido nalidixico, kanamicina y sulfametoxazol+trimetoprim.

Análisis de la información

Se utilizaron los Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2020) para clasificar los antibióticos como: Resistente (R), Resistencia intermedia (I) y Sensible (S) con base en el diámetro de los halos formados alrededor de cada uno de los sensibilizadores; como se muestra en la Tabla 1.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva reportando las frecuencias de positividad a *E. coli* y de resistencia a los antibióticos evaluados.

Tabla 1

Estimación porcentual de los resultados obtenidos por el método de difusión de Kirby Bauer

Grupo de antibióticos	Antibiótico	Resistente (%)	Poco sensible (%)	Sensible (%)
Tetraciclina	Tetraciclina	85	0	15
Aminoglucósido	Neomicina	50	50	0
Sulfonamidas y trimetoprim	Sulfametoxasole + trimetoprim	50	7	43
Aminoglucósido	Gentamicina	30	5	65
Quinolona	Ácido Nalidixico	26	9	65
Aminoglucósido	Kanamicina	17	33	50
Fluoroquinolona	Enrofloxacina	12	26	62
Cefalosporina	Ceftriaxona	7	2	91
Aminoglucósido	Amikacina	2	15	83

Resultados

De las 76 muestras de carne de cerdo procesadas, 42 (55%) resultaron positivas a *Escherichia coli*, confirmadas con la prueba de IMViC. Obteniendo los resultados Indol positivo, Rojo de Metilo positivo, Voges Proskauer negativo y Citrato negativo. A los 42 aislados de *E. coli* obtenidos se les realizó la prueba de sensibilidad antibacteriana empleando el método de difusión de Kirby Bauer. Se realizó una estimación del grado de resistencia de *E. coli* frente a los diferentes antibióticos en prueba (Tabla 2).

Los aislados de *E. coli* fueron resistentes a tetraciclina 85% (36/42), neomicina 50% (21/42) y sulfametoxasole + trimetoprim 50% (21/42), gentamicina 30% (13/42), ácido nalidixico 26% (11/42), kanamicina 17% (7/42), enrofloxacina 12% (5/42), ceftriaxona 7% (3/42) y por último amikacina 2% (1/42).

Se detectó resistencia intermedia frente a neomicina 50% (21/42), kanamicina 33% (14/42), enrofloxacina 26% (11/42), amikacina 15% (6/42), ácido nalidixico 9% (4/42), Sulfametoxasole + trimetoprim 7% (3/42), gentamicina 5% (2/42) y ceftriaxona 2% (1/42).

Los aislados fueron sensibles a ceftriaxona 91% (38/42), amikacina 83% (35/42), gentamicina 65% (27/42), ácido nalidixico 65% (27/42), enrofloxacina 62% (26/42), y kanamicina 50% (21/42), Sulfameto-

xasole + trimetoprim 43% (18/42) y tetraciclina 15% (5/42).

Todas las cepas de *E. coli* (42/42) presentaron resistencia a por lo menos un antibiótico: 83% (35/42) fueron resistentes a dos antibióticos o más y 50% (21/42) fueron resistentes a tres o más antibióticos.

Discusión

Con los resultados obtenidos en este trabajo, se evidenció la presencia de *E. coli* en 55% (42/76) de las muestras de carne de cerdo colectadas en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala. Este hallazgo coincide con los resultados de Yandug y colaboradores (2016) que reportaron *E. coli* en 55% de las muestras las de carne de cerdo recolectadas en los mercados de Cebú, Filipinas. Cabe mencionar, que los mercados de Filipinas expenden carne fresca expuestas al medio ambiente tal y como se encuentra la carne en los expendios de la ciudad de Guatemala.

Los factores intrínsecos que poseen los alimentos son muy importantes para mantener las características adecuadas, para consumo humano, por un tiempo determinado bajo ciertas condiciones de almacenamiento y en este caso de la carne cruda de cerdo posee una alta actividad del agua de 0.99 o un pH

Tabla 2

Estándares interpretativos de los diámetros de inhibición de los antimicrobianos utilizados en la prueba de sensibilidad antimicrobiana

Antibiótico	Resistente (Halo en mm)	Poco Sensible (Halo en mm)	Sensible (Halo en mm)
Tetraciclina	≤ 14	15 – 18	≥ 19
Neomicina	≤ 12	13 – 16	≥ 17
Gentamicina	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Enrofloxacina	≤ 17	15 – 21	≥ 22
Kanamicina	≤ 13	14 – 17	≥ 18
Ac. Nalidixico	≤ 13	14 – 18	≥ 19
Ceftriaxona	≤ 19	20 – 22	≥ 23
Amikacina	≤ 14	15 – 16	≥ 17
Sulfametoxasole + trimetoprim	≤ 10	11 – 15	≥ 16

Nota. Adaptado de “M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing” por Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020, pp. 69-77.

entre 5.3 - 6.4, que favorecen el deterioro de la misma y la contaminación por diversas bacterias indicadoras de higiene y también bacterias patógenas productoras de Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS), particularmente de bacterias Gram negativas como *E. coli* (Mosquito et al., 2011).

Es importante tomar en cuenta que el haber encontrado un 55% de muestras positivas a *E. coli* es indicativo de contaminación. La contaminación de la carne se puede producir por cualquier de los siguientes factores: malas prácticas de faenado, mala higiene de los mataderos y manipulación de los animales. En los mataderos la contaminación ocurre durante la eliminación de la piel de los animales, por derrame de contenido intestinal y condiciones generales de los mataderos. También se puede producir por contaminación ambiental y mal manejo de la carne en la cadena de distribución incluyendo el matadero, procesamiento, puntos de venta e instalaciones de restaurantes (Honish et al., 2014).

También se debe tomar en cuenta las buenas prácticas en la producción primaria, si cumplieron con inspección ante-mortem, inspección post-mortem, higiene y manejo de la canal, higiene del personal, condiciones del establecimiento y equipo; y el suministro de agua (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2007).

La carne fresca es un producto altamente perecedero debido a su composición biológica la carne debe someterse inmediatamente a condiciones adecuadas de almacenamiento para mantener su tiempo de vida útil, sin dejar por un lado la importancia de las condiciones de transporte (FAO, 2007). Todas estas medidas preventivas se pierden si la carne que se expende es clandestina, es decir que el faenado se lleva a cabo en mataderos sin los registros sanitarios correspondientes o en domicilios y es vendida en las carnicerías, lo que aumenta el riesgo de contaminación por *E. coli* resistente a diferentes antibióticos.

La importancia de encontrar *E. coli* en las muestras de carne de cerdo cruda, en este estudio implica no solo la contaminación de la carne en sí, sino el riesgo al que se somete al consumidor debido a la probabilidad de que grupos de personas susceptibles como: ancianos, niños, personas inmunocomprometidas y otras personas vulnerables puedan consumir este tipo de carne mal cocinada y causarles algún tipo de sintomatología como diarreas, dolores abdominales, vómitos, fiebre y si es más grave hasta diarrea con sangre, provocando visitas a los médicos y hospitales, incurriendo

en tratamientos con antibióticos. A partir de aquí, se observa otro problema relacionado con la resistencia de las cepas de *E. coli* a los antibióticos y es que al recibir el tratamiento, este no funciona debido a la resistencia que las bacterias presentan, la que va en aumento.

En este sentido, en este estudio se encontró hasta un 85% de resistencia frente a tetraciclina que es uno de los antibióticos más utilizados por su bajo costo y facilidad de adquisición tanto en medicina veterinaria como en medicina humana. Se utiliza frecuentemente en diferentes partes del mundo, tal es el caso de la Unión Europea, donde su venta representan el 37% de las ventas de antimicrobianos y como consecuencia muchas de las bacterias como *E. coli*, desarrollan resistencia (Poirel et al., 2018).

En este estudio se encontró 50% de resistencia frente a sulfametoxasol para el cual la bacteria mediante los genes *sul1*, *sul2* y *sul3* codifican la enzima dihidropteroato sintetasa que impide ser inhibida por el antibiótico + trimetoprim que en este caso los genes *dfr* también generan resistencia, por lo tanto, la combinación de este antibiótico se hace ineficiente (Mosquito et al., 2011).

Por otra parte, *E. coli* es productora de enzimas betalactamasas de espectro que inactivan antibióticos como la enrofloxacin para el cual, en este estudio, se encontró una resistencia del 12%. *E. coli* también posee plásmidos que portan genes de resistencia contra antibióticos aminoglucosidos como la neomicina al cual presentó un 50% de resistencia. Otro mecanismo de resistencia es por medio de las bombas de eflujo codificadas por genes *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE* y *tetY* frente a las tetraciclinas (Miranda García, 2013), para las que se evidenció resistencia en el 85% de los aislados.

Se utilizan aminoglucosidos tanto en humanos como en animales para tratar infecciones complicadas. En medicina veterinaria, los más utilizados son la neomicina, derivados de la estreptomycin, gentamicina y amikacina (Poirel et al., 2018). Por este motivo es importante monitorear la resistencia a la neomicina que se evidenció en el estudio.

Respecto a la Ceftriaxona, cabe mencionar que fue el antimicrobiano que presentó mayor sensibilidad (91%). Este es uno de los mejores para combatir las bacterias multirresistentes (OMS, 2016). Sin embargo, esto nos muestra a su vez, que ceftriaxona ha perdido su eficacia frente a algunas cepas de *E. coli*.

En Guatemala, hasta el momento, no se habían realizado estudios de resistencia antimicrobiana en

carne de cerdo por lo que se desconocía la situación actual de esta problemática. La falta de regularización para la venta y el uso de antibióticos en Guatemala hace que la resistencia antimicrobiana aumente debido a su mal uso y en algunos casos a subdosificación, que de acuerdo a Reygaert (2018) aumenta la habilidad de la bacteria para incrementar su rango de mutación adquiriendo mayor resistencia ante los agentes antimicrobianos.

La carne de cerdo es susceptible a su contaminación en cualquier punto de la cadena de venta, por lo que basados en los resultados es necesaria la elaboración de un plan para mejorar la inocuidad de la carne dentro de los mercados municipales de la ciudad de Guatemala, buenas prácticas de higiene, manejo y transporte de la carne de cerdo; y el monitoreo de la resistencia en otros productos para consumo humano.

Agradecimientos

Esta investigación: “Evaluación de la resistencia a los antibióticos de cepas de *Escherichia coli* aisladas en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala”, fue cofinanciada por el Fondo de Investigación de la Dirección General de Investigación Digi/Usac 2020, DES02-2020.

Agradecemos el apoyo de: el personal técnico y secretaria del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a las autoridades de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, al Dr. Wilson Valdés, Dr. Dennis Guerra y a la Dra. Hilda de Abril.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: FDP, JEM

Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: FDP

Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: todos los autores

Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: todos los autores

Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: todos los autores

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Alarcón, M., Escobar, G., Palma, M., Chang, A., Guaminga, J., & Tuttillo, D. (2020). *Escherichia coli* O157:h7 en carne molida comercializada en los mercados de Guayaquil. *Journal of American Health*, 3(2), 159-168. <http://doi.org/10.37958/jah.v3i2.45>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (30th ed.).
- Honish, L., Punja, N., Nunn, S., Nelson, D., Hislop, N., Gosselin, G., Stashko, N., & Dittrich, D. (2014). *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with contaminated pork products—Alberta, Canada, July–October 2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 65(52), 1477-1481. <http://doi.org/10.14745/ccdr.v43i01a04>
- Jawets, E., Melnick, J., & Adelberg, E. (2010). *Microbiología médica* (25 ed.). McGraw-Hill.
- Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., & Win, W. (2004). *Diagnóstico Microbiológico* (5 ed.). Panamericana.
- Lange, B., Strathmann, M., & Oßmer, R. (2013). Performance validation of chromogenic coliform agar for the enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 57(6) 547-553. <https://doi.org/10.1111/lam.12147>
- Merck. (2005). *Microbiology Manual* (12 ed.).
- Ministerio de Economía. (2019). *Industria de cárnicos*. Viceministerio de Integración y Comercio Exterior. https://www.mineco.gob.gt/sites/default/files/carnicos_en_guatemala_13_2.pdf
- Miranda García, M. C. (2013). *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido. Resistencia. *Revista Sanidad. Militar*, 69(4), 244-248. <https://dx.doi.org/10.4321/S188785712013000400003>
- Monterroso C., M., Salvatierra R., G., Sedano S., A., & Calle E., S. (2019). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aisladas de infecciones entéricas de porcinos provenientes de granjas de producción tecnificada. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(1), 455-464. <http://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15670>

- Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer J. L., & Ochoa, T. J. (2011). Mecanismos moleculares de Resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 28(4), 648-56. <https://doi.org/10.17843/rpmpesp.2011.284.430>
- Mueller, J. H., & Hinton, J. (1941). A protein-free medium for primary isolation of the Gonococcus and Meningococcus. *Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine*, 48(1), 330-333. <https://doi.org/10.3181/00379727-48-133>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2007). *Buenas prácticas para la industria de la carne*.
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*.
- Pissetti, C., Werlang, G., Kich, J., & Cardoso, M. (2017). Genotyping and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from pig carcasses. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 37(11), 1253-1260. <http://doi.org/10.1590/s0100-736x2017001100010>
- Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 289-316. <http://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017>
- Pormohammad, A., Nasiri, M. J., & Azimiti, T. (2019). Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: A systematic review and meta-analysis. *Infection and drug resistance*, 12, 1181-1197. <http://doi.org/10.2147/IDR.S201324>
- Reygaert, W. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482-501. <http://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
- Ruiz-Roldán, L., Martínez-Puchol, S., Gomes C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, Ochoa, T., Ruiz, J., & Pons, M. J. (2018). Presencia de Enterobacteriaceae y *Escherichia coli* multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(3), 425-432. <http://doi.org/10.17843/rpmpesp.2018.353.3737>
- Silbergeld, E. K., Graham, J., & Price, L. B. (2008). Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. *Annual Review of Public Health*, 29, 151-169. <http://doi.org/0.1146/annurev.publhealth.29.020907.090904>
- Stanchi, N., Martino, P., Gentilini, E., Reinoso, E., Echeverría, M., Leardini, N., & Copes, J. (2007). *Microbiología Veterinaria* (1ra. ed.). Inter-médica.
- Yandug, R. S., Ventuna, D. C., Ybañez, R. H. D., & Ybañez, A. P. (2016). Microbial plate count and detection of *Escherichia coli* in pork meat samples from stalls in a public wet market in Cebu, Philippines. *International Research Journal of Interdisciplinary & Multidisciplinary Studies*, 2(2), 65-72.
- Zhang, A., He, X., Meng, Y., Guo, L., Long, M., Yu, H., Li, B., Fan, L., Liu, S., Wang, H., & Zou, L. (2016). Antibiotic and Disinfectant Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Retail Meats in Sichuan, China. *Microbial Drug Resistance*, 22(1), 80-87. <http://doi.org/10.1089/mdr.2015.0061>

Producción de plásticos biodegradables a partir de bacterias de hábitats salinos aisladas de la Laguna de Ayarza

Production of biodegradable plastics from saline habitats bacteria isolated from Laguna de Ayarza

Ricardo Figueroa ¹, Osberth Morales ¹, Gustavo Álvarez², María Bran ^{1*}

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,

²Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: mdebran@yahoo.com

Recibido: 25 de abril 2022 / Revisión: 03 de octubre 2022 / Aceptado: 21 de octubre 2022

Resumen

La contaminación por plásticos petroquímicos es una grave amenaza para el medio ambiente que requiere implementar alternativas como los bioplásticos para lograr un desarrollo sostenible. Los polihidroxicanoatos (PHA) son polímeros utilizados para la producción de plásticos biodegradables y que han llamado la atención como sustitutos de los plásticos de base fósil. Sin embargo, el costo de producción de los PHA constituye una barrera para su producción industrial a gran escala. Las bacterias de hábitats salinos son microorganismos prometedores para la síntesis de PHA debido a sus características tales como altos requisitos de salinidad que previenen la contaminación microbiana, la alta presión osmótica intracelular que permite una fácil lisis celular para purificar los PHA y la capacidad para usar un amplio espectro de sustratos. La presente investigación planteó determinar las cepas nativas de bacterias halófilas y halotolerantes de la Laguna de Ayarza capaces de producir PHA, establecer la capacidad que tienen de utilizar residuos agrícolas para la producción de PHA y determinar su eficiencia. Esto se logró a través de la inoculación de las cepas productoras de PHA en medios de fermentación con pulpa de café, cáscaras de plátanos y salvado de trigo lo que permitió determinar las cepas más eficientes. Se encontró que las bacterias productoras de PHA pertenecen a las especies: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus idriensis*, *Bacillus megaterium*, *Exiguobacterium acetylicum*, *E. aurantiacum*, *Pseudomonas cuatrocieneegasensis* y *Staphylococcus capitis* y que las cepas AP21-14, AP21-10 y AP21-03 mostraron los mejores resultados que podrían ser prometedores para la producción a nivel industrial.

Palabras clave: Biopolímeros, biprocesamiento, desechos plásticos, extremófilos, polihidroxitirato

Abstract

Pollution by petrochemical plastics is a serious threat to the environment that requires the implementation of alternatives such as bioplastics to achieve sustainable development. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are polymers used for the production of biodegradable plastics and have drawn attention as substitutes for fossil-based plastics. However, the cost of producing PHAs constitutes a barrier to their large-scale industrial production. Bacteria from saline environments are promising microorganisms for PHA synthesis due to their characteristics such as high salinity requirements that prevent microbial contamination, high intracellular osmotic pressure that allows easy cell lysis to purify PHAs, and the ability to use a broad spectrum of substrates. This research project aimed to determine the native strains of halophilic and halotolerant bacteria from Laguna de Ayarza capable of producing PHA, establish their ability to use agricultural residues for the production of PHA, and determine their efficiency. This was achieved through the inoculation of the PHA-producing strains in fermentation media with coffee pulp, banana peels and wheat bran, which allowed determining the most efficient strains. It was found that the PHA-producing bacteria belong to the species: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus idriensis*, *Bacillus megaterium*, *Exiguobacterium acetylicum*, *E. aurantiacum*, *Pseudomonas cuatrocieneegasensis* and *Staphylococcus capitis* and that the strains AP21-14, AP21-10 and AP21-03 showed the best results that could be promising for production at an industrial level.

Keywords: Biopolymers, biprocessing, plastic waste, extremophiles, polyhydroxybutyrate



Introducción

Los productos plásticos son ampliamente utilizados en nuestra vida diaria, su uso en textiles, electrodomésticos, productos para el cuidado de la salud, juguetes y en materiales de empaque es inevitable (Thakur et al., 2018; Wang et al., 2016). Desde 1940, los plásticos sintéticos o petroquímicos han revolucionado a la sociedad, debido a sus propiedades como la fuerza mecánica, su ligereza, flexibilidad y durabilidad, además de ser un material de bajo costo y con la capacidad de reemplazar productos hechos de otros materiales como el papel, el vidrio y los metales (Hottle et al., 2013). En el 2015 a nivel mundial la producción de plástico se incrementó a 300 millones de toneladas (Mellinas et al., 2016) y de acuerdo a Mekonnen y colaboradores (2013) al menos 34 millones de toneladas de desechos plásticos son generados por año, de los cuales el 93% llega a los océanos y vertederos.

Los PHA son una clase de poliésteres de origen natural que podrían sustituir a los plásticos convencionales debido a sus propiedades fisicoquímicas. Estos son acumulados por una variedad de microorganismos intracelularmente en forma de gránulos y almacenados en respuesta a un estrés ambiental o limitación de nutrientes como reserva de carbono y energía (Lee et al., 1999). Bajo condiciones limitantes de una fuente de carbono, se ha informado que los PHA se degradan por las despolimerasas intracelulares y posteriormente se metabolizan para la producción de energía (Jain & Tiwari, 2014). El poli-3-hidroxi-butarato (PHB) y sus copolímeros con 3-hidroxi-valerato (3HV) conocido como poli-(3-hidroxi-butarato-co-3-hidroxi-valerato) (PHBV), han sido documentados como los representantes más conocidos de la familia de los PHA (Khanna & Srivastava, 2005).

A pesar de sus ventajas los PHA producidos a partir de fuentes de carbono estándar tienen ciertas limitaciones como el alto costo de producción. En este sentido los residuos agrícolas representan una fuente de carbono renovable y poco utilizada que debería considerarse como materia prima para otros procesos industriales en lugar de ser desechos (Sadh et al., 2018). Los microorganismos de ecosistemas salinos han sido estudiados en los últimos años para la producción de PHA. Estos representan un grupo de microorganismos distintivo y diverso que tiene la habilidad de sobrevivir en hábitats hipersalinos como lagos, salinas, marismas y suelos salinos. Las bacterias halófilas son una potencial fuente de biosurfactantes, carotenoides, bacteriodopsinas y la mayoría tiene la capacidad de acumular

gránulos de PHA intracelulares (Edbeib et al., 2016). Su capacidad para desarrollarse en condiciones con alta salinidad disminuye los requerimientos de esterilidad y problemas de contaminación durante la fermentación y por lo tanto disminuye los costos de producción, por lo que han sido consideradas como prometedoras y rentables para la producción de PHA (Mitra et al., 2020).

En esta investigación se planteó establecer el potencial de las cepas nativas de bacterias del lago salado Laguna de Ayarza para la producción de PHA, determinar la capacidad que tienen de utilizar pulpa de café, cáscaras de plátanos y salvado de trigo para la producción de PHA y determinar el rendimiento de producción de polihidroxi-alcanoatos de las bacterias de hábitats salinos, a través de la fermentación en medios suplementados con residuos agrícolas. La importancia de esta investigación radicó en encontrar cepas de bacterias halotolerantes y halófilas productoras de bioplásticos que hagan más efectiva la producción de PHA y sean de interés para la producción industrial a gran escala, como una alternativa en la elaboración de productos que actualmente son a base de plásticos petroquímicos, además también agregó valor a la preservación de la Laguna de Ayarza como fuente de cepas con potencial biotecnológico.

Materiales y Métodos

Muestreo, aislamiento y mantenimiento de las cepas

Para el aislamiento de las bacterias halófilas productoras de PHA se recolectaron aleatoriamente 30 muestras de agua en la Laguna de Ayarza, Departamento de Santa Rosa, Guatemala ubicada a 14°24'23.0" Norte y 90°07'01.6" Oeste. Las muestras de agua fueron de 200 mL y se recolectaron en frascos de vidrio estériles de boca ancha a una profundidad de aproximadamente 20 cm de la superficie. Después de tomar las muestras, estas fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio del Departamento Microbiología del Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Posteriormente 1 mL de cada muestra fue enriquecido agregándolo a 10 mL de medio EGM (1% p/v de glucosa, 0.5% p/v de extracto de levadura y 25% v/v de agua del lago) e incubado a 30 °C por 48 h. Se seleccionaron las muestras que evidenciaron desarrollo microbiano, a partir de las cuales se prepararon diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} y se inocu-

laron 100 µL de cada dilución en cajas de Petri con agar EGM (1% p/v de glucosa, 0.5% p/v de extracto de levadura y 25% v/v de agua del lago). Las cajas de Petri fueron incubadas a 25° por 72 h y se analizaron para cuantificar el total de colonias. Posteriormente las colonias fueron resembradas hasta lograr su purificación, luego se almacenaron en tubos con agar EGM a 4 °C (Fuentes et al., 2013).

Tamizaje de las cepas productoras de PHA

La habilidad de las cepas halófilas aisladas para producir PHA fue evaluada utilizando medio EGM modificado compuesto por 1% p/v de glucosa como sustrato, 0.25% p/v de extracto de levadura y 25% v/v de agua del lago, la modificación fue para crear condiciones limitantes de nitrógeno (Gunaratne et al., 2004).

Tinción con Negro de Sudan

La tinción de Negro de Sudan se llevó a cabo a partir de cultivos de 48 h de crecimiento en agar EGM. El colorante al 1% fue filtrado antes de utilizarlo. Las cepas fueron fijadas por calor en portaobjetos y teñidas durante 10 min, luego fueron aclaradas con Xilol para eliminar el exceso de colorante. Las muestras fueron observadas al microscopio en búsqueda de gránulos negros o grisáceos intracelulares los cuales son indicativos de la producción de PHA, la cantidad de gránulos fue reportada cualitativamente en cruces. Las cepas que produjeron la mayor cantidad de gránulos fueron utilizadas en los pasos posteriores (Koller et al., 2017).

Determinación de la capacidad de producir polihidroxialcanoatos en medio EGM

Las cepas de bacterias halófilas seleccionadas se cultivaron en 10 mL de medio EGM modificado a 30 °C hasta que alcanzaron una concentración de 0.5 del estándar de McFarland. Posteriormente 5 mL del cultivo anterior se inoculó en 45 mL de caldo EGM y se incubó a 30 °C con agitación constante a 150 rpm hasta que se alcanzó una concentración de 9 del estándar de McFarland. Una vez alcanzada dicha concentración, los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 min. El sedimento se lavó dos veces con agua desmineralizada y se deshidrató en horno a 45 °C hasta alcanzar peso constante. Para la cuantificación de los PHA, se agregó 1 mL de hipoclorito de sodio al 5% por 2 h a los tubos con la biomasa deshidratada, posteriormente se

agregó 1 mL de cloroformo por 20 min para separar la biomasa del polímero. Luego los tubos se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 min y se obtuvieron dos fases, la superior corresponde al hipoclorito de sodio con restos celulares y la inferior a la de cloroformo con los PHA. Con una pipeta Pasteur se extrajo la fase inferior de cloroformo y se depositó en otro tubo de ensayo el cual se colocó en un horno a 40 °C por 24 h para la evaporación del cloroformo (Guzmán et al., 2017).

Verificación del polímero y rendimiento a través del coeficiente de rendimiento

Una vez evaporado el cloroformo de los tubos, el polímero obtenido se pesó y se verificó su naturaleza, para ello se digirió el sedimento con H₂SO₄ concentrado durante 30 min a 90 °C en baño maría. Luego se dejó enfriar y se realizó un barrido con espectrofotómetro en un rango de 220 a 250 nm, el polímero se identificó como PHA cuando se observó un pico máximo de absorbancia a 235 nm. Finalmente, con los pesos de la biomasa celular y de los PHA se calculó el coeficiente de rendimiento del producto con relación a la biomasa o cantidad de PHA obtenido por biomasa formada, con la siguiente ecuación (Guzman et al., 2017):

$$\text{Coeficiente}(Y) = \frac{\text{MasadelosPHA}}{\text{Biomasacelular}} \quad (1)$$

Determinación de la capacidad de producir polihidroxialcanoatos en medio a partir de residuos agrícolas

Para la preparación del medio de fermentación, los residuos agrícolas pulpa de café, cascara de plátano y salvado de trigo se deshidrataron por 72 h a temperatura ambiente y se molieron en fracciones de entre 0.5 a 2 mm. A partir de los residuos agrícolas molidos se prepararon 3 medios de fermentación EGM modificados, cada uno 6 g/L de un residuo agrícola distinto, 0.25% p/v de extracto de levadura y 25% v/v de agua del lago. Una vez preparados los medios de fermentación, las cepas seleccionadas se cultivaron en 10 mL de cada uno de los medios EGM modificados a 30 °C hasta que alcanzaron una concentración de 0.5 del estándar de McFarland. Posteriormente 5 mL del cultivo se inoculó en 45 mL de cada uno de los medios EGM modificados y se incubó a 30 °C con agitación constante a 150 rpm hasta alcanzar una concentración de 9 del estándar de McFarland. Una vez alcanzada

dicha concentración, los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 min. El sedimento se lavó dos veces con agua desmineralizada y se deshidrató en horno a 45 °C hasta alcanzar peso constante. Para la purificación de los PHA, se agregó 1 mL de hipoclorito de sodio al 5% por 2 h a los tubos con la biomasa deshidratada, luego se agregó 1 mL de cloroformo por 20 min para separar la biomasa del polímero. Posteriormente los tubos se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 min y se obtuvieron dos fases, la inferior corresponde a la de cloroformo con los PHA. Finalmente, con una pipeta Pasteur se extrajo el cloroformo de la fase inferior y se depositó en otro tubo de ensayo y el cual se colocó en un horno a 40 °C por 24 h para la evaporación del cloroformo. Posteriormente se verificó el polímero y se obtuvo el coeficiente de rendimiento para cada cepa bacteriana (Koller et al., 2017).

Identificación de las cepas

La identificación se realizó de acuerdo al microorganismo, a través de características macroscópicas, pruebas bioquímicas, espectrometría de masas y microscopía. Para las características macroscópicas, dependiendo del microorganismo se utilizó agar nutritivo, agar sangre, manitol sal y agar MacConkey. Para las pruebas bioquímicas se utilizó catalasa, oxidasa, ureasa, producción de indol, prueba de rojo de metilo, reacción de Voges-Proskauer, utilización del citrato e hidrólisis del almidón (Holland et al., 1996; Muhammadi et al., 2015).

Procesamiento y análisis de la información

Se realizó un análisis exploratorio de los resultados obtenidos. Para los datos obtenidos en la producción de PHA a partir de glucosa y a partir de los residuos agrícolas se llevó a cabo una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Para evidenciar diferencias entre los coeficientes de rendimiento se realizó un análisis de varianza (anova) y una posterior prueba de comparación de medias de Tukey, con el .05 de significancia. Los resultados fueron procesados en Excel 2013 y el programa R (Du et al., 2012).

Resultados

Se logró aislar 35 cepas de bacterias a partir de las muestras de agua recolectadas en la Laguna de Ayarza, Santa Rosa, Guatemala (Tabla 1). Los granulos de polihidroxialcanoatos fueron inicialmente observados con microscopía de luz y de contraste de fases. De las 35 cepas aisladas se determinó que 10 resultaron positivas para la producción de polihidroxialcanoatos en medio EGM y medios con pulpa de café, cascara de plátano y salvado de trigo (Tabla 2). Entre las bacterias productoras de PHA se encontraron las siguientes especies: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus idriensis*, *Bacillus megaterium*, *Exiguobacterium acetylicum*, *Exiguobacterium aurantiacum*, *Pseudomonas cuatrocieneegasensis* y *Staphylococcus capitis*.

Se observó que las mayores concentraciones del polímero en medio EGM fueron producidas por la cepa AP21-14 (*Alcaligenes faecalis*), AP21-10 (*Alcaligenes faecalis*) y AP21-03 (*Staphylococcus capitis*). De las cepas que mostraron mayor rendimiento en la producción de polihidroxialcanoatos no se encontró diferencia entre la AP21-14 y la AP21-10 que produjeron en promedio 1.21 g/L del polímero. Asimismo, al evaluar las cepas en medio enriquecido con pulpa de café, se encontró que las mayores concentraciones fueron producidas por las cepas AP21-03, AP21-10 y AP21-16 (*Pseudomonas cuatrocieneegasensis*), de estas la cepa AP21-03 y AP21-10 no mostraron diferencia significativa y reportaron un promedio de 0.88 g/L de PHA.

Al evaluar las cepas en medio enriquecido con cascara de plátano se observó que las que produjeron mayor concentración del polímero fueron la AP21-03, AP21-14 (*Alcaligenes faecalis*) y AP21-10. No se encontró diferencia entre las cepas AP21-10 y AP21-14 que produjeron 0.85 g/L del polímero. Además, al desarrollar las cepas en medio enriquecido con salvado de trigo, se encontró que las cepas que produjeron mayor concentración del PHA fueron la AP21-10, AP21-03 y AP21-16, de estas no se encontró diferencia significativa entre la AP21-10 y AP21-03 que produjeron 1.03 g/L del polímero.

Tabla 1*Identificación de cepas por espectrometría de masas*

Cepa	Código	Identificación
Cepa 1	AP21-01	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Cepa 2	AP21-02	Bacilos gram positivo
Cepa 3	AP21-03	<i>Staphylococcus capitis</i>
Cepa 4	AP21-04	<i>Bacillus megaterium</i>
Cepa 5	AP21-05	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>
Cepa 6	AP21-06	Bacilos gram negativo
Cepa 7	AP21-07	<i>Bacillus idriensis</i>
Cepa 8	AP21-08	Cocos gram positivo
Cepa 9	AP21-09	Bacilos gram negativo
Cepa 10	AP21-10	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Cepa 11	AP21-11	Bacilos gram positivo
Cepa 12	AP21-12	Bacilos gram negativo
Cepa 13	AP21-13	Bacilos gram positivo
Cepa 14	AP21-14	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Cepa 15	AP21-15	Bacilos gram positivo
Cepa 16	AP21-16	<i>Pseudomonas cuatrocieneegasensis</i>
Cepa 17	AP21-17	Bacilos gram negativo
Cepa 18	AP21-18	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>
Cepa 19	AP21-19	<i>Pseudomonas cuatrocieneegasensis</i>
Cepa 20	AP21-20	Cocos gram positivo
Cepa 21	AP21-21	<i>Exiguobacterium acetylicum</i>
Cepa 22	AP21-22	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>
Cepa 23	AP21-23	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Cepa 24	AP21-24	Bacilos gram positivo
Cepa 25	AP21-25	Bacilos gram negativo
Cepa 26	AP21-26	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Cepa 27	AP21-27	Bacilos gram negativo
Cepa 28	AP21-28	Bacilos gram positivo
Cepa 29	AP21-29	Bacilos gram positivo
Cepa 30	AP21-30	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Cepa 31	AP21-31	Bacilos gram positivo
Cepa 32	AP21-32	Cocos gram positivo
Cepa 33	AP21-33	Cocos gram positivo
Cepa 34	AP21-34	Cocos gram positivo
Cepa 35	AP21-35	Bacilos gram positivo

Tabla 2

Promedios de producción de polihidroxialcanoatos por cepas aisladas de la Laguna de Ayarza, Santa Rosa, Guatemala en diferentes medios de cultivo

Cepa	Código	Producción de PHA en medio EGM	Producción de PHA en medio con pulpa de café (g/L) ¹	Producción de PHA en medio con cascara de plátanos (g/L) ¹	Producción de PHA en medio con salvado de trigo (g/L) ¹
Cepa 1	AP21-01	0.90 (0.15) a	0.70 (0.17) a	0.72 (0.19) a	0.82 (0.15) a
Cepa 2	AP21-02	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 3	AP21-03	1.02 (0.23) b	0.93 (0.23) b	0.90 (0.22) b	1.02 (0.19) b
Cepa 4	AP21-04	0.65 (0.17) c	0.64 (0.26) a	0.19 (0.15) c	0.54 (0.19) c
Cepa 5	AP21-05	0.79 (0.19) d	0.76 (0.17) c	0.72 (0.10) a	0.56 (0.24) c
Cepa 6	AP21-06	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 7	AP21-07	0.70 (0.22) e	0.62 (0.17) a	0.30 (0.18) d	0.67 (0.19) c
Cepa 8	AP21-08	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 9	AP21-09	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 10	AP21-10	1.20 (0.19) b	0.92 (0.22) b	0.88 (0.18) b	1.07 (0.19) b
Cepa 11	AP21-11	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 12	AP21-12	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 13	AP21-13	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 14	AP21-14	1.22 (0.21) b	0.69 (0.15) f	0.85 (0.17) be	0.89 (0.17) d
Cepa 15	AP21-15	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 16	AP21-16	1.00 (0.23) f	0.92 (0.16) b	0.78 (0.29) a	0.87 (0.16) e
Cepa 17	AP21-17	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 18	AP21-18	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 19	AP21-19	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 20	AP21-20	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 21	AP21-21	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 22	AP21-22	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 23	AP21-23	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 24	AP21-24	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 25	AP21-25	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 26	AP21-26	0.99 (0.25) a	0.77 (0.20) b	0.53 (0.16) f	0.66 (0.20) c
Cepa 27	AP21-27	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 28	AP21-28	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 29	AP21-29	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 30	AP21-30	0.88 (0.14) g	0.39 (0.21) g	0.51 (0.16) g	0.50 (0.20) c
Cepa 31	AP21-31	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 32	AP21-32	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 33	AP21-33	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 34	AP21-34	0.00	0.00	0.00	0.00
Cepa 35	AP21-35	0.00	0.00	0.00	0.00

Nota. ¹Gramos por litro de polihidroxialcanoato. ^{a, b, c, d, e, f, g.} Letras distintas indican diferencia significativa, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($p = .05$).

Discusión

Se aislaron 35 cepas microbianas en la Laguna de Ayarza, de las cuales 10 resultaron positivas para la producción de polihidroxialcanoatos al desarrollarse en Medio EGM, pulpa de café, cáscara de plátano y salvado de trigo (Tabla 2). Entre las especies encontradas está *A. faecalis*, *B. idriensis*, *B. megaterium*, *E. acetylicum*, *E. aurantiacum*, *P. cuatrocieneegasensis* y *S. capititis*. Además, se encontró que las cepas AP21-10, AP21-14 y AP21-03 produjeron las mayores concentraciones del polímero, en los cuatro medios probados (EGM y enriquecidos con pulpa de café, cáscara de plátano y salvado de trigo) con una media de 1.00 (0.16) g/L, 0.88 (0.41) g/L y 0.98 (0.12) g/L respectivamente.

Se ha reportado que los PHA producidos por microorganismos que habitan en ecosistemas con altas concentraciones de sales se dan bajo condiciones de exceso de carbono y limitantes de nitrógeno (Obruca et al., 2020). En este sentido en algunos estudios donde se ha utilizado medio EGM como sustrato se han reportado rendimientos promedio de 0.8 g/L de polihidroxialcanoatos con *Halomonas nitroreducens* (Cervantes-Uc et al., 2014) estos resultados son similares a los producidos por la cepa AP21-14 correspondiente a *A. faecalis* que al desarrollarse en Medio EGM y enriquecido con pulpa de café, cáscara de plátano y salvado de trigo, mostró una producción de 0.88 g/L en promedio. Por otra parte, durante este estudio también se encontraron cinco cepas de *A. faecalis* capaces de producir PHA (identificadas con los códigos AP21-01, AP21-10, AP21-14, AP21-26 y AP21-30) las cuales evidenciaron los mayores valores medios de producción por litro de sustrato. Diversas especies de *Alcaligenes* han sido reportadas por otros autores como productoras de PHA principalmente poli(3-hidroxi butirato) (PHB) y poli(3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato) (PHBV); se ha reportado que su diversidad metabólica, capacidad de utilizar compuestos aromáticos y metales pesados, así como su capacidad para eliminar productos tóxicos, ha vuelto de interés a este género para la producción de PHA (Yajima et al., 2020).

En otras investigaciones también se ha reportado a *Staphylococcus* como un género capaz de adaptarse a distintas condiciones ambientales por su amplio potencial para producir diversas enzimas para aprovechar los nutrientes del medio y competir con otros microorganismos e incluso evadir las defensas naturales de animales y seres humanos (Seo & Bohach, 2014). El

género *Staphylococcus* ha sido utilizado también para la producción de PHA a partir de medios sintéticos y también de productos agrícolas y residuos industriales como las semillas de sésamo, melaza, cáscaras de plátano, papa, mango, efluentes textiles, aceites residuales y polvo de proteína y se han reportado producciones promedio de hasta 1.71 g/L de distintos PHA (Joyline & Aruna, 2019). En este estudio se encontró que la cepa AP21-03 correspondiente a *S. capititis* presentó un rendimiento promedio de 1.12 g/L en medio EGM, 0.84 g/L en medio enriquecido con pulpa de café, 0.93 g/L en medio con cáscara de plátano y 1.02 g/L en medio con salvado de trigo, lo cual es similar al rendimiento que presentan otras cepas de *Staphylococcus* en otros desechos agroindustriales (Joyline & Aruna, 2019). Asimismo, *Staphylococcus* ha sido considerado un microorganismo de interés para la producción de PHA ya que tiene un amplio potencial de adaptación a distintos sustratos y también por su tolerancia a elevadas concentraciones de sal lo que lo hacen apto para reducir los costos de producción de polímeros biodegradables. Aunque *S. capititis* no había sido reportado para la producción de polihidroxialcanoatos, se ha encontrado que *S. epidermidis*, *S. aureus* y otras especies han logrado producir PHB, PHBV y P4HB (Reddy & Mohan, 2012).

Por otra parte, aunque la cepas de *B. megaterium* y *B. idriensis* encontradas mostraron los menores rendimientos de producción de PHA en medio EGM y enriquecidos con pulpa de café, cáscara de plátano y salvado de trigo (0.54 g/L y 0.53 g/L respectivamente), esto puede ser el resultado de los sustratos utilizados, no obstante, algunas especies de *Bacillus* han sido ampliamente aplicadas por su potencial para producir polímeros de PHA con propiedades específicas, por ejemplo: en un estudio se reportó que la cepa BPPI-14 y BPPI-19 de *Bacillus* sp. produjeron ácido hidroxibutírico (4HB) y poli(3-hidroxi butirato-co-4-hidroxi butirato), los cuales presentan propiedades fisicoquímicas similares a las del polipropileno (Mohammed et al., 2019). En esta investigación se utilizó medio EGM y medios enriquecidos con pulpa de café, cáscara de plátano y salvado de trigo como fuente de carbono lo que pudo limitar la síntesis de PHA. Además, otras investigaciones han reportado la producción de PHB cuando se ha utilizado glucosa como única fuente de carbono y también se ha evidenciado la producción de otros PHA como el PHVB y P4HV (Katircioğlu et al., 2003). Otras investigaciones también han reportado que se pueden obtener diversos tipos de polihidroxialcanoatos dependiendo la fuente

de carbono en la que es cultivado *B. cereus*, entre estos se ha reportado el PHV, PHBHV. Por lo tanto, aunque las condiciones limitantes de nitrógeno y el exceso de carbono son las principales variables a considerar para la producción de PHA, las condiciones de cultivo y los sustratos también tienen un efecto directo con relación al tipo de polímero producido (Rathika et al., 2018).

Respecto al género *Exiguobacterium aurantiacum* y *Pseudomonas cuatrocienegeasensis* pocos estudios los han reportado para la síntesis de polihidro-xialcanoatos, Kanekar y colaboradores (2008) aislaron a *E. aurantiacum* del lago salado Lonar de la India y la reportaron como productora de PHA, sin embargo, no indicaron el rendimiento de producción el cual para la presente investigación fue de 0.70 g/L (Tabla 2) en promedio en los sustratos utilizados reportados anteriormente. Asimismo, Dong-Heon y colaboradores (2010) lograron aislar a *P. cuatrocienegeasensis* a partir de aguas contaminadas con un derrame de petróleo en Taean, Corea. Dichos autores encontraron que *P. cuatrocienegeasensis* es capaz de producir PHA al utilizar medios sintéticos con glucosa como fuente de carbono con rendimientos de hasta 1.10 g/L los cuales son similares a los encontrados en la presente investigación.

Las especies de bacterias aisladas en esta investigación podrían ser aplicadas a nivel industrial por su capacidad para producir polihidro-xialcanoatos a partir de residuos agrícolas y como alternativa a la utilización de plásticos petroquímicos. Los valores de rendimiento obtenidos con pulpa de café, cascará de plátano y salvado de trigo, también son prometedores y comparables a otros reportados en la literatura. Sin embargo, para aumentar la producción de PHA, aún hacen falta estudios que permitan evaluar otros residuos agrícolas como fuente de carbono.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala por el cofinanciamiento del presente estudio (DIGI AP21-2021), a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y a la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala por el apoyo y aval otorgado, a la empresa LABYMED por el apoyo brindado para la identificación por espectrometría de masas de las bacterias aisladas y al Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: todos los autores
 Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: todos los autores
 Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: todos los autores
 Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: todos los autores
 Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: todos los autores.

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Cervantes-Uc, J. M., Catzin, J., Vargas, I., Herrera-Kao, W., Moguel, F., Ramirez, E., Rincón-Arriaga, S., & Lizama-Uc, G. (2014). Biosynthesis and characterization of polyhydroxyalkanoates produced by an extreme halophilic bacterium, *Halomonas nitroreducens*, isolated from hypersaline ponds. *Journal of Applied Microbiology*, *117*(4), 1056-1065. <https://doi.org/10.1111/jam.12605>
- Dong-Heon, L., Suan-Ran, M., Young-Hyun, P., Jung-H, K., Hoon, K., Parales, R., & Hyung-Yeel, K. (2010). *Pseudomonas taeanensis* sp. nov., isolated from a crude oil-contaminated seashore. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *60*(12), 175-182. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.018093-0>
- Du, C., Sabirova, J., Soetaert, W., & Ki Carol Lin, S. (2012). Polyhydroxyalkanoates production from low-cost sustainable raw materials. *Current chemical biology*, *6*(1), 14-25. <https://doi.org/10.2174/187231312799984394>
- Edbeib, M. F., Wahab, R. A., & Huyop, F. (2016). Halophiles: Biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *32*(8), Artículo 135. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2081-9>

- Fuentes, Á., Carreño, C., & Llanos, C. (2013). Rendimiento de exopolisacáridos emulgentes producidos por bacterias halófilas nativas en tres concentraciones de melaza de *Saccharum officinarum* L. "caña de azúcar". *Scientia Agropecuaria*, 4(2), 111-120. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2013.02.04>
- Gunaratne, L. M. W. K., Shanks, R. A., & Amarasinghe, G. (2004). Thermal history effects on crystallisation and melting of poly (3-hydroxybutyrate). *Thermochimica Acta*, 423(1-2), 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2004.05.003>
- Guzmán, C., Hurtado, A., Carreño, C., & Casos, I. (2017). Producción de polihidroxialcanoatos por bacterias halófilas nativas utilizando almidón de cáscaras de *Solanum tuberosum* L. *Scientia Agropecuaria*, 8(2), 109-118. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.02.03>
- Holland, R. D., Wilkes, J. G., Rafii, F., Sutherland, J. B., Persons, C. C., Voorhees, K. J., & Lay Jr, J. O. (1996). Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 10(10), 1227-1232. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19960731\)10:10<1227::AID-RCM659>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19960731)10:10<1227::AID-RCM659>3.0.CO;2-6)
- Hottle, T. A., Bilec, M. M., & Landis, A. E. (2013). Sustainability assessments of bio-based polymers. *Polymer Degradation and Stability*, 98(9), 1898-1907. <https://doi.org/10.1016/j.polyimdegstab.2013.06.016>
- Jain, R., & Tiwari, A. (2014). Homology modelling of PHA synthases in *Cupriavidus necator*. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*, 3(3), 214-223.
- Joyline, M., & Aruna, K. (2019). Production and characterization of polyhydroxyalkanoates (pha) by *Bacillus megaterium* strain jha using inexpensive agro-industrial wastes. *International Journal of Recent Scientific Research*, 10(7), 33359-33374.
- Kanekar, P. P., Joshi, A. A., Kelkar, A. S., Borgave, S. B., & Sarnaik, S. S. (2008). Alkaline Lonar lake, India - a treasure of alkaliphilic and halophilic bacteria. En M. Sengupta & R. Dalwani(Eds.), *The 12th World Lake Conference* (pp. 1765-1774).
- Katircioğlu, H., Aslim, B., Yüksesdao, Z. N., Mercan, N., & Beyatli, Y. (2003). Production of poly-β-hydroxybutyrate (PHB) and differentiation of putative *Bacillus mutant* strains by SDS-PAGE of total cell protein. *African Journal of Biotechnology*, 2(6), 147-149. <https://doi.org/10.5897/AJB2003.000-1029>
- Khanna, S., & Srivastava, A. K. (2005). Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochemistry*, 40(2), 607-619. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.053>
- Koller, M., Maršálek, L., de Sousa Dias, M. M., & Braunnegg, G. (2017). Producing Microbial Polyhydroxyalkanoate (PHA) Biopolyesters in a Sustainable Manner. *New Biotechnology*, 37(Part A), 24-38. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.05.001>
- Lee, S. Y., Choi, J.-I., Han, K., & Song, J. Y. (1999). Removal of endotoxin during purification of poly (3-hydroxybutyrate) from gram-negative bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(6), 2762-2764. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.6.2762-2764.1999>
- Mekonnen, T., Mussone, P., Khalil, H., & Bressler, D. (2013). Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. *Journal of Materials Chemistry A*, 1(43), 13379-13398. <https://doi.org/10.1039/C3TA12555F>
- Mellinas, C., Valdés, A., Ramos, M., Burgos, N., Garrigos, M. del C., & Jiménez, A. (2016). Active edible films: Current state and future trends. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(2). <https://doi.org/10.1002/app.42631>
- Mitra, R., Xu, T., Xiang, H., & Han, J. (2020). Current developments on polyhydroxyalkanoates synthesis by using halophiles as a promising cell factory. *Microbial Cell Factories*, 19, Artículo 86. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01342-z>
- Mohammed, S., Panda, A. N., & Ray, L. (2019). An investigation for recovery of polyhydroxyalkanoates (PHA) from *Bacillus* sp. BPPI-14 and *Bacillus* sp. BPPI-19 isolated from plastic waste landfill. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 1085-1096. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.155>

- Muhammadi, S., Afzal, M., & Hameed, S. (2015). Bacterial polyhydroxyalkanoates-eco-friendly next generation plastic: Production, biocompatibility, biodegradation, physical properties and applications. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 8(3-4), 56-77. <https://doi.org/10.1080/17518253.2015.1109715>
- Obruca, S., Sedlacek, P., Slaninova, E., Fritz, I., Daffert, C., Meixner, K., Sedrlova, Z., & Koller, M. (2020). Novel unexpected functions of PHA granules. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(11), 4795-4810. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10568-1>
- Rathika, R., Janaki, V., Shanthi, K., & Kamala-Kannan, S. (2018). Bioconversion of agro-industrial effluents for polyhydroxyalkanoates production using *Bacillus subtilis* RS1. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(10), 5725-5734. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2155-3>
- Reddy, M. V., & Mohan, S. V. (2012). Effect of substrate load and nutrients concentration on the polyhydroxyalkanoates (PHA) production using mixed consortia through wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 114, 573-582. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.127>
- Sadh, P. K., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 5, Artículo 1. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>
- Seo, K. S., & Bohach, G. A. (2014). Staphylococcus aureus. En M. P. Doyle, F. Diez-Gonzalez & C. Hill (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and frontiers* (4th ed., pp. 547-573). <https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch21>
- Thakur, S., Chaudhary, J., Sharma, B., Verma, A., Tamulevicius, S., & Thakur, V. (2018). Sustainability of bioplastics: Opportunities and challenges. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 13, 68-75. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.04.013>
- Wang, Y., Sun, Z., Tian, J., Wang, H., Wang, H., & Ji, Y. (2016). Influence of Environment on Ageing Behaviour of the Polyurethane Film. *Materials Science*, 22(2), 1392-1320. <https://doi.org/10.5755/j01.ms.22.2.12935>
- Yajima, T., Nagatomo, M., Wakabayashi, A., Sato, M., Taguchi, S., & Maeda, M. (2020). Bioconversion of biphenyl to a polyhydroxyalkanoate copolymer by *Alcaligenes denitrificans* A41. *AMB Express*, 10, Artículo 155. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01093-5>

Cristalogenésis biológica y cristalografía en la elucidación de la estructura tridimensional de las proteínas. Revisión narrativa

*Protein tridimensional structure by biological crystallogenesi and crystallography.
Narrative review*

Omar Velásquez-González ^{1,2*}, Luis Amézquita-Morataya ¹

¹Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,

²Unidad de Química Teórica y Computacional,

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos, Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: velasquez_omar@usac.edu.gt

Recibido: 12 de enero 2021 / Revisión: 04 de febrero 2022 / Aceptado: 15 de septiembre 2022

Resumen

La obtención de información estructural tridimensional de una proteína es de suma importancia en campos tan variados como la bioquímica funcional, las ciencias de materiales o biomédicas. Siendo actualmente la difracción de rayos X de monocristal el estándar de oro para la consecución de este objetivo, la obtención de dicho monocristal sigue siendo un cuello de botella desde el punto de vista práctico, y poco entendido desde el punto de vista teórico. En este artículo se revisa desde la perspectiva estructural de la proteína la forma en que los rayos X permiten obtener la información estructural y las condiciones fisicoquímicas que permiten la formación de un cristal adecuado para estos experimentos.

Palabras clave: Estructura tridimensional de las proteínas, cristalogenésis biológica, cristalografía, difracción de rayos X, diseño de fármacos

Abstract

Obtaining three-dimensional structural information of a protein is of utmost importance in various fields such as functional biochemistry, materials science, or biomedical sciences. Even though single crystal X-ray diffraction is currently the gold standard for this purpose, growing said single crystal is still a bottleneck from a practical viewpoint, and not fully understood from a theoretical point of view. In this article, we review, from a protein structure perspective, the way X-rays provide structural information, and the physicochemical conditions that promote the formation of an adequate crystal for these experiments.

Keywords: Protein tridimensional structure, biological crystallogenesi, crystallography, X – ray diffraction, drug design



Introducción

Nature (s.f.) indica que la Biología Estructural es el “estudio de la estructura molecular y dinámica de las biomacromoléculas, particularmente de las proteínas y los ácidos nucleicos, así como las alteraciones en la estructura que afectan su función” (párr. 1). Por tanto, incorpora los principios de la Biología Molecular, Bioquímica y Biofísica.

Aunque esto pudiera parecer un problema de química similar a los que se observan en la química de moléculas pequeñas, no lo es (McKee et al., 2014). Esto se debe a la existencia de una jerarquización en su estructura, que además de la disposición de sus átomos y sus enlaces, está ligada directamente a interacciones intermoleculares, con el solvente e interacciones supra-moleculares con otras moléculas (Berka et al., 2009; Rose et al., 2006; Williamson, 2011). Actualmente existen alrededor de 160,000 estructuras tridimensionales (Figura 1), publicadas en el Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB). De estas técnicas, la más común para resolución, en gran medida es la de Difracción de Rayos X de Monocristal, siendo actualmente la técnica principal de uso rutinario en Biología Estructural.

La formación de un cristal de proteína con fines de obtener información estructural, presenta características muy específicas tanto en los fundamentos como en las técnicas y los procesos (Rhodes, 2010). A partir de 1980 la sistematización y la formulación de modelos ha permitido el desarrollo de la llamada cristalogenésis biológica (Saridakis et al., 2002). La cristalogenésis se ha convertido en una disciplina que busca entender los principios fisicoquímicos básicos de los procesos de nucleación, cristalización, crecimiento de cristales y medir de manera cuantitativa los parámetros biofísicos y químicos que están involucrados en el crecimiento de un cristal (Giegé & Mikol, 1989).

Contenido

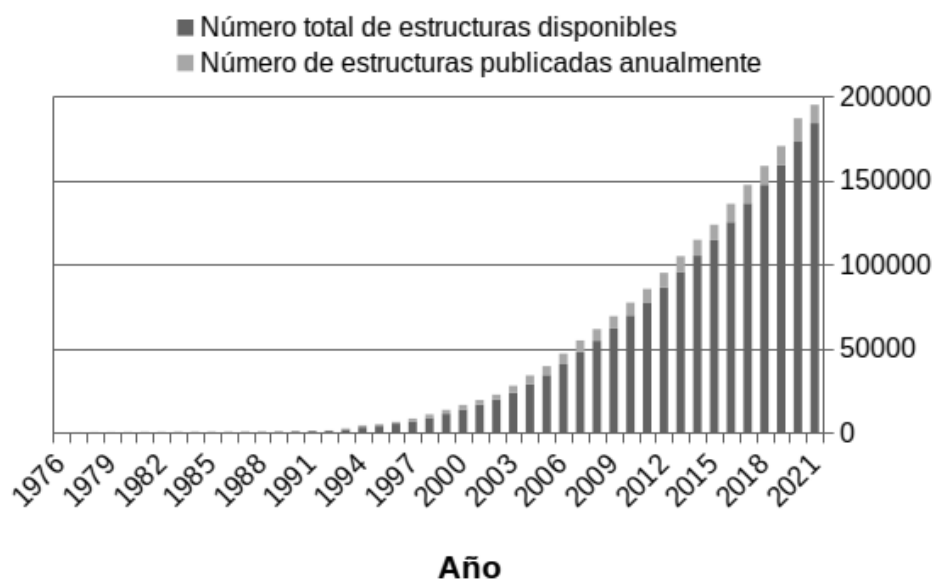
Niveles de Estructuración de una Proteína

Estructura primaria

La estructura primaria es la descripción de la secuencia de aminoácidos que conforman la proteína (Williamson, 2011), junto con modificaciones covalentes, como puentes disulfuro o fosforilaciones. Los ami-

Figura 1

Estructuras depositadas en PDB por año



Nota. Crecimiento de los depósitos de estructuras tridimensionales de Biomacromoléculas en el Protein Data Bank. Adaptado de PDB Data Distribution by Experimental Method and Molecular Type (<https://www.rcsb.org/stats/summary>). Dominio Público.

noácidos son compuestos orgánicos que contienen un grupo ácido carboxílico y una amina, unidos al mismo carbono, denominado carbono alfa (α). Este carbono se encuentra sustituido por un hidrógeno y una cadena orgánica (R). A excepción de la glicina, todos los aminoácidos naturales presentan el carbono α sustituido por cuatro diferentes radicales, haciéndolos quirales. Todos los aminoácidos naturales son L-aminoácidos como se muestra en la Figura 2 (Williamson, 2011).

Las características específicas debidas a la cadena lateral permiten que distintos residuos de la proteína tengan características químicas polares, apolares e hidrofóbicas. Además, debido a los efectos en el entorno electrónico y la presencia de grupos ácido - base en las cadenas laterales, cada residuo se encuentra en equilibrio a un pH definido (Williamson, 2011).

El heterodímero básico entre dos aminoácidos, llamado péptido, es la formación de una amida, a partir del ácido carboxílico de un aminoácido, con el grupo amino de otro. A esta condensación se le conoce como enlace peptídico. Al extenderse el número de monómeros, casi siempre quedará un grupo carboxilo y un grupo amino libres conocidos como extremos carbono y amino terminal (Williamson, 2011).

Debido a la formación del enlace peptídico en una geometría plana y rígida, se genera en la cadena principal (sin tomar en cuenta las cadenas laterales, los grupos R) dos ángulos entre los distintos planos que tienen rotación relativa entre sí, denotados como ϕ y ψ en la Figura 3. Estos enlaces diedros deben minimizar el impedimento estérico entre las cadenas laterales, por lo que se permiten solamente ciertos valores de combinaciones entre ambos (a excepción de la glicina). Esto puede ser visto, en la sección *b* de esta misma gráfica, en donde se observan zonas preferidas (sección con mayor presencia de puntos) y permitidas (sección

con menor presencia de puntos). Este gráfico, conocido como gráfico de Ramachandran, es muy útil para evaluar la estabilidad conformacional del modelo de proteína propuesto. Cualquier aminoácido que se encuentre fuera del gráfico, debe ser explicado detallada y cuidadosamente (Williamson, 2011).

Estructura Secundaria

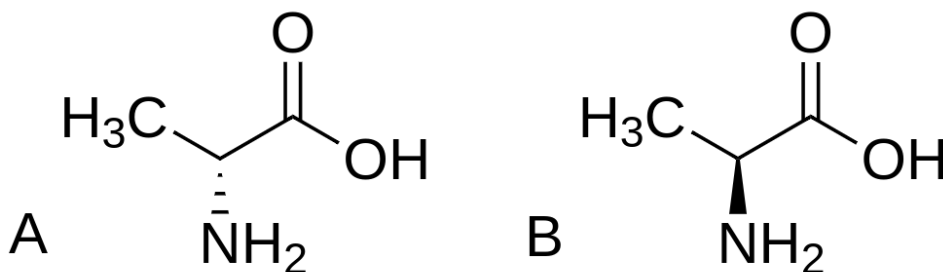
El conjunto de elementos de geometría regular de la cadena principal es conocido como estructura secundaria. Esta estructura generalmente se sostiene por interacciones intermoleculares, como puentes de hidrógeno, entre aminoácidos que se encuentran en las cercanías, con ángulos y orientaciones bien establecidas que permiten establecer topologías características. Los más comunes son las hélices alfa y láminas u hojas plegadas beta. Existe una relación directa entre la secuencia de la estructura primaria y la estructura secundaria, puesto que diferentes aminoácidos tienen tendencia a formar uno de esos elementos estructurales, por lo que puede ser predicho fácilmente (McKee et al., 2014; Williamson, 2011). Para fines ilustrativos de la jerarquía de la estructura se presentan en la Figura 4 un esquema general de la hélice alfa y la hoja plegada beta. Como se puede observar, existen enlaces de hidrógeno que permiten fijar la estructura en formas bien definidas.

Estructura Terciaria

Finalmente, la estructura terciaria es el plegamiento tridimensional completo. La estructura terciaria está íntimamente ligada a su función, siendo la más conservada. Esto se debe a que los dominios que las

Figura 2

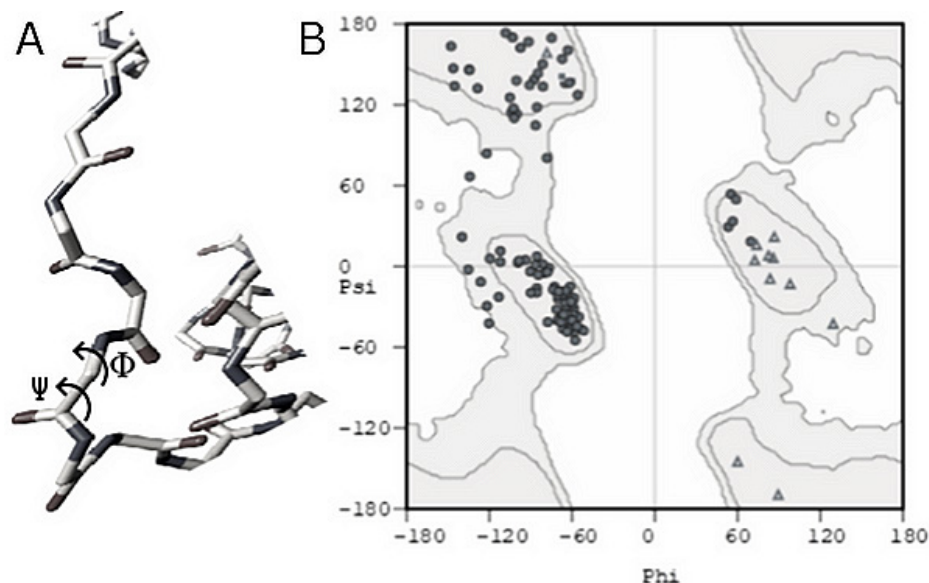
Quiralidad de los aminoácidos



Nota. 2A: L – aminoácido, 2B: D – aminoácido.

Figura 3

Combinaciones aceptadas de ángulos diedros de cadena principal



Nota. Panel A: Ángulos de la cadena principal de una proteína. Panel B: Diagrama de Ramachandran, con las relaciones de ángulos en secciones preferidas (secciones ovaladas) y aceptadas, imagen de ICRL de “Insights into interfacial activation from an open structure of *Candida rugosa* lipase” por P. Grochulski y M. Cygler, 1993, *Journal of Biological Chemistry*, 268, pp. 12843-12847 creado con Coot de “Coot: model-building tools for molecular graphics” por P. Emsley, y K. Cowtan, 2004, *Acta Crystallographic*. D 60 pp. 2126-2132.

conforman se han desarrollado de manera independiente y posteriormente se conjuntan en proteínas con funciones específicas (Gihaz et al., 2018). Existe evidencia contundente de la conservación de dominios entre especies filogenéticamente muy separadas, pero con funciones similares. Por lo tanto, se puede suponer de manera análoga a la evolución de los organismos, una evolución de la estructura de las proteínas a través de la conservación de secciones más útiles y posteriores modificaciones genéticas por los mecanismos mutagénicos evolutivos conocidos, teniendo como resultado plegamientos característicos similares en prácticamente todas las estructuras de proteínas conocidas (Yeats & Orengo, 2007). Este comportamiento similar permite definir de manera termodinámica el concepto de proteína (y diferenciarse, por ejemplo, de los péptidos) a través de su plegamiento.

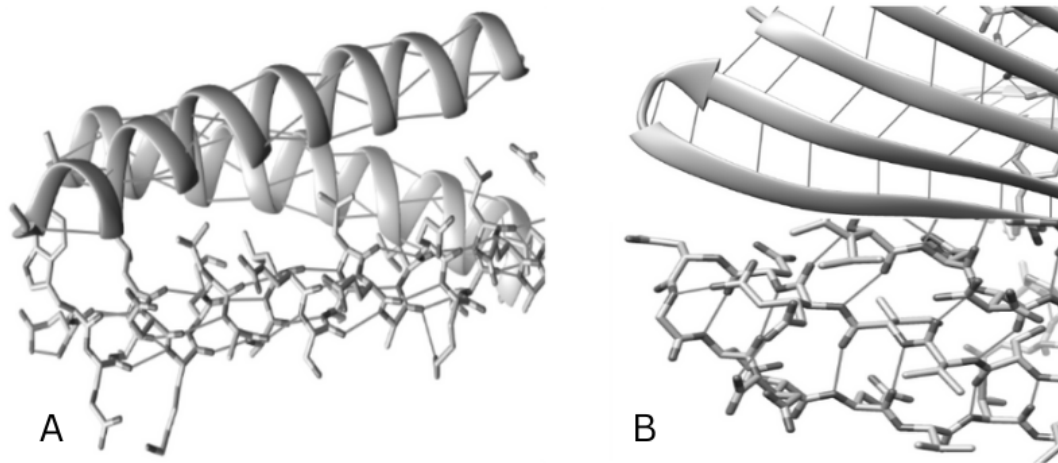
Se ha observado que cualquier proteína, no importando su tamaño, presenta una ruta de plegamiento parecida, en la cual la superficie de energía libre es

rápidamente muestreada y decae a su mínimo en pocos pasos (Honda et al., 2008). A nivel molecular, la fuerza motriz de este comportamiento se debe a la formación de un núcleo hidrofóbico. Cuando la estructura terciaria se está ensamblando en un medio acuoso, similar al de los organismos, la mayoría de los aminoácidos hidrofóbicos que forman parte de la secuencia establecen interacciones intermoleculares, conocidas como interacciones hidrofóbicas, que buscan ocultar estas secciones del agua, exponiendo los aminoácidos hidrofílicos o cargados al solvente acuoso (Burhman et al., 2003; Dror et al., 2015; Mohtashami et al., 2019; Pace et al., 2004). Esto se conoce como colapso hidrofóbico y juega un papel preponderante durante el plegamiento de las proteínas (Konieczny et al., 2006).

Del colapso hidrofóbico durante el plegamiento de una proteína surge como corolario la importancia para la estructura tridimensional de la solvatación de la proteína. Se ha observado que la capa de agua directamente en contacto con la superficie de la proteína

Figura 4

Estructuras básicas de Hélice Alfa y Hoja Plegada Beta



Nota. Panel A: Relaciones intramoleculares de una hélice alfa, imagen de ICOS de “Crystal structure of a synthetic triple-stranded α -helical bundle” por L. Brett, C. Seunghyon, C. Duilio, K., M. D., F., D. W., y E. David, 1993, *Science*, 259, pp. 1288-1293 creado con Chimera de “UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis” por E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, y T. E. Ferrin, 2004, *Journal of Computational Chemistry*, 25, pp. 1605-1612. Panel B: Relaciones intramoleculares de una lámina (hoja) beta, imagen 1R0U de “Crystal structure of ywiB protein from *Bacillus subtilis*” de J. Osipiuk, X., Xu, A., Savchenko, A., Edwards, A., Joachimiak, Midwest Center for Structural Genomics, 2003, doi: 10.2210/pdb1R0U/pdb creado con Chimera de “UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis” por E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, y T. E. Ferrin, 2004, *Journal of Computational Chemistry*, 25, pp. 1605-1612

está tan fuertemente unida a la misma (por fuerzas intermoleculares) que puede decirse que son estructurales, sobre todo en la cercanía de un residuo cargado (Saha & Mukherjee, 2018). La dinámica de las moléculas conforme se van alejando de esta capa parece aumentar de manera discreta, modificándose dos o tres veces antes de llegar al solvente que no interacciona (Bagchi, 2005).

Este comportamiento es importante también en la presencia de solventes orgánicos, puesto que su presencia en la primera capa de solvatación, si interactúa con la capa hidrofóbica, puede bloquear el plegamiento o desnaturalizar la misma proteína. Sin embargo, en capas más alejadas, o en proteínas con secciones hidrofóbicas expuestas puede actuar como estabilizante micelar (Gomez-Puyou et al., 1992).

Difracción de Rayos X de Monocristal

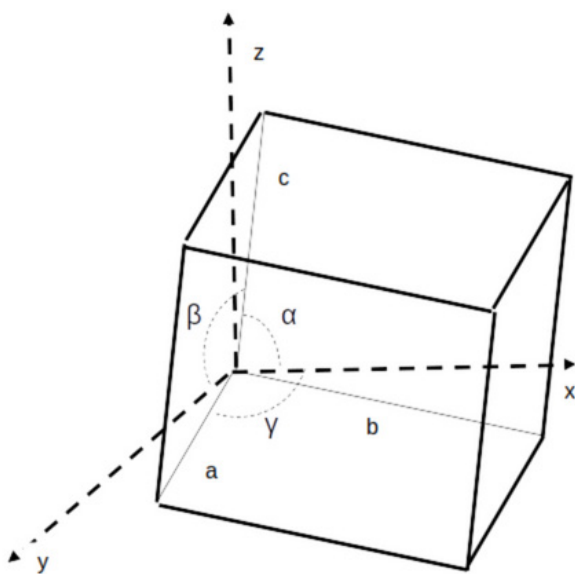
Principios de Difracción de Rayos X

La estructura de una proteína se obtiene a partir un monocristal de ésta. Un cristal de este tipo es una repetición tridimensional del mismo patrón básico, hasta llegar a dimensiones de décimas de milímetro e inclusive milímetros para uso en difracción de neutrones. En el experimento de difracción de Rayos X, el patrón repetitivo del cristal permite que la señal producida por los dispersores atómicos se magnifique. La celda unitaria (ver Figura 5) es un paralelepípedo (definido por tres vectores unidad y tres ángulos) que al trasladarse de manera periódica en tres dimensiones

reproduce el cristal por completo. En su interior contiene una o más moléculas de proteína (en este caso) que forman el cristal (Parker, 2003).

Figura 5

Celda Unitaria Modelo



Nota. Celda Unitaria Modelo. La geometría de la repetición de la sección asimétrica se puede definir por tres vectores (a , b , c) y tres ángulos (α , β , γ).

Para que la interacción de un cristal de proteína con la radiación electromagnética produzca un efecto de difracción (es realmente un fenómeno de interferencia) es necesario que la longitud de onda de la radiación sea del mismo orden de magnitud que la separación de los planos cristalográficos dentro del cristal. Esto se cumple para los rayos X cuya longitud de onda se encuentra entre 1 a 10 Å. En la Figura 6 se explica este comportamiento. Un haz de rayos X incide en un dispersor que se encuentra en una posición específica de la red cristalina. La radiación dispersada puede describirse como una onda viajera, que sale con un ángulo igual al plano de incidencia, con respecto a la normal. Este mismo fenómeno sucede con otros dispersores en diferentes posiciones. Dependiendo de la capacidad dispersiva y la distancia entre los planos en que se encuentran los dispersores, las ondas viajeras pueden interferir constructiva o destructivamente para

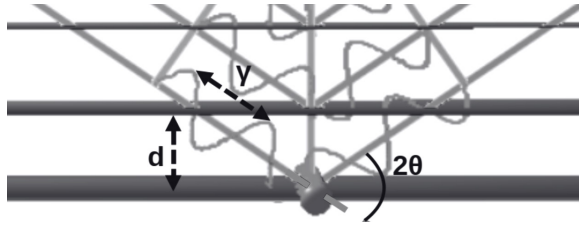
producir un patrón de interferencia específico (Parker, 2003), que depende de la diferencia de fase en la onda (representada como ϕ) y el módulo de la amplitud (F).

Si el haz incide con un ángulo θ con respecto al plano (ver Figura 7), se forman los triángulos rectángulos adyacentes entre los puntos $O - A - B - C$. Dado que los haces deben ser paralelos (estos son representados por un grupo de tres números, llamados índices de Miller, que indican en un origen cartesiano relativo, en qué lugar ocurre la intersección de los ejes por distintos planos que coinciden con algunos de los dispersores), $O - C$ y $O - B$ son perpendiculares a $A - C$ y $A - B$ respectivamente, y se obtiene que $AB = AC = d \sin \theta$. Debido a la restricción que requiere que la interferencia de las ondas sea constructiva, se tiene que $AB + AC = n\lambda = 2d \sin \theta$.

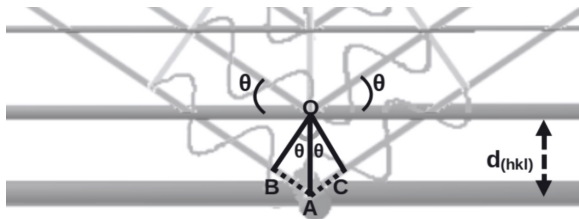
Patrón de Difracción: Espacio Recíproco y Espacio Real

En la Figura 8 se observa el resultado de colocar un detector de radiación bidimensional a una distancia determinada del cristal que se somete a un experimento de difracción. Cada reflexión en el patrón de difracción representa una posición específica, que depende de la familia de planos cristalinos con los mismos índices de Miller que sufren interferencia constructiva y dan origen a dicha reflexión (otorgando información de la posición de los dispersores). Por otro lado, la intensidad de las reflexiones es el resultado de la suma de las ondas reflejadas en fase, por lo que depende de las características de los dispersores (y por lo tanto da información de la naturaleza de los átomos ubicados sobre los planos, dado que dependen de la densidad electrónica de los mismos) (Howard & Brown, 2001).

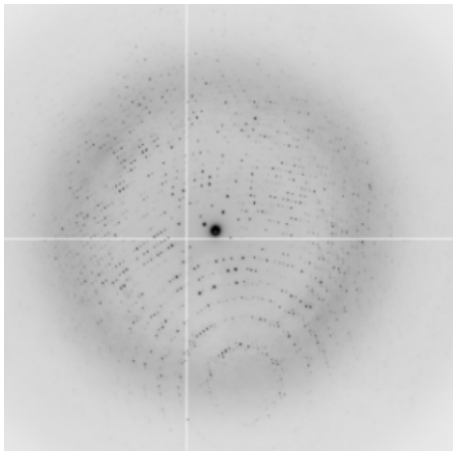
Aunque la geometría básica del cristal, a lo que se le puede llamar espacio real, se transfiere a las reflexiones del patrón de difracción en el espacio recíproco, existe una transformación del sistema que provoca que no sean idénticos. Los cambios básicos que se observan son que las dimensiones de los vectores de posición relativa en el cristal son los recíprocos de los vectores en el espacio real y que los ángulos en el espacio real son suplementarios a los ángulos en el espacio recíproco. Con base en lo expuesto, también se puede intuir que el patrón de difracción de la Figura 8 puede ser el de una proteína, puesto que el espacio entre reflexiones es pequeño (y por lo tanto este mismo espacio en el cristal es grande) (Howard & Brown, 2001).

Figura 6*Dispersión de Rayos X en un Cristal*

Nota. La estructura ordenada de los planos cristalográficos de un sólido permite que bajo ciertas condiciones geométricas los haces de rayos equis se encuentren completamente en fase.

Figura 7*Ley de Bragg. Relación entre el ángulo de incidencia y la condición de interferencia constructiva*

Nota. La geometría definida por la ley de Bragg describe detalladamente la relación entre los planos cristalográficos y los haces de rayos x estableciendo el ángulo que permite que estos últimos estén en fase.

Figura 8*Patrón de Difracción Característico para una Proteína*

Nota. Imagen de difracción típico. La gran cantidad y la distancia entre las reflexiones son características de una proteína.

Mapa de Densidad Electrónica y Elaboración del Modelo Molecular

Con base en lo discutido hasta esta sección, es evidente que es posible deducir la posición tridimensional de los dispersores a partir de la información de las reflexiones. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, dado que las reflexiones se deben a contribuciones de los planos cristalinos, teóricamente en cada reflexión existe una parte aportada por cada dispersor, y cada dispersor está diseminado en todas las reflexiones. Ya que la intensidad de una onda está dada por el cuadrado del módulo de su amplitud $F(hkl)$, conocido como factor de estructura, siendo su valor al cuadrado igual a la intensidad. Para poder separar cada contribución es necesario conocer la fase (ϕ) de la Figura 6, como puede describirse en la Ecuación 1. Sin embargo, esta información de la sumatoria se pierde durante la medición, y por tanto debe ser aproximada numéricamente, utilizando métodos heurísticos. La imposibilidad de determinar experimentalmente las fases se conoce como problema de las fases (Drenth, 2007).

$$F(hkl) = V \int_{x=0}^1 \int_{y=0}^1 \int_{z=0}^1 \rho(xyz) \exp[2\pi i(hx + ky + lz)] dx dy dz \quad (1)$$

En los inicios de la cristalografía de proteínas se utilizaron macromoléculas que tuvieran átomos con un número atómico alto (i.e. átomos metálicos), puesto que la intensidad de las reflexiones sería dominada por este dispersor. Si existieran varios átomos metálicos o “átomos pesados”, es entonces posible encontrar sus posiciones relativas y luego aproximar la fase del resto de los átomos mediante iteraciones sucesivas. Este método es conocido como del átomo pesado y actualmente se suele usar en la técnica de dispersión anómala (Rhodes, 2010). Es mucho más común utilizar un modelo ya publicado con secuencia similar a la proteína que se está tratando resolver y realizar las transformaciones pertinentes, como primera aproximación a las fases (Rhodes, 2010), método conocido como Reemplazo Molecular.

De la Ecuación 1 se puede deducir que, una vez establecidos los factores de estructura, es posible conocer la densidad electrónica. Dado que en realidad solamente es posible conocer de manera discreta los factores, se obtienen descripciones discretas de la densidad electrónica. La resolución de la densidad electrónica está dada entonces por la menor distancia entre dos puntos de densidad que pueden ser resueltos. Como se puede ver en la Figura 9, la resolución experimental tiene un efecto importante en la calidad del modelo

que se pueda determinar. A alta resolución se puede observar inclusive cada átomo claramente y definir la conectividad a partir de la distancia de enlace, permitiendo describir completamente tanto la cadena principal como la cadena lateral de la proteína, describiendo su estructura terciaria e inclusive sus interacciones.

Cristalogénesis Biológica

Diagrama de Solubilidad: Parámetros Termodinámicos

La cristalización es un fenómeno de transición de fase en el cual una solución de proteína es llevada a sobresaturación, ya sea cambiando la concentración de precipitante, de proteína o de aditivos, pH o temperatura (McPherson, 2004). El fenómeno se puede entender a partir de las diversas secciones de un diagrama de solubilidad (Figura 10).

1. Insaturación: En esta zona la concentración de proteína en las condiciones especificadas es menor a la necesaria para que la proteína cambie a una fase sólida.
2. Sobresaturación: En esta fase la concentración de la proteína es mayor a su solubilidad. Esto significa que una porción de la proteína saldrá de la solución y formará una especie sólida.
 - Zona de Precipitación: En esta zona la concentración de la proteína es tan alta que la formación del sólido es muy rápida y se forman una gran cantidad de cristales demasiado pequeños como para ser analizados por las técnicas de monocristal.
 - Zona de Nucleación: En esta zona se forman núcleos de cristalización, consistentes en pequeños clústeres de proteína separados de la fase continua de solución, pero que no son observables por medios ópticos.
 - Zona Metaestable: Una zona de baja sobresaturación, en la cual los cristales son estables y pueden crecer, pero no se forman nuevos núcleos de cristalización.

Para obtener un cristal con características adecuadas y poder adquirir datos de alta resolución, y un modelo con mucho detalle y alta calidad, es deseable que se alcance la zona de nucleación obteniéndose una baja cantidad de núcleos de cristalización y que la solu-

ción pase rápidamente a la zona metaestable (Moreno & Mendoza, 2014; Velásquez-González et al., 2019). En la zona metaestable, es preferible que el límite termodinámico de solubilidad se alcance lentamente, y que la agregación de nuevas proteínas al cristal se dé por medios exclusivamente difusivos, eliminando la convección de cualquier tipo (Chayen, 2004). Normalmente se usa un agente precipitante el cual es una especie química que compite con la proteína por el solvente. Cuando las concentraciones de proteína y de dicho agente son suficientemente altas, la proteína se separa de la solución y se asocia para formar un cristal (proceso conocido como *salting-out*, en inglés, y precipitación ordenada o precipitación, en español) (McPherson, 2004). Los agentes precipitantes se pueden clasificar de la siguiente manera:

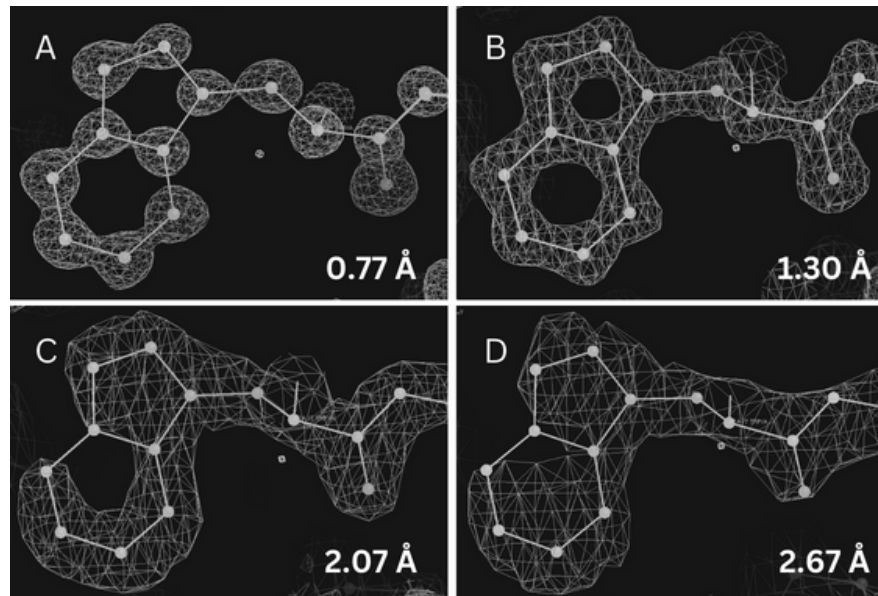
1. Sales inorgánicas: Forman una red con las moléculas de agua que genera que las proteínas se asocien entre sí. El efecto suele ser dominado por entalpía (McPherson, 2004).
2. Solventes Orgánicos Volátiles: reducen la constante dieléctrica del medio apantallando los campos eléctricos entre proteínas. Sin embargo pueden ocasionar la desnaturalización de las proteínas (McPherson, 2004).
3. Polímeros: produce efectos de exclusión de volumen; el espacio para que el solvente acuoso hidrate efectivamente a la proteína se reduce, generando dispersión y formación de agregados (McPherson, 2004).
4. Solventes Orgánicos no Volátiles: similar al de los solventes orgánicos volátiles en diseños de experimentos distintos (McPherson, 2004).

Nucleación, Crecimiento Cristalino, Efectos Cinéticos y Difusivos

Para obtener un monocristal de proteína es necesario que sucedan dos eventos consecutivos de características diferentes: la nucleación y el posterior crecimiento ordenado del núcleo cristalino (Chayen, 2004). La nucleación es la obtención, a partir de la solución sobresaturada de la proteína, de una fase separada microscópica con características de orden traslacional y rotacional distintos a la solución (García-Ruiz, 2003). Para las proteínas se han establecido dos teorías diferentes de formación de núcleos. La primera, conocida como teoría clásica de nucleación, está descrita por la separación heterogénea de fases, descrita por

Figura 9

Relación de densidad electrónica y resolución



Nota. Descripción de la densidad electrónica en función de la longitud de onda más pequeña que el cristal produce una señal de difracción. Nótese como el mayor detalle a menor longitud de onda permite establecer más claramente la identidad molecular. Residuo de Triptófano en mioglobinas de *Physeter catadon*. Panel A: Imagen 5YCE de “Tracing whale myoglobin evolution by resurrecting ancient proteins”, de Y. Isogai, H., Imamura, S., Nakae, T., Sumi, K., Takahashi, T., Nakagawa, A., Tsuneshige, T., Shirai, 2017, *Science Report*, 8, pp. 16883-16883 creado con Coot de “Coot: model-building tools for molecular graphics” por P. Emsley, y K. Cowtan, 2004, *Acta Crystallographic. D* 60 pp. 2126-2132. Panel B: Imagen 1JW8 de “Sampling of the native conformational ensemble of myoglobin via structures in different crystalline environments”, de D. A., Kondrashov, W., Zhang, R., Aranda, B., Stec, G. N. Jr, Phillips, 2008, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 70, 353-362 creado con Coot de “Coot: model-building tools for molecular graphics” por P. Emsley, y K. Cowtan, 2004, *Acta Crystallographic. D* 60 pp. 2126-2132. Panel C: Imagen 1O1M “Correlations between Bound N-Alkyl Isocyanide Orientations and Pathways for Ligand Binding in Recombinant Myoglobins. Thesis”. Panel D: Imagen 1O8M de “Correlations between Bound N-Alkyl Isocyanide Orientations and Pathways for Ligand Binding in Recombinant Myoglobins. Thesis” por R. D., Smith, 1999, creado con Coot de “Coot: model-building tools for molecular graphics” por P. Emsley, y K. Cowtan, 2004, *Acta Crystallographic. D* 60 pp. 2126-2132.

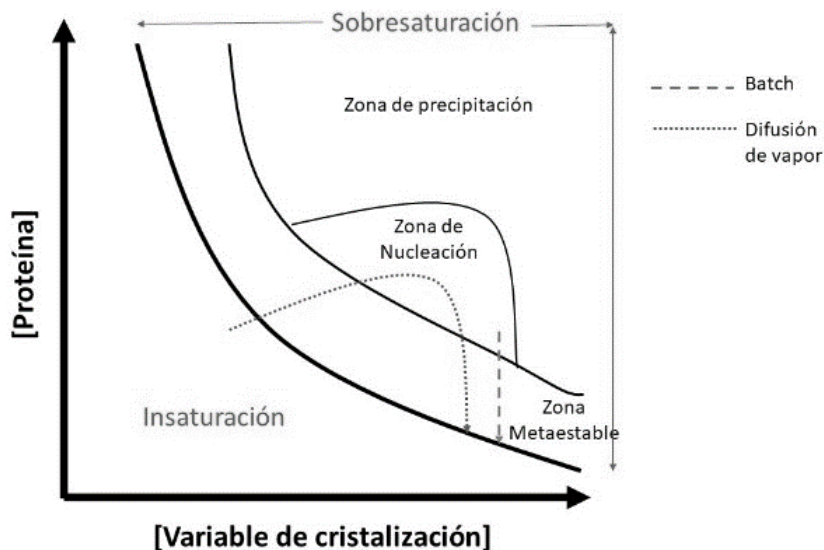
Gibbs (1878) en su forma general y aplicada por Frenkel (1939). La energética básica se puede observar en la Figura 11. La formación de un núcleo estable sucede cuando se alcanza un volumen crítico, en el cual la interacción entre los miembros del núcleo, supera a la interacción de los miembros del núcleo que forman parte de la superficie de éste e interactúan con el solvente (García-Ruiz, 2003). Fuera de la teoría clásica de nucleación se ha propuesto la existencia de una nucleación multietapa. Esta teoría propone un mecanismo de autoensamblaje debido a interacción y oligomerización

de las proteínas, para formar un líquido denso metaestable (Markov, 2016; Nanev, 2014, 2018). Como consecuencia, el proceso de nucleación no es totalmente estocástico (Bonn & Shahidzadeh, 2016).

En la Figura 12 se muestra un esquema del crecimiento de una capa cristalina, luego de que se ha formado un núcleo. La primera forma de crecer es de manera tangencial, en donde se agrega la proteína a una capa existente. La segunda es la creación de nuevos vértices, o crecimiento normal. El crecimiento tangencial es un proceso sencillo, ya que es un proceso

Figura 10

Secciones de un diagrama de solubilidad y la trayectoria de distintas técnicas de cristalización



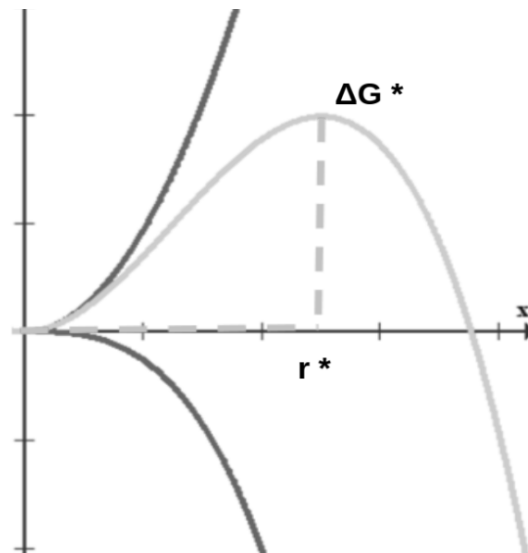
Nota. Trayectoria en el diagrama de solubilidad de las técnicas clásicas de cristalización de proteínas. Se busca llegar a una sobresaturación en la zona de nucleación y pasar rápidamente a la zona metaestable.

cooperativo favorecido por la entalpía que supone una adhesión directa al vértice existente, mientras que el crecimiento normal depende de que una capa se encuentre completamente ocupada; básicamente es un evento local de nucleación que conlleva a una mayor cantidad de imperfecciones e impurezas en el cristal. La mayoría de las proteínas (e incluso virus) generan nuevas capas a través de un proceso de crecimiento bidimensional en una superficie existente. Guiadas por un sistema ordenado basal, las moléculas del cristal en crecimiento se ordenan en arreglos cristalinos consistentes con la cara en crecimiento, denominado homoeptaxia. Un posterior crecimiento del mismo plano se da por un crecimiento tangencial en los espacios vacíos (McPherson & Kuznetsov, 2014).

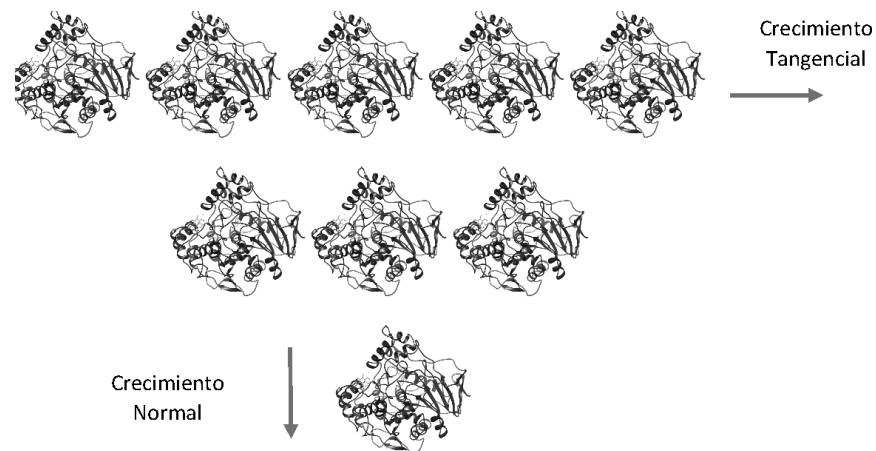
Únicamente cuando se trata de un cristal de una biomolécula, existe la posibilidad de un crecimiento tridimensional, que es similar al hábito cristalino macroscópico. Cada bloque proporciona vértices para el crecimiento tangencial de la capa. El origen de este mecanismo es intrigante. Sin embargo, se ha encontrado evidencia de que se debe al mecanismo no clásico de nucleación, donde se forma una gota auto-

ensamblada, con características distintas a la solución, pero sin ser sólido. En este caso dicha gota, que aún posee características desestructuradas, pero se encuentran hiper-saturadas, al sedimentar en la superficie de un cristal en crecimiento, funciona como sustrato epitaxial (Bonn & Shahidzadeh, 2016; McPherson & Kuznetsov, 2014).

En un cristal en equilibrio con una solución de proteína, se forma una capa interfacial, en la cual esta cambia de la concentración en la solución, a la concentración del sólido (o volumen molar). La fuerza motriz de la formación del cristal es la posibilidad de las moléculas en la solución de formar asociaciones con las moléculas que se encuentran en la superficie del cristal, compensando las secciones libres. A la diferencia de energía se le denomina energía interfacial, y es el parámetro termodinámico más importante para caracterizar la cinética del cristal en crecimiento (Haas & Drenth, 2000). Los valores medidos de las soluciones de cristales de proteína son varios órdenes de magnitud menores que las presentes en soluciones de moléculas pequeñas, evidenciando que la diferencia de energía entre la solución y el cristal es pequeña.

Figura 11*Energética de Nucleación*

Nota. Compensación de la energía interfacial (trayectoria hacia arriba) por la energía internuclear (trayectoria hacia abajo).

Figura 12*Vías de crecimiento cristalino*

Nota. Crecimientos clásicos de un cristal de proteína, en el mismo plano (crecimiento tangencial) y perpendicular al plano (crecimiento normal), imagen de ICRL de “Insights into interfacial activation from an open structure of *Candida rugosa* lipase” por P. Grochulski y M. Cygler, 1993, *Journal of Biological Chemistry*, 268, pp. 12843-12847 creado con Coot de “Coot: model-building tools for molecular graphics” por P. Emsley, y K. Cowtan, 2004, *Acta Crystallographic*. D 60 pp. 2126-2132 creado con Chimera de “UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis” por E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, y T. E. Ferrin, 2004, *Journal of Computational Chemistry*, 25, pp. 1605-1612.

Esto puede deberse a que la hidratación de la macromolécula no varía apreciablemente en el cristal (McPherson & Kuznetsov, 2014). La formación de una zona de depleción continua en un sistema totalmente difusivo minimiza y estabiliza la sobresaturación de la interfaz entre el cristal y la solución, haciendo constante el flujo de masa e impulsando el crecimiento cristalino, lo cual favorece el arreglo cinético de las moléculas en la superficie del cristal. Por lo tanto, las condiciones de transporte difusivo de masa son claves en la obtención de cristales de muy alta calidad (Gavira et al., 2020).

Métodos de Crecimiento de Cristales

En vista de todas las variables para obtener un cristal adecuado para realizar experimentos de Biología Estructural, existen diferentes técnicas para satisfacer los criterios termodinámicos, cinéticos y difusivos. A continuación, se presentarán algunos.

Difusión en fase vapor

Las técnicas de difusión en fase vapor, en las modalidades de gota colgante y gota sedente, son las técnicas más utilizadas y exitosas para obtener cristales de proteína. En la Figura 13 se presenta un esquema de las estrategias básicas de las técnicas de difusión en fase vapor. Esta técnica consiste en el cambio de fase del solvente acuoso, debido a la diferencia de actividad entre las dos soluciones del experimento. La solución que contiene la proteína se encuentra en la gota que está separada del reservorio, con la solución amortiguadora y el agente precipitante a concentraciones menores

que el reservorio (así como cualquier otro aditivo necesario) (Curcio et al., 2008; Gavira et al., 2020). La solución del reservorio es similar en las especies a la de la gota, pero se encuentra en concentraciones más altas, y no está presente la proteína. Ello genera un gradiente de potencial químico, que ocasiona que el vapor de agua de la solución diluida migre a la solución concentrada (Rhodes, 2010).

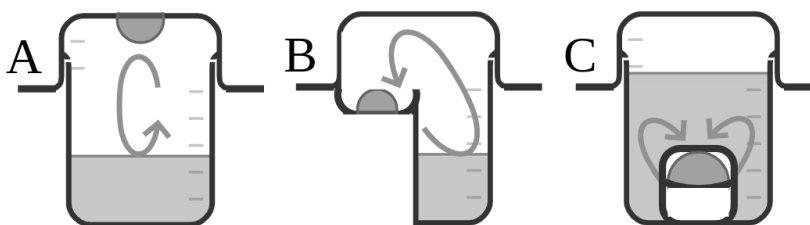
Al inicio, la solución en la gota debe encontrarse en una concentración menor a la de saturación (Ver Figura 10, trayectoria punteada). Dado que la solución del reservorio tiene una concentración mayor, tanto de la proteína como del agente precipitante, el estado termodinámico en donde alcanza el equilibrio se encuentra en la sección de nucleación. Al disminuir la concentración de proteína, por la formación de los núcleos, se alcanza la región metaestable, y el cristal puede crecer. Esta técnica es muy utilizada cuando no se conocen las condiciones exactas de cristalización, por lo que es necesario hacer un barrido de las concentraciones de proteína y agente precipitante.

Batch

En el caso de la técnica de Batch, se conoce directamente las concentraciones óptimas de nucleación y crecimiento cristalino de las soluciones de cristalización. Esto es equivalente a colocar el experimento en la sección de nucleación. El diseño del experimento es simplemente colocar una mezcla de la proteína en el amortiguador adecuado, a las concentraciones de precipitantes y aditivos. Por lo tanto, debe conocerse exactamente la condición adecuada (Ver Figura 10, trayectoria con guiones).

Figura 13

Técnicas de difusión de vapor



Nota. La difusión de vapor (trayectoria indicada por la flecha) en las técnicas de cristalización permite que la concentración de proteína y agente precipitante disminuya lentamente.

Aplicación de estructuras biológicas en el diseño de fármacos

A partir de 1980 se inició un nuevo enfoque en el diseño de fármacos las cuales debían de crearse específicamente para atacar sitios objetivo en las biomarc-moléculas (como proteínas). Dicho proceso consiste en cuatro pasos: identificación del sitio objetivo y validación, evaluación del sitio objetivo, identificación de aciertos, y optimización de aciertos para candidatos y su respectiva optimización consecuente (Renaud, 2020). La identificación del sitio objetivo y validación parten de la estructura cristalina para llevar a cabo procesos como tamizajes fenotípicos o tamizajes por métodos basados en técnicas computacionales basado en la estructura (Renaud, 2020). En la evaluación del sitio activo se pueden utilizar métodos computacionales para identificar los mejores ligandos para un sitio objetivo (Frye et al., 2021). La identificación del acierto se torna más sencilla cuando se conoce la estructura biológica ya que con facilidad se puede identificar si existirá una mayor interacción con las nubes electrónicas del ligando (Subramaniam & Kleywegt, 2022). Los avances en este campo han alcanzado nuevos tratamientos como la degradación de proteínas objetivo (TPD por sus siglas en inglés) cuyo potencial reside en atacar proteínas que no se pueden atacar con moléculas pequeñas convencionales (e.g. cáncer) (Békés et al., 2022).

Durante el 2020 se desató la pandemia del coronavirus SARS-CoV2 (o comúnmente conocida como la enfermedad por coronavirus 19, COVID-19) y la búsqueda organizada sin precedentes de una cura que fuese capaz de contener la pandemia (Scudellari, 2020). Se inició la búsqueda de drogas por medio del enfoque SBDD (diseño de drogas basados en su estructura, por sus siglas en inglés), por lo que la cristalografía de rayos X fue indispensable para determinar la estructura de alguna proteína que, al ser inhibida, detendría el ciclo de replicación del virus. En efecto, se determinó que la estructura biológica de la proteasa M^{pro} (o 3CL) es similar a una hallada en el SARS-CoV, la cual presenta una actividad proteolítica esencial para la replicación del virus (Gao et al., 2021). Esta proteína presenta un sitio objetivo de interés para el diseño de drogas. Debido a que gran parte de la información que se ha obtenido del SARS-CoV2 es de acceso libre (Scudellari, 2020) algunos autores han usado a su favor esta ventaja para diseñar drogas que sean capaces de inhibir al virus. Un muy buen ejemplo se presenta en Zhang y colaboradores

(2020) quienes diseñaron y sintetizaron la droga UCI-1 propuesta por Kreutzer y colaboradores (2020) a partir de conocimientos empíricos de bioquímica y el PDB (5B6O) de la proteasa M^{pro}. Llevaron a cabo un análisis computacional de acoplamiento (*docking* en inglés) para calificar el poder inhibitorio de su estructura. El ejemplo es excepcional ya que tiene por objetivo incentivar a otros investigadores a buscar nuevas drogas utilizando la metodología propuesta. Actualmente, siguiendo el mismo proceso, se han hallado drogas capaces de inhibir la misma proteasa M^{pro} en cepas distintas del SARS-CoV2 como la ómicron (Quan et al., 2022).

Conclusión

La cristalografía de proteínas es el estándar de oro para obtener información acerca de la estructura tridimensional de una proteína.

Aunque la obtención de un monocristal adecuado es un cuello de botella, el uso de las herramientas de la Biología Estructural permite un acercamiento sistemático.

La aplicación de la obtención de la estructura tridimensional de una proteína es un primer paso imprescindible en el diseño de fármacos.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: todos los autores

Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: todos los autores

Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: todos los autores

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Bagchi, B. (2005). Water dynamics in the hydration layer of biomolecules and self-assembly. *Chemical Reviews*, 105(9), 3197-3219. <https://doi.org/10.1021/cr020661>

- Békés, M., Langley, D. R., & Crews, C. M. (2022). PROTAC targeted protein degraders: The past is prologue. *Nature Reviews Drug Discovery*, 21(3), 181-200. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00371-6>
- Berka, K., Hobza, P., & Vondrášek, J. (2009). Analysis of energy stabilization inside the hydrophobic core of rubredoxin. *ChemPhysChem*, 10(3), 543-548. <https://doi.org/10.1002/cphc.200800401>
- Bonn, D., & Shahidzadeh, N. (2016). Multistep crystallization processes: How not to make perfect single crystals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(48), 13551-13553. <https://doi.org/10.1073/pnas.1616536113>
- Brett, L., Seunghyon, C., Duilio, C., K., M. D., F., D. W., & David, E. (1993). Crystal structure of a synthetic triple-stranded α -helical bundle. *Science*, 259(5099), 1288-1293. <https://doi.org/10.1126/science.8446897>
- Burhman, G., de Serrano, V., & Mattos, C. (2003). Organic solvents order the dynamic switch II in Ras crystals. *Structure*, 11(7), 747-751. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(03\)00128-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0969-2126(03)00128-X)
- Chayen, N. E. (1998). Comparative studies of protein crystallization by vapour-diffusion and microbatch techniques. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 54(1), 8-15. <https://doi.org/10.1107/S0907444997005374>
- Chayen, N. E. (2004). Turning protein crystallisation from an art into a science. In *Current Opinion in Structural Biology*, 14(5), 577-583. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2004.08.002>
- Curcio, E., Di Profio, G., & Drioli, E. (2008). Probabilistic aspects of polymorph selection by heterogeneous nucleation on microporous hydrophobic membrane surfaces. *Journal of Crystal Growth*, 310(24), 5364-5369. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2008.09.030>
- Drenth, J. (2007). The Solution of the Phase Problem by the Isomorphous Replacement Method. In *Principles of Protein X-Ray Crystallography* (pp. 123-171). Springer New York. https://doi.org/10.1007/0-387-33746-6_7
- Dror, A., Kanteev, M., Kagan, I., Gihaz, S., Shahar, A., & Fishman, A. (2015). Structural insights into methanol-stable variants of lipase T6 from *Geobacillus stearothermophilus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(22), 9449-9461. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00253-015-6700-4>
- Emsley, P., & Cowtan, K. (2004). Coot: model-building tools for molecular graphics. *Acta crystallographica section D: biological crystallography*, 60(12), 2126-2132.
- Frenkel, J. (1939). A general theory of heterophase fluctuations and pretransition phenomena. *The Journal of Chemical Physics*, 7(7), 538-547. <https://doi.org/10.1063/1.1750484>
- Frye, L., Bhat, S., Akinsanya, K., & Abel, R. (2021). From computer-aided drug discovery to computer-driven drug discovery. *Drug Discovery Today: Technologies*, 39, 111-117. <https://doi.org/10.1016/J.DDTEC.2021.08.001>
- García-Ruiz, J. M. (2003). Nucleation of protein crystals. *Journal of Structural Biology*, 142(1), pp. 22-31). Academic Press Inc. [https://doi.org/10.1016/S1047-8477\(03\)00035-2](https://doi.org/10.1016/S1047-8477(03)00035-2)
- Gao, K., Wang, R., Chen, J., Tepe, J. J., Huang, F., & Wei, G. W. (2021). Perspectives on SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(23), 16922-16955. <https://doi.org/10.1021/ACS.JMEDCHEM.1C00409>
- Gavira, J. A., Otálora, F., González-Ramírez, L. A., Melero, E., van Driessche, A. E. S., & García-Ruiz, J. M. (2020). On the quality of protein crystals grown under diffusion mass-transport controlled regime (I). *Crystals*, 10(2), 1-13. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/cryst10020068>
- Gibbs, J. W. (1878). On the Equilibrium of Heterogeneous Substances. *American Journal of Science and Arts*, 16(96), 441.
- Giegé, R., & Mikol, V. (1989). Crystallogenesis of proteins. *Trends in Biotechnology*, 7(10), 277-282. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(89\)90047-4](https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90047-4)
- Gihaz, S., Kanteev, M., Pazy, Y., & Fishman, A. (2018). Filling the void: Introducing aromatic interactions into solvent tunnels towards lipase stability in methanol. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(23), Artículo e02143-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.02143-18>
- Gomez-Puyou, A., Darzon, A., & Tuena de Gomez-Puyou, M. (1992). *Biomolecules in organic solvents*. CRC Press.

- Grochulski, P., Li, Y., Schrag, J., Bouthillier, F., Smith, P., Harrison, D., Rubin, B., & Cygler, M. (1993). Insights into interfacial activation from an open structure of *Candida rugosa* lipase. *Journal of Biological Chemistry*, *268*(17), 12843-12847. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)31464-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)31464-9)
- Haas, C., & Drenth, J. (2000). The Interface between a Protein Crystal and an Aqueous Solution and Its Effects on Nucleation and Crystal Growth. *Journal of Physical Chemistry B*, *104*(2), 368-377. <https://doi.org/10.1021/jp993210a>
- Honda, S., Akiba, T., Kato, Y. S., Sawada, Y., Sekijima, M., Ishimura, M., Ooishi, A., Watanabe, H., Odahara, T., & Harata, K. (2008). Crystal structure of a ten-amino acid protein. *Journal of the American Chemical Society*, *130*(46), 15327-15331. <https://doi.org/10.1021/ja8030533>
- Howard, G. C., & Brown, W. E. (2001). *Modern protein chemistry: Practical aspects*. CRC Press.
- Isogai, Y., Imamura, H., Nakae, S., Sumi, T., Takahashi, K. I., Nakagawa, T., ... & Shirai, T. (2018). Tracing whale myoglobin evolution by resurrecting ancient proteins. *Scientific reports*, *8*(1), 1-14. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-34984-6>
- Kondrashov, D. A., Zhang, W., Aranda IV, R., Stec, B., & Phillips Jr, G. N. (2008). Sampling of the native conformational ensemble of myoglobin via structures in different crystalline environments. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, *70*(2), 353-362. <http://dx.doi.org/10.1002/prot.21499>
- Konieczny, L., Brylinski, M., & Roterman, I. (2006). Gauss-function-based model of hydrophobicity density in proteins. *In Silico Biology*, *6*(1-2), 15-22.
- Kreutzer, A. G., Krumberger, M., Marie, C., Parrocha, T., Morris, M. A., Guaglianone, G., & Nowick, J. S. (2020). *Structure-Based Design of a Cyclic Peptide Inhibitor of the SARS-CoV-2 Main Protease*. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.08.03.234872>
- Markov, I. (2016). *Crystal growth for beginners: Fundamentals of nucleation, crystal growth and epitaxy* (3rd ed.). World Scientific Publishing.
- McKee, T., McKee, J., Araiza Martínez, M., & Hurtado Chong, A. (2014). *Bioquímica: Las bases moleculares de la vida* (5th ed.). McGrawHill.
- McPherson, A. (2004). Introduction to protein crystallization. *Methods*, *34*(3), 254-265. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2004.03.019>
- McPherson, A., & Kuznetsov, Y. G. (2014). Mechanisms, kinetics, impurities and defects: Consequences in macromolecular crystallization. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications*, *70*(4), 384-403. <https://doi.org/10.1107/S2053230X14004816>
- Mohtashami, M., Fooladi, J., Haddad-Mashadrizeh, A., Housaindokht, M., & Monhemi, H. (2019). Molecular mechanism of enzyme tolerance against organic solvents: Insights from molecular dynamics simulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *122*(1), 914-923. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.172>
- Moreno, A., & Mendoza, M. E. (2014). Crystallization in gels. En P. Rudolph (Ed.), *Handbook of crystal growth: Bulk crystal growth* (2nd ed., pp. 1277-1315). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63303-3.00031-6>
- Nanev, C. C. (2014). On the elementary processes of protein crystallization: Bond selection mechanism. *Journal of Crystal Growth*, *402*, 195-202. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2014.05.030>
- Nanev, C. C. (2018). Peculiarities of protein crystal nucleation and growth. *Crystals*, *8*(11), Artículo 422. <https://doi.org/10.3390/cryst8110422>
- Nature. (s.f.). Structural Biology. *Nature portfolio*. <https://www.nature.com/subjects/structural-biology>
- Osipiuk, J., Xu, X., Savchenko, A., Edwards, A., Joachimiak, A., & Midwest Center for Structural Genomics. (2011). *Crystal structure of ywiB protein from Bacillus subtilis* (1R0U; Version 1.2) [Conjunto de datos]. RCSB PDB. <https://www.rcsb.org/structure/1R0U>
- Pace, C. N., Treviño, S., Prabhakaran, E., & Scholtz, J. M. (2004). Protein structure, stability and solubility in water and other solvents. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *359*(1448), 1225-1235. <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1500>
- Parker, M. W. (2003). Protein Structure from X-Ray Diffraction. *Journal of Biological Physics*, *29*(4), 341-362. <https://doi.org/10.1023/A:1027310719146>

- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, 25(13), 1605-1612.
- Quan, B.-X., Shuai, H., Xia, A.-J., Hou, Y., Zeng, R., Liu, X.-L., Lin, G. F., Qiao, J.-X., Li, W.-P., Wang, F.-L., Wang, K., Zhou, R.-J., Yuen, T. T.-T., Chen, M.-X., Yoon, C., Wu, M., Zhang, S.-Y., Huang, C., Wang, Y.-F., ... Yang, S. (2022). An orally available Mpro inhibitor is effective against wild-type SARS-CoV-2 and variants including Omicron. *Nature Microbiology*, 7, 716-725. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01119-7>
- Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank. (2021). *PDB statistics: Overall growth of released structures per year* [Conjunto de datos]. <https://www.rcsb.org/stats/growth/growth-released-structures>
- Renaud, J.-P. (2020). *Structural biology in drug discovery: Methods, techniques, and practices*. En J.-P. Renaud (Ed.). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118681121>
- Rhodes, G. (2010). *Crystallography made crystal clear* (3rd ed.). Elsevier. <https://www.elsevier.com/books/crystallography-made-crystal-clear/rhodes/978-0-12-587073-3>
- Rose, G. D., Fleming, P. J., Banavar, J. R., & Maritan, A. (2006). A backbone-based theory of protein folding. En J. Nathans, Johns Hopkins University School of Medicine & Baltimore (Eds.), *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (Vol. 103, Issue 45, pp. 16623-16633). National Academy of Sciences. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606843103>
- Saha, D., & Mukherjee, A. (2018). Effect of water and ionic liquids on biomolecules. *Biophysical Reviews*, 10(3), 795-808. <https://doi.org/10.1007/s12551-018-0399-2>
- Saridakis, E., Dierks, K., Moreno, A., Diekmann, M., & Chayen, N. (2002). Separating nucleation and growth in protein crystallization using dynamic light scattering. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 58(10), 1597-1600. <https://doi.org/10.1107/S0907444902014348>
- Scudellari, M. (2020, 15 May). *The sprint to solve coronavirus protein structures - and disarm them with drugs*. *News Feature*. <https://www.nature.com/articles/d41586-020-01444-z>
- Smith, R. D. (1999). Correlations between bound N-alkyl isocyanide orientations and pathways for ligand binding in recombinant myoglobins [Tesis doctoral, Rice University].
- Subramaniam, S., & Kleywegt, G. J. (2022). A paradigm shift in structural biology. *Nature Methods*, 19(1), 20-23.
- Velásquez-González, O., Campos-Escamilla, C., Flores-Ibarra, A., Esturau-Escofet, N., Arreguin-Espinosa, R., Stojanoff, V., Cuéllar-Cruz, M., & Moreno, A. (2019). Crystal growth in gels from the mechanisms of crystal growth to control of polymorphism: New trends on theoretical and experimental Aspects. *Crystals*, 9(9), Artículo 443. <https://doi.org/10.3390/cryst9090443>
- Williamson, M. (2011). *How proteins work*. Garland Science.
- Yeats, C. A., & Orengo, C. A. (2007). Evolution of protein domains. In *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0020202>
- Zhang, S., Krumberger, M., Morris, M. A., Parrocha, C. M. T., Griffin, J. H., Kreutzer, A., & Nowick, J. S. (2020). *Structure-Based drug design of an inhibitor of the SARS-CoV-2 (COVID-19) main protease using free software: A tutorial for students and scientists*. ChemRxiv. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12791954>

Neutralization of toxic activities of *Bothrops asper* snake venom by ethnomedicinal plants used in Central America, with emphasis in Guatemala: a review

Neutralización de actividades tóxicas del veneno de la serpiente Bothrops asper por plantas etnomedicinales utilizadas en Centroamérica, con énfasis en Guatemala: Revisión

Patricia Saravia-Otten¹, José M. Gutiérrez², Yann-Olivier Hay³, Armando Cáceres⁴

¹Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, ²Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica,

³Aromatma S. A. S., Bogotá, Colombia, ⁴Laboratorio de Productos Naturales Farmaya, Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: psaravia02@gmail.com

Recibido: 29 de mayo 2020 / Revisión: 05 de agosto 2020 / Aceptado: 14 de octubre 2022

Abstract

There are few scientific studies that explore the use of medicinal plants for snakebite envenoming in Central America, although plant-based therapies have been traditionally used in the region. This work reviews the studies conducted in Central America to assess the ability of extracts obtained from plants of local ethnomedicinal use to inhibit toxic activities of the venom of *Bothrops asper*, the snake responsible for approximately half of the snakebite envenomings in these countries. The search prioritized the description of the plants used in Guatemala, since most of the studies described in this work were conducted in that country, although references to other countries are included. Information concerning secondary metabolites and other pharmacological activities of these plant species, relevant to the treatment of snakebites, was also described. The literature search was conducted in the Google Scholar, PubMed and Scopus databases and completed with locally available literature. It was found that extracts of 12 plant species inhibited the hemorrhagic effect of the venom and three neutralized the edema-forming activity, while inhibition of proteolytic and phospholipase A₂ (PLA₂) activities was achieved by three and one plant species, respectively. Only *Brownea rosa-de-monte* was able to effectively counteract the in vitro coagulant effect of the venom. Some plant extracts screened in Guatemala demonstrated procoagulant or anti-thrombin intrinsic effects that might aggravate the coagulopathy induced by the venom. These findings underscore the need of carrying out scientific studies aimed to validate the inhibitory potential of Central American plant extracts and their metabolites against *B. asper* venom.

Keywords: Snakebite envenoming, traditional medicine, antiophidic plants, antidotes, ethnopharmacology

Resumen

Pocos estudios científicos han explorado el uso de plantas medicinales para el tratamiento del envenenamiento ofídico en Centroamérica, a pesar de que las terapias basadas en plantas son de uso tradicional en la región. Este trabajo recopiló información sobre los estudios realizados en Centroamérica para evaluar la capacidad de extractos de plantas de uso etnomédico para inhibir las actividades tóxicas del veneno de *Bothrops asper*, la serpiente responsable de aproximadamente la mitad de los envenenamientos ofídicos en Centroamérica. La búsqueda priorizó la descripción de plantas utilizadas en Guatemala, ya que la mayoría de los estudios aquí descritos fueron realizados en ese país. También se incluyó la descripción de los metabolitos secundarios y otras actividades farmacológicas de las especies evaluadas, que podrían explicar su uso como antiofídicos. La búsqueda de literatura se realizó en las bases de datos de Google Scholar, PubMed, Scopus, y se completó con literatura disponible localmente. Se determinó que 12 extractos de plantas inhibieron el efecto hemorrágico del veneno y tres el efecto edematígeno; la actividad proteolítica fue inhibida por extractos de tres especies y la fosfolipasa A₂ (PLA₂) por una especie. Solamente *Brownea rosa-de-monte* demostró inhibir efectivamente el efecto coagulante del veneno in vitro. Algunos extractos de las plantas tamizadas en Guatemala demostraron efectos procoagulantes o anti-trombina intrínsecos, que podrían agravar las alteraciones inducidas por el veneno en la coagulación. Estos hallazgos enfatizan la necesidad de validar el potencial de extractos de plantas centroamericanas y sus metabolitos secundarios para neutralizar el veneno de *B. asper*.

Palabras clave: Envenenamiento por mordedura de serpiente, medicina tradicional, plantas antiofídicas, antídotos, etnofarmacología



Introduction

Snakebite envenoming affects as many as 2.7 million people every year in the world, with 81,000 to 138,000 fatalities and 400,000 surviving victims suffering permanent physical and psychological disabilities (Gutiérrez et al., 2017; Kasturiratne et al., 2008). Snakebite envenoming constitutes a serious public health problem in Latin America that primarily affects residents of rural communities, who often have limited access to medical care. It has been estimated that around 5,500 snakebite cases annually reach health centers in Central America, however, the actual number of snakebite victims is likely to be higher, since an unknown number of snake-bitten people are not treated at health facilities, remaining unregistered in the epidemiological data (Giovannini & Howes, 2017; Gutiérrez, 2014).

The most serious cases of snakebite envenoming in Central America are inflicted by species of the family Viperidae, being *Bothrops asper* the species causing the highest number of accidents (Gutiérrez, 2021). This species, locally known as *barba amarilla*, *terciopelo* or *equis*, is distributed from the south of Mexico to the north of Colombia, thus inhabiting all Central American countries, with the exception of El Salvador (Campbell & Lamar, 1989; Solórzano, 2004).

The main therapeutic strategy to treat *B. asper* envenomings relies on the neutralization of the venom toxic components by the parenteral administration of antivenoms, which are antibody preparations obtained from the plasma of horses (Gutiérrez et al., 2017; Rojas et al., 1994; Sánchez et al., 2003). It is known that the systemic toxic actions of *B. asper* venom are effectively neutralized by antibody-mediated inhibition of the most relevant venom components; however, antivenom therapy is less effective to prevent venom-induced local effects (Gutiérrez et al., 1998, 2007; Lomonte et al., 2009). This can be explained by the fact that locally-acting toxins from the venom exert deleterious effects immediately after injection, causing significant damage before people reach hospitals and receive antivenom (Lomonte et al., 1994; Rucavado & Lomonte, 1996). The local pathological damage is associated with permanent tissue loss, impaired skeletal muscle regeneration, functional disabilities and, in severe cases, amputation (Gutiérrez et al., 2018; Jorge et al., 1999;).

Most of the snakebites in Central American countries occur in remote locations far from hospitals,

where the access to antivenom therapy and medical care is difficult to reach on time to prevent local tissue damage and to treat the systemic effects of envenoming (Coe & Anderson, 2005; Guerra-Centeno, 2016; Gutiérrez, 2021). Therefore, for many of these snakebite victims the possibility of using treatments applied in the field, rapidly after the bite, may represent a therapeutic alternative. In this regard, the administration of plant extracts is a traditional resource to treat envenomings in several regions of the world (Giovannini & Howes, 2017; Saravia et al., 2001), but the efficacy of such interventions should be rigorously assessed.

In a recent review published by Giovannini and Howes (2017), the traditional use of at least 208 plant species to treat snakebite in Central America was reported. The genera most frequently mentioned were *Piper*, *Aristolochia*, *Hamelia*, *Ipomoea*, *Passiflora* and *Peperomia*. It was also highlighted that the available scientific evidence to support the efficacy and safety is scarce and that more studies are needed to further evaluate the scientific bases for their use. Therefore, it is necessary to explore the efficacy of extracts derived from plants to inhibit venom activities, on the basis of sound scientific experimental methodologies.

This work aims to review the published scientific studies conducted in Central America to assess the ability of plant extracts to inhibit toxic and enzymatic activities of the venom of *B. asper* and the identification of secondary metabolites that might be responsible for the inhibition of the main toxins of the venom. A particular emphasis has been placed on the description of the plants used in Guatemala, since most of the studies described in this work were conducted in that country. Other pharmacological activities of these plant species, relevant to the treatment of snakebites, were also reviewed.

To establish a background reference of studies reporting neutralization of toxic activities of *B. asper* venom by plants collected in Central America, a literature review was conducted in the main available web search engines (Google Scholar, Scopus, and PubMed) for works published in Spanish and English, using as keywords “antiophidic plants” or “medicinal plants”, “Central America”, “name of the country” + “*B. asper*”, “scientific name” + “*B. asper* venom”, “toxic activities” “antidotes”, “snakebite envenomation” or “snakebite treatment”, “proteolytic activity”, “phospholipase A₂ activity”, “hemorrhage”, “coagulant activity” or “anticoagulant activity”, “secondary metabolites”, “neutralization” or “inhibition”. Regarding

the plants traditionally used in Guatemala for treating snakebites, the search detected only two relevant references, particularly the PhD thesis by Hitziger (2016) and the review by Giovannini & Howes (2017). With this information, a data base was built and completed with data collected during the ethnobotanical study conducted in Guatemala by Saravia et al., (2001) and Hay (2002), and other unpublished locally available literature from previous research; the local names were included according to *Flora of Guatemala* (Standley & Steyermark, 1946-1976); and the botanical names updated in Tropicos.org and www.theplantlist.org.

Content

Envenomings caused by the snake *Bothrops asper* in Central America

Envenomings caused by *B. asper* are characterized by a prominent and complex series of local pathological alterations, which appear rapidly after the bite at the site where the venom is injected. Such effects include edema, pain, hemorrhage, myonecrosis, blistering and dermal necrosis (Gutiérrez, Rucavado et al., 2009). Moderate and severe envenomings are associated with systemic alterations, such as systemic bleeding, coagulopathy, hypovolemia, hemodynamic instability, and acute kidney injury; highly severe cases may result in fatality (Gutiérrez, Escalante et al., 2009). Haemostatic alterations, leading to thrombocytopenia, defibrin(ogen)ation and disseminated intravascular coagulation, are frequently observed (Rucavado et al., 2005).

The major components of the venom responsible for inducing this complex clinical picture are snake venom metalloproteinases (SVMPs), phospholipases A₂ (PLA₂) and serine proteinases (SVSMs) (Angulo & Lomonte, 2009; Gutiérrez, 2002). Local effects of envenoming are caused to a great extent by the combined actions of SVMPs and myotoxic PLA₂s (Gutiérrez, Rucavado et al., 2009).

One of the most serious effects induced by the proteolytic activity of SVMPs is hemorrhage, but these enzymes also promote other pathophysiological alterations, such as myonecrosis, blistering, edema, coagulopathy, defibrin(ogen)ation, effects on platelets as well as a proinflammatory activity (Gutiérrez et al., 2010). The action of myotoxic PLA₂s induces extensive damage to the integrity of the skeletal muscle cell

membrane, resulting in irreversible cell injury, and it also affects lymphatic vessels and contributes to local inflammation and pain. In addition, the prominent vascular alterations leading to hemorrhage and edema may contribute to ischemia, causing further tissue necrosis (Gutiérrez, Rucavado et al., 2009). PLA₂s also induce additional effects such as inhibition of platelet aggregation, anticoagulation, and cytotoxicity (Angulo & Lomonte, 2009; Díaz et al., 1991; Kini, 2003; Six & Dennis, 2000).

Systemic hemorrhage is primarily caused by the action of P-III SVMPs and is potentiated by the defibrin(ogen)ation induced by the action of SVSPs and C-type lectin-like protein of the venom. Lethality induced by *B. asper* envenoming is the consequence of several combined effects among which the action of P-III SVMPs is especially relevant (Chacón et al., 2015; Gutiérrez, Escalante et al., 2009). Therefore, inhibition of these enzymes by antibodies, natural products or synthetic drugs would considerably diminish the local tissue damage, counteract the systemic effects and prevent development of permanent sequelae in snake bitten people (Carvalho et al., 2013; Félix-Silva et al., 2017; Lomonte et al., 2009; Santhosh et al., 2013).

In 2019 the World Health Organization (WHO) launched a strategy aimed to reduce by half the number of deaths and disabilities caused by snakebite envenomings by the year 2030. Even though the animal-derived antivenoms are the mainstay therapeutic for treating the envenoming, the initiative is promoting the search of complementary therapies that could be administered in the field rapidly after the snakebite, such as natural and synthetic toxin inhibitors (Gutiérrez et al., 2021). In this context, it is relevant to evaluate plant extracts traditionally used in the treatment of snakebite envenomings in different geographical settings, using validated preclinical tests.

Plants with inhibitory activities against *B. asper* venom toxic effects and their active compounds

In a recent review published by Giovannini and Howes (2017), the traditional use of at least 208 plant species to treat snakebite in Central America was reported. Therefore, the subject will not be covered in detail here, except for the plant species used in Guatemala. The search conducted in the consulted sources detected the traditional use of 56 plant species in this

country. Information concerning the traditional form of use, preparation, and route of administration of the plants is shown in Table 1.

There are few published studies conducted in Central America to scientifically validate the therapeutic value of medicinal plants used to inhibit the toxic effects induced by *B. asper* venom. The neutralizing activities of plant extracts were evaluated, in almost all cases, through preincubation-type assays, i.e., incubating venom and plant extract prior to injection in

experimental animals or to in vitro testing. Inhibition of toxic effects of the venom were evaluated according to the corresponding experimental settings, depending on the effect being evaluated. Detailed description of the methodologies used to determine the neutralizing activities of the extracts is beyond the scope of this review but interested readers can consult the WHO Guidelines for Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins (2017) and the primary sources cited in this work.

Table 1

Plants traditionally used to treat snakebites in Guatemala

Scientific name	Common name	Part used ¹	Mode of preparation	Mode of use	References
Acanthaceae					
<i>Aphelandra scabra</i> (Vahl) Sm.	Flor de San Julian	NR ²		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
<i>Aphelandra heydeana</i> Donn.- Sm.	Flor de San Julian	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Alstroemeriaceae					
<i>Bomarea edulis</i> (Tussac) Herb.	Granadillo de monte	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Amaryllidaceae					
<i>Allium sativum</i> L.	Ajo	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Apiaceae					
<i>Eryngium foetidum</i> L.	Samat, culantro	L	Crushed, poultice	Topic (poultice)	Hay, 2002; Saravia et al., 2001
Apocynaceae					
<i>Tonduzia stenophylla</i> (Donn. Sm.) Pittier	Chilindrillo	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Aristolochiaceae					
<i>Aristolochia pilosa</i> Kunth	Guapillo	L, Ro, S	Crushed, infusion	Oral, topic (poultice)	Giovannini & Howes, 2017
<i>Aristolochia anguicida</i> Jacq,	Guaco	NR		NR	Hay, 2002
<i>Aristolochia maxima</i> L.	Guaco	WP	Decoction	Topic (apply on snakebite)	Mejía, 1927 Saravia et al., 2001 Aguilar-Girón, 1966

Table 1 (continuation)

Scientific name	Common name	Part used ¹	Mode of preparation	Mode of use	References
Asclepiadaceae					
<i>Asclepias curassavica</i> L.	Viborana	La	Fresh latex	Topic (apply on snakebite)	Mejía, 1927; Standley & Williams, 1975
Asparagaceae					
<i>Sansevieria hyacinthoides</i> (L.) Druce	Oreja de burro	L	NR	Oral, topic	Kufer et al., 2005; Giovannini & Howes, 2017
<i>Sansevieria guineensis</i> (L.) Willd.	Curarina	WP, L	Fresh parts applied as poultice, leaves as <i>horchata</i> for drinking	Topic (poultice), oral	Instituto Indigenista Nacional, 1978; Nicolas, 1999
<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain	Curarina, lengua de suegra, oreja de burro rabo de tigre	L	Decoction for drinking Crushed fresh leaves applied as poultice	Oral, topic (poultice) Chewed (poultice)	Ardón Manchamé, 2008; Giovannini & Howes, 2017; Hay, 2002
Asteraceae					
<i>Neurolaena lobata</i> (L.) Cass.	Tres puntas, mano de lagarto	L	Infusion, decoction Chewed with tobacco leaves	Oral, topic (poultice)	Hay, 2002; Saravia et al., 2001
Caricaceae					
<i>Carica papaya</i> L.	Papaya	Fr	Fresh fruit	Topic (place fruit flesh on snakebite to stop poison spread)	Comerford, 1996; Giovannini & Howes, 2017
Commelinaceae					
<i>Gibasis geniculata</i> (Jacq.) Rohweder		NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
<i>Tripogandra grandiflora</i> (Donn. Sm.) Woodson	Hoja de fluxión	NR		NR	
Convolvulaceae					
<i>Ipomoea purpurea</i> (L.) Roth	Quiebra-cajete, quilamul	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Euphorbiaceae					
<i>Acalypha arvensis</i> Poepp.	Hierba del cancer	Ro	Crushed, infusion	Oral (drink), Topic (patch)	Saravia et al., 2001; Giovannini & Howes, 2017; Mejía, 1927
<i>Acalypha alopecuroides</i> Jacq.	Hierba del cancer	L	Infusion	Oral (drink)	

Table 1 (continuation)

Scientific name	Common name	Part used ¹	Mode of preparation	Mode of use	References
Fabaceae					
<i>Acacia arborea</i> (L.) Willd.	Plumillo, quebraqacho	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
<i>Acacia cornigera</i> (L.) Willd.	Subín	R, S	Chewed, decoction	Oral, Poultice, Bath	Giovannini & Howes, 2017; Hay, 2002
<i>Acacia hindsii</i> Benth.	Ixcanal	B	NR	Oral	Aguilar-Girón, 1966; Saravia et al., 2015
<i>Acacia spadicigera</i> Schltldl. & Cham.	Subin, espino blanco	NR		NR	Mejía, 1927
<i>Diphysa robinioides</i> Benth.	Guachipilín	B, L	NR	NR	Mejía, 1927
<i>Erythrina berteroa</i> Urb.	Pito	B	Infusion	Oral	Giovannini & Howes, 2017; Girón et al., 1991; Hitziger, 2016
Gesneriaceae					
<i>Besleria laxiflora</i> Benth.		NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Heliotropiaceae					
<i>Heliotropium indicum</i> L.	Hierba de alacrán	WP	NR	NR	Mejía, 1927
Malvaceae					
<i>Triumffeta</i> lapula	Mozote de caballo	R	NR	NR	Mejía, 1927
<i>Phaseolus coccineus</i> L.	Tzote, verde de maca	L, Fl	Decoction	Topic (cataplasm)	Barreno-Ortiz, 2012; Giovannini & Howes, 2017.
Menispermaceae					
<i>Cissampelos pareira</i> L.	Alcotán, tamagás, curarina de monte	L, R	Decoction	Oral (drink), Topic (poultice)	Ayala, 1999; Giovannini & Howes, 2017; Mejía, 1927; Sandoval & Hay, 2002;
Moraceae					
<i>Dorstenia contrajerva</i> L.	Contrayerba, oreja de conejo, contrahierba	L, R	Decoction	Topic (Bath)	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016; Mejía, 1927; Saravia et al., 2001

Table 1 (continuation)

Scientific name	Common name	Part used ¹	Mode of preparation	Mode of use	References
Nephrolepidaceae					
<i>Nephrolepis cordifolia</i> (L.) C. Presl	Cola de quetzal	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Orchidaceae					
<i>Oeceoclades maculata</i> (Lindl.) Lindl.	Orquidea monje	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Papaveraceae					
<i>Argemone mexicana</i> L.	Chicalote	NR		NR	Mejía, 1927
Petiveriaceae					
<i>Rivina humilis</i> L.	Coxubcan, chile de ratón	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Piperaceae					
<i>Peperomia macrostachya</i> (Vahl) A. Dietr.		NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
<i>Peperomia quadrifolia</i> (L.) Kunth	Retoño, colchón de peña	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017
<i>Piper amalago</i> L.	Cordoncillo	L, R	Crushed fresh leaves, Boil root with other roots	Oral (drink juice of leaves); Topic (bath with boiled root)	Comerford, 1996; Giovannini & Howes, 2017
<i>Piper curvatipes</i> Trel.	Cordoncillo, hoja de piedra, pie de negro	L	Decoction	Topic (bath)	Giovannini & Howes, 2017; Hay, 2002; Saravia et al., 2001
<i>Piper peltatum</i> L.	Cordoncillo, Santa Maria	L	Decoction	Topic (bath)	Giovannini & Howes, 2017; Hay, 2002; Saravia et al., 2001
<i>Piper sempervirens</i> (Trel.) Lundell	Cordoncillo hembra	R	Boil root with roots and leaves of other species	Oral, topic Bathe wound and drink	Comerford, 1996; Giovannini & Howes, 2017
<i>Piper xanthostachyum</i> C. DC	Cordoncillo	L	Decoction	Bath	Hay, 2002
<i>Piper yucatanense</i> C. DC.	Cordoncillo pequeño	L	Decoction	Bath	Hay, 2002
Plantaginaceae					
<i>Scoparia dulcis</i> L.	Escobeta	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016
Scientific name	Common name	Part used ¹	Mode of preparation	Mode of use	References

Table 1 (continuation)

Polypodiaceae						
<i>Phlebodium pseudoaureum</i> (Cav.) Lellinger	Calahuala	Rh	Decoction	Oral	Giovannini & Howes, 2017	
<i>Polypodium percussum</i> Cav.	Calahuala				Girón et al., 1991	
Pteridaceae						
<i>Antrophyum cajenense</i> (Desv.) Spreng.		NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016	
<i>Vittaria lineata</i> (L.) Sm.		NR		NR	Giovannini & Howes, 2017; Hitziger, 2016	
Rubiaceae						
<i>Hamelia patens</i> Jacq.	Coralillo, chichipín	L	Decoction	Topic (bath)	Hay, 2002;	
<i>Psychotria pleuropoda</i> Donn. Sm.	Cafecillo, hierba de chinche	L	Decoction	Topic (bath)	Giovannini & Howes, 2017; Saravia et al., 2001	
Rutaceae						
<i>Citrus aurantifolia</i> (Chirstm.) Swingle	Limón	Fr, L, Ro	NR	Oral	Giovannini & Howes, 2017	
<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	Limón	Fr	NR	NR	Kufer et al., 2005; Giovannini & Howes, 2017	
Sapindaceae						
<i>Matayba oppositifolia</i> (A. Rich.) Britton	Zacuayum	B	Boil bark in water with roots of other species	Topic (bath for poisonous bites and stings)	Comerford, 1996; Giovannini & Howes, 2017.	
Selaginellaceae						
<i>Selaginella pallescens</i> (C. Presl) Spring	Doradilla	NR		NR	Giovannini & Howes, 2017	
Solanaceae						
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Tabaco	Leaf	Crushed, chewed	Topic (patch)	Giovannini & Howes, 2017; Kufer et al., 2005; Saravia et al., 2001	

Note. ¹Plant part: B (bark); Fl (flower); Fr (fruits); L (leaf); La (latex); Rh (rhizome); Ro (root); S (stem); WP (whole plant). ²NR, not reported for Guatemala in the original sources.

Phytochemical analysis of the plant extracts with inhibitory activities were conducted in some of the studies reviewed in this work, aimed at the identification of secondary metabolites responsible for the inhibition of snake venoms and toxins. Among the secondary metabolites with described antivenom properties in the literature are flavonoids, coumestans, alkaloids, steroids, terpenoids, tannins and other phenolic compounds. A detailed description of this topic has been dealt in several reviews (Carvalho et al., 2013; Félix-Silva, et al., 2017; Mors et al., 2000; Santosh et al., 2013; Soares et al., 2005) and will not be considered further here.

In Costa Rica, Castro et al. (1999) showed that 10 plant species (*Bursera simaruba* (L.), *Clusia torresii* Standl., *Clusia palmana* Standl., *Croton draco* Schltdl. & Cham., *Persea americana* Mill., *Phoebe brenesii* Standl., *Pimenta dioica* (L.) Merr., *Sapindus saponaria* L., *Smilax domingensis* Willd., and *Virola koschnyi* Warb.) effectively inhibited the hemorrhagic effect of *B. asper* venom in a mouse model. The secondary metabolites identified in these extracts were catequines, flavones, anthocyanines and condensed tannins, whose antihemorrhagic effect may be explained by their ability to chelate the zinc required by the SVMPs. Although this publication does not provide a source for the reported use of these plants in snakebite envenoming, the selection of the plants included in that publication was based on ethnobotanical information available in Costa Rica (J. M. Gutiérrez, personal communication, August 20, 2021).

Other studies carried out in Costa Rica also identified antihemorrhagic activity in an extract of *Cissampelos pareira* L. (Badilla et al., 2008). Extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC., *Chaptalia nutans* L. Pol. and *Loasa speciosa* Donn. Sm. significantly reduced venom-induced edema in mice when the extracts were injected intraperitoneally one hour before the subcutaneous injection of venom in the hind paw (Badilla et al., 2006). The study published by Núñez et al. (2005) reported the isolation of the active principle 4-nerolidylcatechol in two plants used in snakebite envenomings, *Piper umbellatum* L. and *P. peltatum* Ruiz & Pav. It was shown that 4-nerolidylcatechol significantly reduced the myotoxic and edema-inducing effects of a myotoxic PLA₂ of *B. asper* venom in mice in preincubation assays, but it was ineffective when administered in situ after toxin injection.

In Panama, the evaluation of ethanolic extract of *Brownea rosa-de-monte* P. J. Bergius demonstrated significant inhibition of the coagulant and hemorrhagic

effects of *B. asper* venom (Salazar et al., 2014). This study also reported the isolation and structural characterization of quercetrin, one of the active constituents of the extract with anticoagulant activity.

In Guatemala, ethanolic and aqueous extracts obtained from two plants traditionally used to treat snakebite envenoming in the north of this country (*D. contrajerva* and *Neurolaena lobata* (L.) Cass.) (included in Table 1), and one plant used to treat cutaneous leishmaniasis (*Eupatorium odoratum* L.) in the same region of Guatemala (Hay, 2002; Saravia et al., 2001), were analyzed for their ability to neutralize the lethal, hemorrhagic, PLA₂ and coagulant activities of *B. asper* venom (Table 2). Of these, only hemorrhage was minimally inhibited by extracts of *D. contrajerva* and *N. lobata*.

More recent studies conducted with Guatemalan plant specimens (Saravia-Otten et al., 2015, 2017) evaluated the ability of ethanolic extracts of nine plants (*Acacia hindsii* Benth., *Aristolochia maxima* Jacq., *B. simaruba*, *C. pareira*, *Eryngium foetidum* L., *Hamelia patens* Jacq., *P. dioica*, *P. peltatum* and *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce) to inhibit the coagulant, PLA₂ and proteolytic activities of the venom (Table 2). Six of these plants are used to treat snakebite in the north of Guatemala (*A. maxima* [*Aristolochia* sp.], *C. pareira*, *E. foetidum*, *H. patens*, *P. peltatum* and *S. hyacinthoides*) (Aguilar-Girón, 1966; Hay, 2002; Saravia et al., 2001), while the traditional use of *P. dioica* was reported in Costa Rica (Castro et al., 1999). The use of *B. simaruba* for this purpose has been reported in Costa Rica and Nicaragua (Castro et al., 1999; Coe & Anderson, 2005). *A. hindsii* is used to treat snakebite envenomings in different regions of the world (Mors et al., 2000) and as an antidote against poisonous bites and stings in Guatemala and Mexico (Aguilar-Girón, 1966; Morton, 1981). Results of in vitro experiments showed that *E. foetidum* and *P. dioica* extracts effectively inhibited the proteolytic effect of the venom, but none of the plants tested inhibited the PLA₂ or coagulant effects (Saravia-Otten et al., 2015, 2017). Phytochemical analysis of these extracts identified secondary metabolites (flavones, anthocyanines, catequines and tannins) whose anti-proteolytic activities have been previously reported. Interestingly, the bark of *B. simaruba* collected in Guatemala showed significant intrinsic proteolytic and PLA₂ activities (Saravia-Otten et al., 2017), a finding that may complicate its possible use in snakebites (Table 2).

Further evaluation of the ethanolic extract obtained from the leaves of *N. lobata* demonstrated

Table 2*Plants screened in Guatemala for their ability to inhibit toxic effects of Bothrops asper venom*

Plant species	Plant part analyzed ¹	Inhibitory activities tested ²	Activity inhibited	Other relevant properties in the treatment of snakebite	Reference
<i>Acacia hindsii</i> Benth.	B	P, PLA ₂ , C	— ⁹	Treatment of scorpion stings, anti-inflammatory and wound healing effects	Aguilar-Girón, 1966; Morton, 1981; Pardo et al., 2012; Saravia et al., 2015, 2017
<i>Aristolochia maxima</i>	B, L	P, PLA ₂ , C	—	<i>Aristolochia</i> species with anti-inflammatory and immunostimulatory effects	Aguilar-Girón, 1966; Giovannini & Howes, 2017; Saravia et al., 2015, 2017
<i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.	B	P ³ , PLA ₂ ⁴ , C	—	Anti-inflammatory, antibacterial, analgesic, treatment of wounds, poisonwood dermatitis, skin sores and infections	Abad et al., 1996; Arvigo & Balick, 1993; Camporese et al., 2003; Carretero et al., 2008; Jasso de Rodríguez et al., 2006; Junor et al., 2007; Saravia et al., 2017; Sosa et al., 2002; Yasunaka et al., 2005
<i>Cissampelos pareira</i> L.	R	P, PLA ₂ , C	—	Anti-inflammatory, analgesic, immunomodulatory, muscle relaxant, hemostatic, antiseptic, snake venom inhibition, ulcerogenic	Giovannini & Howes, 2017; Saravia et al., 2015, 2017; Singh et al., 2010; Verrastrero et al., 2018
<i>Dorstenia contrajerva</i> L.	L	L, H, PLA ₂ , C ⁵	—	Treatment of skin conditions (anti-Leishmanial activity)	Giovannini & Howes, 2017; Pezraza-Sánchez et al., 2007; Saravia et al., 2001
<i>Eryngium foetidum</i> L.	L	P, PLA ₂ , C	P ⁷ P (EA, Ac) ⁸	Anti-inflammatory, antibacterial, analgesic, treatment of scorpion bites	Giovannini & Howes, 2017; Küpeli et al., 2006; Paul et al., 2011; Saravia et al., 2017, 2022; Singh et al., 2014
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	L	L, H, PLA ₂ , C ⁶	—	Treatment of skin conditions (cutaneous leishmaniasis), hemostatic activity, wound healing, analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial activities	Akah, 1993; Hay, 2002; Owoyele et al., 2008; Pandith et al., 2012, 2013; Saravia et al., 2001; Sirinthipaporn & Jiraungkoorskul, 2017; Umukoro & Ashorobi, 2006; Vijayaraghavan et al., 2016, 2017
<i>Hamelia patens</i> Jacq.	L	P, PLA ₂ , C	—	Relax contracted muscle, effects on the cardiovascular system, treatment of skin conditions, anti-nociceptive, anti-inflammatory, antimicrobial, wound healing	Balick & Arvigo, 1998; Camporese et al., 2003; Giovannini & Howes, 2017; Jiménez-Suárez et al., 2016; Saravia et al., 2015, 2017
Plant species	Plant part analyzed ¹	Inhibitory activities tested ²	Activity inhibited	Other relevant properties in the treatment of snakebite	Reference

Table 2 (continuation)

<i>Neurolaena lobata</i> (L.) Cass.	L	L, H, P, PLA ₂ , IH, C ⁶	P ⁷ , PLA ₂ (as IH) ⁷ , P (Dm, EA, A) ⁸	Antiulcerogenic, antimicrobial, antinociceptive, anti-inflammatory, wound healing, treatment of skin conditions.	Cáceres & Cruz, 2019; Giovannini & Howes, 2017; McKinnon et al., 2014; Saravia et al., 2001; Saravia et al., 2021, 2022
<i>Pimenta dioica</i> (L.) Merr.	L	P, PLA ₂ , C	P ⁷	Anti-inflammatory, analgesic, antibacterial, antioxidant, antiulcerogenic, cytotoxic, wound healing and bruises in skin and mucosa like gingivitis	Al-Rehaily et al., 2002; Lorenzo-Leal et al., 2019; Mukhopadhyay et al., 2012; Nagaraj et al., 2017; Onwasigwe et al., 2017; Saravia et al., 2017; Zhang & Lokeshwar, 2012
<i>Piper peltatum</i> L.	L	P, PLA ₂ , C	—	Analgesic, antiedema, and anti-hemorrhagic, anti-inflammatory, hypertensive, sympathomimetic and activities, inhibition of hyaluronidase from <i>Bothrops atrox</i> and PLA ₂	Giovannini & Howes, 2017; Michel et al., 2016; Pilco et al., 2019; Saravia et al., 2015, 2017
<i>Sansevieria hyacinthoides</i> (L.) Druce	L	P, PLA ₂ , C	—	Dressing of sprained ankle, analgesic, antimicrobial, anti-inflammatory, treatment of skin infections and insect bites.	Maroyi, 2013; 2019; Saravia et al., 2015, 2017

Note. ¹Plant part: L (leaf); S (stem); Ba (bark); Ro (root). ²Inhibitory activities evaluated: L (lethal); H (hemorrhagic); C (coagulant); M (myotoxic); P (proteolytic); PLA₂ (phospholipase A₂); IH (indirect hemolysis). ³Not evaluated in inhibition assays because of the presence of intrinsic proteolytic, ⁴PLA₂, ⁵coagulant, ⁶anticoagulant activities in ethanolic extracts. ⁷Venom activity effectively (≥ 50%) inhibited by ethanolic / aqueous extracts or ⁸organic fraction: He (hexane); Dm (dichloromethane); EA (ethyl acetate); Ac (acetone). ⁹(—) Effective inhibitory activities not detected.

complete inhibition of PLA₂ enzymatic activity (evaluated as indirect hemolysis) and proteolytic activities of *B. asper* venom. However, the extract also showed intrinsic anticoagulant activity, a property that might aggravate the hemostatic alterations induced by the venom in coagulation (Table 2) (Saravia-Otten et al., 2021). The phytochemical profile showed the presence of flavonoids, coumarins, saponins, tannins, sesquiterpene lactones and essential oils in the extract. SDS-PAGE analysis demonstrated changes in the electrophoretic profile, probably due to the formation of

insoluble complexes of venom components with plant metabolites.

Analysis of organic fractions obtained from *E. foetidum*, *N. lobata* and *P. dioica* demonstrated that their ability to neutralize PLA₂ and proteolytic activities of the venom was concentrated in their polar fractions. Phytochemical analysis of the bioactive fractions identified flavonoids, saponins, essential oils, coumarins, alkaloids, tannins and sesquiterpene lactones in their composition (Saravia-Otten et al., 2022). Docking analysis of compounds from these plants revealed high

affinity interactions of previously identified secondary metabolites of these plants with key residues for the catalytic activity of BaP1 (a metalloproteinase) and Mtx-I (a PLA₂), as well as interactions with the hydrophobic channel of Mtx-II (a PLA₂ homologue devoid of enzymatic activity but inducing myotoxicity). These findings provide support for the use of *E. foetidum*, *N. lobata* and *P. dioica* to treat the local effects induced by *B. asper* envenoming, since it has been shown that in vitro inhibition of proteolytic activity (mainly mediated by SVMPs) by some plant extracts correlates with inhibition of the hemorrhagic effect in animal models (Patiño et al., 2013; Preciado et al., 2018), although more studies with in vivo models are necessary to further explore this possibility. It has also been shown that plant extracts with anti-PLA₂ activity partially neutralized myotoxicity and edema induced by the venom of snakes of the genera *Bothrops* and *Crotalus* in animal models (Pereañez et al., 2014; Posadas et al., 2019).

Ethnopharmacology of the plants studied in Guatemala

There is a strong tradition among Guatemalan people in using medicinal plant antidotes, which are prepared with local plants by traditional healers (*chamanes*, *curanderos*, *medicos brujos*, *herbolarios*), according to their ancestral recipes (Hay, 2002; Saravia et al., 2001). The information presented here is focused on the plants that demonstrated inhibitory activities against toxic effects of *B. asper* venom in preclinical tests (*E. foetidum*, *N. lobata*, and *P. dioica*), the traditional mode of use and preparation, and is aimed to provide available information that supports their possible use for snakebite envenomings. Other relevant properties of the plants in the treatment of snakebite are shown in Table 2.

E. foetidum is used to treat snakebites in Guatemala, Nicaragua, and Belize (Balick & Arvigo, 2015; Coe & Anderson, 2005; Giovaninni & Howes, 2017; Hay, 2002). Decoction and infusion of the leaves are administered as a beverage to the snake bitten patient in Nicaragua (Coe & Anderson, 2005), while in Guatemala the crushed leaves are applied on the wound as a poultice (Hay, 2002; Saravia et al., 2001). Traditional use of this species is supported in part by results obtained using in vitro assays and animal models showing anti-inflammatory, analgesic, and antibacterial properties of the leaf extract (Almeida et al., 2001; García et al., 1999; Küpeli et al., 2006; Paul et al.,

2011; Sáenz et al., 1997), all relevant for the inhibition of local effects of *B. asper* venom. This species is also used to treat snakebite and scorpion sting envenomings in India (Singh et al., 2014).

N. lobata is traditionally used to treat snakebites in Guatemala, Belize, and Nicaragua (Balick & Arvigo, 2015; Coe & Anderson, 2005; Hay, 2002; Saravia et al., 2001); it is also used to treat skin conditions in Guatemala (Berger et al., 2001; Cáceres et al., 1998). Infusion and decoction of the leaves are drunk by snake bitten victims in Nicaragua and Guatemala (Coe & Anderson, 2005; Hay, 2002; Saravia et al., 2001). Decoction is also administered topically to the wound in the north of Guatemala, and the leaves used to prepare the infusion or fresh leaves chewed with tobacco by the patient are used as a poultice to cover the wound (Hay, 2002). Ethnomedical use of stems, branches, and aerial parts of *N. lobata* to treat snake envenoming has also been reported in Colombia (Otero et al., 2000). Extracts and organic fractions obtained from this species have demonstrated to have antiulcerogenic (Gracioso et al., 2000), antimicrobial (Lentz et al., 1998), antinociceptive (Gracioso et al., 1998) and anti-inflammatory properties (Giovannini & Howes, 2017; McKinnon et al., 2014; Walshe-Roussel et al., 2013). These activities are relevant for the treatment of snakebites, since they might counteract some of the local effects induced by *B. asper* venom, promote successful wound healing, and prevent sequelae resultant from bacterial infections that would delay, or even impair, the healing process (Nayak et al., 2014).

P. dioica is used in the treatment of a number of medical conditions in traditional medicine of Mexico, Central and South America, the Caribbean, India, Middle East, Asia and Europe (Rao et al., 2012; Zhang & Lokeshwar, 2012). However, there is a lack of published information concerning the ethnobotanical use of *P. dioica* to treat snakebite envenoming. The work published by Castro et al. (1999) reported that extracts from the leaves collected in Costa Rica completely neutralized the hemorrhagic activity induced by the venom of *B. asper*, which correlates well with the ability shown by the ethanolic extract of Guatemalan specimens to inhibit the proteolytic activity of the venom (Saravia et al., 2017). Ethnomedicinal uses of the plant and pharmacological activities found on its extracts may explain those findings, suggesting the potential usefulness of *P. dioica* in snakebite envenoming in Central America. The crushed fruits of the plant (Allspice) are applied to bruises, sore joints and for myalgia in Guatemala, while the leaves are traditionally used for treatment

of high blood pressure in Central America, as well as treatment for menstrual cramps and abdominal pain in Caribbean communities (Zhang & Lokeshwar, 2012). All parts are used in folk medicine, but the most studied parts have been its leaves and berries. The eugenol present in the essential oil from berries and leaves has been reported to have anti-inflammatory activities (Zhang & Lokeshwar, 2012). Hypotensive action of aqueous extract of leaves was demonstrated during in vivo studies (Suárez et al., 1997). Studies carried out in Saudi Arabia with the aqueous suspension showed significant antiedema and antiulcerogenic activities in vivo (Al-Rehaily et al., 2002). Essential oil of the berries collected in Mexico demonstrated antimicrobial and potential anti-inflammatory activities in vitro (Lorenzo-Leal et al., 2019). Antibacterial activity was also detected in leaf and bark extracts in India (Asha et al., 2013) as well as antioxidant activity in Jamaica (Rao et al., 2012). Other medicinal properties attributed to this species in India are as an aid in the healing of wounds, bruises (Mukhopadhyay et al., 2012), and gingivitis (Nagaraj et al., 2017).

Decoction of stembark of *A. hindsii* is used to treat poisonous bites and scorpion stings in México and Guatemala (Aguilar-Girón, 1966; Morton, 1981), while decoction of the whole plant is topically used for anti-inflammatory and wound healing purposes in the south of Guatemala (Pardo Villegas et al., 2011). *A. maxima* is reported to be used as ‘antiophidic’ in Guatemala; decoction of the whole plant is applied locally on the snakebite (Aguilar-Girón, 1966; Hay, 2002; Mejía, 1927). *C. pareira*, *D. contrajerva* and *H. patens* are used with the same purpose in Guatemala, Nicaragua and Panamá (Coe & Anderson, 2005; Duke, 1970; Gupta et al., 1993; Hay, 2002; Joly et al., 1987; Sandoval & Ayala, 1999; Saravia et al., 2001), *P. peltatum* in Guatemala and Nicaragua and *S. hyacinthoides* in Guatemala and Belice (Balik & Arvigo, 2015; Coe & Anderson, 2005; Hay, 2002; Kufer et al., 2005). Ethnobotany and ethnopharmacology of those species and the scientific evidence that support their traditional use in snakebite envenoming in Central America was extensively reviewed by Giovannini and Howes (2017); other relevant properties of these plants for the treatment of snakebite are shown in Table 2. However, detailed information concerning *B. simaruba* and *E. odoratum* was not included in that review, and therefore will be addressed in this work.

The bark and whole plant of *B. simaruba* is traditionally used in Nicaragua to treat snakebite in the

form of a decoction (Coe & Anderson, 2005). Extracts obtained from the bark totally inhibited the hemorrhagic activity of *B. asper* venom (Castro et al., 1999). This species is used in traditional medicine in Central America for deep and superficial wound healing, skin sores and poisonwood dermatitis (Arvigo & Balick, 1993; Balick & Arvigo, 1998). The therapeutic properties described for this species are relevant to the treatment of local effects induced by the venom, since extracts from the leaves and bark showed anti-inflammatory activity in mice (Abad et al., 1996; Carretero et al., 2008; Noguera et al., 2004; Sosa et al., 2002). Antibacterial activity was demonstrated in the essential oil from fruits and stems (Junor et al., 2007), bark (Camporese et al., 2003), leaves, twigs, and stems (Yasunaka et al., 2005). The plant also has analgesic activity (Jasso de Rodríguez et al., 2006).

The leaves of *E. odoratum* are used to treat skin conditions in Guatemala (Hay, 2002) and other regions of the world (Hanphakphoom et al., 2016). The pressed extract of the leaves is traditionally used in Nigeria to arrest bleeding from cuts and as antiseptic for wound dressing (Akah, 1993), while the leaf or stem decoction of the plant can be used in pulmonary hemorrhage (Singha, 1965). Hemostatic activity of extracts of the leaf has been shown in animal models (Akah, 1993; Pandith et al., 2012). This plant has also wound healing activity (Pandith et al., 2013; Sirinthipaporn & Jiraungkoorskul, 2017; Vijayaraghavan et al., 2017), as well as analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial properties (Owoyele et al., 2008; Taiwo et al., 2000; Umukoro & Ashorobi, 2006; Hanphakphoom et al., 2016; Vital & Rivera, 2009; Vijayaraghavan et al., 2016). Therefore, it appears that both leaves and stem of *E. odoratum* may mediate different pharmacological actions which could be useful in snakebite envenoming.

Conclusions

There is a compelling need to search for novel therapeutic alternatives for snakebite envenoming that would complement the action of animal-derived antivenoms. Inhibitory compounds present in plants constitute a valuable source of novel venom inhibitors, and the long-standing ethnobotanical traditions in many regions of the world constitute a highly relevant source of information for exploring the inhibitory potential of these natural products. All plants included in the scientific studies reported in this review have

ethnomedical uses or pharmacologic activities relevant to the treatment of snakebites (i.e. anti-inflammatory, antiedema, antibacterial, wound healing, hemostatic or analgesic). These activities may explain their traditional use against the local effects caused by viperid snakebite envenomings, but their capacity to effectively inhibit venom toxins, and therefore, to neutralize their pathophysiological effects, needs to be further evaluated using sound scientific methodologies. Antihemorrhagic activity was demonstrated in 11 plant species in Costa Rica, while *B. rosa-de-monte* showed antihemorrhagic and anticoagulant activities in Panama. Venom-induced edema in mice was inhibited by *U. tormentosa*, *C. mutans* and *L. speciosa* in Costa Rica. In Guatemala, *E. foetidum*, *N. lobata* and *P. dioica* were effective to inhibit the proteolytic and PLA₂ activities of the venom under experimental conditions, suggesting that they may be effective to neutralize their toxic effects. Moreover, docking studies provided evidence for the ability of some secondary metabolites from these plants to bind with high affinity to SVMP and PLA₂. The capacity of some Guatemalan plants, and secondary metabolites present in these plants, to inhibit venom toxic activities in vivo needs to be further evaluated in preclinical assays.

It is important to point out that from all the plant species screened, only *B. rosa-de-monte* was able to effectively counteract the in vitro coagulant effect (potentially defibrin(ogen)ating in vivo) of *B. asper* venom. Moreover, some of the ethanolic extracts of the plants screened in Guatemala demonstrated procoagulant or anti-thrombin intrinsic effects. Since systemic bleeding is one of the main clinical features of envenomings by *B. asper*, the possibility of these plant extracts to complicate this aspect of envenoming should be carefully considered in the in vivo experimental studies. Likewise, the purification and assessment of efficacy of isolated components from these extracts should be explored.

In conclusion, it is important to harness the rich ethnobotanical tradition on the use of plants for snakebite management in Central America, by testing the efficacy of plant extracts to inhibit toxic and enzymatic activities of *B. asper* and other venoms in the region using validated preclinical assays. These studies should also explore the traditional ways by which these extracts are administered and use these protocols in the experimental settings. It is also important to identify the metabolites in the plants responsible for the inhibition of the SVMPs, PLA₂s and SVSPs to better understand the mechanisms of inhibition, and

for exploring the potential use of such metabolites or molecules derived from them for the design of more specific inhibitors of the toxins responsible for the main hallmarks of *B. asper* envenoming.

Contribution of authors

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: todos los autores
 Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: PS-O, AC
 Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: todos los autores
 Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: todos los autores
 Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: todos los autores

Supplementary materials

This article does not have supplementary materials.

References

- Abad, M. J., Bermejo, P., Carretero, E., Martínez-Acitores, C., Noguera, B., & Villar, A. (1996). Antiinflammatory activity of some medicinal plant extracts from Venezuela. *Journal of Ethnopharmacology*, 55(1), 63-68. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(96\)01478-x](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(96)01478-x)
- Aguilar-Girón, J. I. (1966). *Relación de unos aspectos de la Flora útil de Guatemala*. Ministerio de Agricultura.
- Akah, P. A. (1993). Mechanism of hemostatic activity of *Eupatorium odoratum*. *International Journal of Crude Drug Research*, 28(4), 253-256. <https://doi.org/10.3109/13880209009082829>
- Almeida, R. N., Navarro, D. S., & Barbosa-Filho, J. M. (2001). Plants with central analgesic activity. *Phytomedicine*, 8(4), 310-322. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00050>
- Al-Rehaily, A. J., Al-Said, M. S., Al-Yahya, M. A., Mossa, J. S., & Rafatullah, S. (2002). *Ethnopharmacological studies on allspice*

- (*Pimenta dioica*) in laboratory animals. *Pharmaceutical Biology*, 40, 200-205. <https://doi.org/10.1076/phbi.40.3.200.5829>
- Angulo, Y., & Lomonte, B. (2009). Biochemistry and toxicology of toxins purified from the venom of the snake *Bothrops asper*. *Toxicon*, 54(7), 949-957. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.12.014>
- Ardón Manchamé, C. E. (2008). *Descripción y uso de especies con propiedades medicinales en las comunidades de San Francisco Chancó, Salitrón y Corral de Piedra de la Microcuenca del río Chancó del Municipio de San Juan Ermita, Departamento de Chiquimula* [Grade thesis, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/12538/1/19%20A%20T-1203-518-Ardon.pdf>
- Arvigo, R., & Balick, M. (1993). *Bursera simaruba*. In R. Arvigo & M. Balick (Eds.), *Rainforest remedies. One hundred healing herbs of Belize* (2nd ed., pp. 118-119). Lotus Press.
- Asha, M. M., Chaithra, M., Kamar, Y., Vivek, M. N., & Kekuda, P. T. R. (2013). Antibacterial activity of leaf and bark extracts of *Pimenta dioica* (Linn.) Merrill against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(5), 3207-3215.
- Badilla, B., Chaves, F., Mora, G., & Poveda, L. J. (2006). Edema induced by *Bothrops asper* (Squamata: Viperidae) snake venom and its inhibition by Costa Rican plant extracts. *Revista de Biología Tropical*, 54(2), 245-252. <https://doi.org/10.15517/rbt.v54i2.13865>
- Badilla, B., Chaves-Mora, F., Jiménez-Castro, S., Rodríguez-Rodríguez, G., & Poveda-Alvarez, L. J. (2008). Effects of an extract of *Cissampelos pareira* on the hemorrhagic and proteolytic activities from *Bothrops asper* venom. *Pharmacognosy Magazine*, 4, 27-30.
- Balick, M. J., & Arvigo, R. (1998). *The rainforest*. Lotus Press.
- Balick, M. J., & Arvigo, R. (2015). *Message from the Gods. A guide to the useful plants of Belize*. Oxford University Press,
- Barreno-Ortiz, F. M. (2012). *Estudio etnobotánico medicinal en 11 municipios de la reserva de usos múltiples Cuenca del Lago de Atitlán, Sololá* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/B238.pdf>
- Berger, I., Passreiter, C. M., Cáceres, A., & Kubelka, W. (2001). Antiprotozoal activity of *Neurolaena lobata*. *Phytotherapy Research*, 15(4), 327-330. <https://doi.org/10.1002/ptr.782>
- Cáceres, A., & Cruz, S. M. (2019). Detection and validation of native plants traditionally used as medicine in Guatemala. *Current Traditional Medicine*, 5(1), 5-30. <https://doi.org/10.2174/221508380566610327172409>
- Cáceres, A., López, B., González, S., Berger, I., Tada, I., & Maki, J. (1998). Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 62(3), 195-202. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00140-8](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00140-8)
- Campbell, J. A., & Lamar, W. W. (1989). *The Venomous Reptiles of Latin America*. Cornell University Press.
- Camporese, A., Balick, M. J., Arvigo, R., Esposito, R. G., Morsellino, N., De Simone, F., & Tubaro, A. (2003). Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), 103-107. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(03\)00115-6](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(03)00115-6)
- Carretero, M. E., López-Pérez, J. L., Abad, M. J., Bermejo, P., Tillet, S., Israel, A., & Noguera-P, B. (2008). Preliminary study of the anti-inflammatory activity of hexane extract and fractions from *Bursera simaruba* (Linneo) Sarg. (Burseraceae) leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1), 11-15. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.034>
- Carvalho, B. M. A., Santos, J. D. L., Xavier, B. M., Almeida, J. R., Resende, L. M., Martins, W., Marcussi, S., Marangoni, S., Stábeli, R.G., Calderon, L.A., Soares, A.M., Da Silva, S.L., & Marchi-Salvador, D. P. (2013). Snake venom PLA₂s inhibitors isolated from Brazilian plants:

- Synthetic and natural molecules. *BioMed Research International*, Article 153045. <https://doi.org/10.1155/2013/153045>
- Castro, O., Gutiérrez, J. M., Barrios, M., Castro, I., Romero M., & Umaña, E. (1999). Neutralización del efecto hemorrágico inducido por veneno de *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae) por extractos de plantas tropicales. *Revista de Biología Tropical*, 47(3), 605-616.
- Chacón, F., Oviedo, A., Escalante, T., Solano, G., Rucavado, A., & Gutiérrez, J. M. (2015). The lethality test used for estimating the potency of antivenoms against *Bothrops asper* snake venom: Pathophysiological mechanisms, prophylactic analgesia, and a surrogate in vitro assay. *Toxicon*, 93, 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.11.223>
- 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>
- Comerford, S. C. (1996). Medicinal plants of two Mayan healers from San Andrés, Petén, Guatemala. *Economic Botany*, 50, 327-336. <https://doi.org/10.1007/BF0207342>
- Díaz, C., Gutiérrez, J. M., Lomonte, B., & Gené, J. A. (1991). The effect of myotoxins isolated from *Bothrops* snake venoms on multilamellar liposomes: Relationship to phospholipase A₂, anticoagulant and myotoxic activities. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1070, 455-460. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(91\)90086-n](https://doi.org/10.1016/0005-2736(91)90086-n)
- Duke, J. A. (1970). Ethnobotanical observations on the Choco Indians. *Economic Botany*, 24(3), 344-366. <https://doi.org/10.1070/BF02860669>
- Félix-Silva, J., Silva-Junior, A. A., Zucolotto, S. M., & Fernandes-Pedrosa M. (2017). Medicinal plants for the treatment of local tissue damage induced by snake venoms: An overview from traditional use to pharmacological evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article 5748256. <https://doi.org/10.1155/2017/5748256>
- García, M. D., Sáenz, M. T., Gómez, M. A., & Fernández, M. A. (1999). Topical anti-inflammatory activity of phytosterols isolated from *Eryngium foetidum* on chronic and acute inflammation models. *Phytotherapy Research*, 13(1), 78-80. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199902\)13:1<78::AID-PTR384>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199902)13:1<78::AID-PTR384>3.0.CO;2-F)
- Giovannini, P., & Howes M. 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>
- Girón, L. M., Freire, V., Alonzo, A., & Cáceres, A. (1991). Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 34(2-3), 173-187. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90035-c](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90035-c)
- Gracioso, J. S., Hiruma, C. A., & Souza Brito. (2000). Antiulcerogenic effect of a hydroalcoholic extract and its organic fractions of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. *Phytomedicine*, 7(4), 283-289. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80045-8](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80045-8)
- Gracioso, J. S., Paulo, M. Q., Hiruma, Lima C. A., & Souza Brito, A. (1998). Antinociceptive effect in mice of a hydroalcoholic extract of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. and its organic fractions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50, 1425-1429. <https://doi.org/10.1111/j.2042-71581998.tb03370.x>
- Guerra-Centeno, D. (2016). Perfil epidemiológico del accidente ofídico en las tierras bajas de Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 3(2), 127-138. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v3i2.112>
- Gupta, M. P., Correa, M. D., Solís, P. N., Jones, A., Galdames, C., & Guionneau-Sinclair, F. (1993). Medicinal plant inventory of Kuna Indians: Part 1. *Journal of Ethnopharmacology*, 40(2), 77-109. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90054-9](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90054-9)
- Gutiérrez, J. M. (2002). Comprendiendo los venenos de serpientes: 50 años de investigaciones en América Latina. *Revista de Biología Tropical*, 50(2), 377-394.
- 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, Article 7. <https://doi.org/10.1186/1678-9199-20-7>
- Gutiérrez, J. M. (2021). Snakebite envenomation in Central America. Epidemiology, pathophysiology

- and treatment. In S.P. Mackessy (Ed.), *Handbook of Venoms and Toxins of Reptiles* (pp. 543-558). CRC Press.
- Gutiérrez, J. M., Albuлесcu, L.-O., Clare, R. H., Casewell, N. R., Abd El-Aziz, T. M., Escalante, T., & Rucavado, A. (2021). The search for natural and synthetic inhibitors that would complement antivenoms as therapeutics for snakebite envenoming. *Toxins*, *13*(7), Article 451. <https://doi.org/10.3390/toxins13070451>
- 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*, Article 17063. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.63>
- Gutiérrez, J. M., Escalante, T., Hernández, R., Gastaldello, S., Saravia-Otten, P., & Rucavado, A. (2018). Why is skeletal muscle regeneration impaired after myonecrosis induced by viperid snake venoms? *Toxins*, *10*(5), Article 182. <https://doi.org/10.3390/toxins10050182>
- Gutiérrez, J. M., Escalante, T., & Rucavado, A. (2009). Experimental pathophysiology of systemic alterations induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*, *54*(7), 976-987. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.01.039>
- Gutiérrez, J. M., León, G., Rojas, G., Lomonte, B., Rucavado, A., & Chaves, F. (1998). Neutralization of local tissue damage induced by *Bothrops asper* (terciopelo) snake venom. *Toxicon*, *36*(11), 1529-1538. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(98\)00145-7](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(98)00145-7)
- Gutiérrez, J. M., Lomonte, B., León, G., Rucavado, A., Chaves, F., & Angulo, Y. (2007). Trends in snakebite envenomation therapy: Scientific, technological and public health considerations. *Current Pharmaceutical Design*, *13*(28), 2935-2950. <https://doi.org/10.2174/138161207782023784>
- Gutiérrez, J. M., Rucavado, A., Chaves, F., Díaz, C., & Escalante, T. (2009). Experimental pathology of local tissue damage induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*, *54*(7), 958-975. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.01.038>
- Gutiérrez, J. M., Rucavado, A., & Escalante, T. (2010). Snake venom metalloproteinases: Biological roles and participation in the pathophysiology of envenomation. In S. P. Mackessy (Ed.), *Handbook of venoms and toxins of reptiles* (pp. 115-138). CRC Press.
- Hanphakphoom, S., Tophon, S., Waranusantigul, P., Kangwanrangsan, N., & Krajangsang, S. (2016). Antimicrobial activity of *Chromolaena odorata* extracts against bacterial human skin infections. *Modern Applied Science*, *10*(2), 159-171. <https://doi.org/10.5539/mas.v10n2p159>
- Hay, Y.-O. (2002). *Estudio etnofarmacológico de plantas utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de leishmaniasis cutánea, del paludismo y de la mordedura de serpientes, en tres departamentos de Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala-Service de Coopération au Développement-Institut de Recherche pour le Développement.
- Hitziger, M. (2016). *Mayan phytotherapy in Guatemala: A transdisciplinary study for ethnographic documentation and local empowerment* [Doctoral thesis, Swiss Federal Institute of Technology]. <https://doi.org/10.3929/ethz-a-010735971>
- Instituto Indigenista Nacional. (1978). Aspectos de la medicina popular en el área en el área rural de Guatemala. *Guatemala Indígena*, *13*(3-4), 425-429.
- Jasso de Rodríguez, D., Angulo-Sánchez, J. L., & Hernández-Castillo, D. (2006). An overview of the antimicrobial properties of Mexican medicinal plants. In M. Rai & M. Carpinella (Eds.), *Naturally Occurring Bioactive Compounds* (pp. 352-377). Elsevier.
- Jiménez-Suárez, V., Nieto-Camacho, A., Jiménez-Estrada, A., & Alvarado-Sánchez, B. (2016). Anti-inflammatory, free radical scavenging and alpha-glucosidase inhibitory activities of *Hamelia patens* and its chemical constituents. *Pharmaceutical Biology*, *54*(9), 1822-1830. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1129544>
- Joly, L. G., Guerra, S., Séptimo, R., Solís, P. N., Correa, M. D., Gupta, M. P., Levy, S., & Sandberg, F.

- (1987). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used by the Guaymi Indians in western Panama. Part I. *Journal of Ethnopharmacology*, 20(2), 145-171. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(87\)90085-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(87)90085-7)
- Jorge, M. T., Ribeiro, L. A., & O'Connell, J. L. (1999). Prognostic factors for amputation in the case of envenoming by snakes of the *Bothrops* genus (Viperidae). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 93(4), 401-408. <https://doi.org/10.1080/00034989958393>
- Junor, G. O., Porter, R. B., Facey, P. C., & Yee, T. H. (2007). Investigation of essential oil extracts from four native Jamaican species of *Bursera* for antibacterial activity. *West Indian Medical Journal*, 56(1), 22-25. <https://doi.org/10.1590/s0043-31442007000100005>
- Kasturiratne, A., Wickremasinghe, A. R., de Silva, N., Gunawardena, N. K., Pathmeswaran, A., Premaratna, R., Savioli, L., Lalloo, D. G., & 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), Article e218. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050218>
- Kini, R. M. (2003). Excitement ahead: Structure, function and mechanism of snake venom phospholipase A₂ enzymes. *Toxicon* 42(8), 827-840. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.11.002>
- Kufer, J., Heinrich, M., Förther, H., & Pöll, E. (2005). Historical and modern medicinal plant uses -the example of the Ch'ortí Maya and Ladinos in Eastern Guatemala. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(9), 1127-1152. <https://doi.org/10.1211/jpp.57.9.0008>
- Küpel, E., Kartal, M., Aslan, S., & Yesilada, E. (2006). Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(1), 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.02.005>
- Lentz, D. L., Clark, A. M., Hufford, C. D., Meurer-Grimes, B., Passreiter, C. M., Cordero, J., Ibrahim, O., & Okunade, A. L. (1998). Antimicrobial properties of Honduran medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 63(3), 253-263. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00100-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00100-7)
- Lomonte, B., León, G., Angulo, Y., Rucavado, A., & Núñez, V. (2009). Neutralization of *Bothrops asper* venom by antibodies, natural products and synthetic drugs: Contributions to understanding snakebite envenomings and their treatment. *Toxicon*, 54(7), 1012-1028. <https://doi.org/10.1017/j.toxicon.2009.03.015>
- Lomonte, B., Lundgren, J., Johansson, B., & Bagge, U. (1994). The dynamics of local tissue damage induced by *Bothrops asper* snake venom and myotoxin II on the mouse cremaster muscle: An intravital and electron microscopic study. *Toxicon*, 32(1), 41-55. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90020-5)
- Lorenzo-Leal, A. C., Palou, E., López-Malo, A., & Bach, H. (2019). Antimicrobial, cytotoxic, and anti-inflammatory activities of *Pimenta dioica* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *BioMed Research International*, Article 1639726. <https://doi.org/10.1155/2019/1639726>
- Maroyi, A. (2013). Traditional use of medicinal plants in south-central Zimbabwe: review and perspectives. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, Article 31. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-31>
- Maroyi, A. (2019). *Sansevieria hyacinthoides* (L.) Druce: A review of its botany, medicinal uses, phytochemistry, and biological activities. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(9), 21-26. <https://doi.org/10.2215/ajpcr.2019.v12i9.34721>
- McKinnon, R., Binder, M., Zupkó, I., Afonyushkin, T., Lajter, I., Vasas, A., de Martin, R., Unger, C., Dolznig, H., Diaz, R., Frisch, R., Passreiter, C. M., Krupitza, G., Hohmann, J., Kopp, B., & Bochkov, V. N. (2014). Pharmacological insight into the anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass. *Phytomedicine*, 21(12), 1695-1701. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.07.019>
- Mejia, J. V. (1927). Plantas medicinales. *Geografía de Guatemala*. Tipografía Nacional
- Michel, T., Kerdudo, A., Ellong, E. N., Gonnot, V., Rocchi, S., Tanti, J. F., Boyer, L., Adenet, S., Rochefort, K., & Fernandez, X. (2016). Anti-inflammatory, cytotoxic and antimicrobial activity of *Piper peltatum* leaf extract. *Planta*

- Medica*, 82(S 01), S1-S381. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1596571>
- Morton, J. F. (1981). *Atlas of medicinal plants of middle America: Bahamas to Yucatán*. Springfield.
- Mors, W. B., Nascimento, M. C., Pereira, B. M., & Pereira, N. A. (2000). Plant natural products active against snake bite--the molecular approach. *Phytochemistry*, 55(6), 627-642. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00229-6](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00229-6)
- Mukhopadhyay, M. K., Banerjee, P., & Nath, D. (2012). Phytochemicals - biomolecules for prevention and treatment of human diseases - a review. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 3(7).
- Nagaraj, T., Sumana, C. K., Okade, D., Kumar, S., Nigam, H., & Ggula, S. (2017). Efficacy of *Pimenta dioica* leaf powder in the management of chronic generalized gingivitis: A clinical trial. *Journal of Medicine, Radiology, Pathology & Surgery*, 4(4), 1-4.
- Nayak, B. S., Ramlogan, S., Rao, A. V., & Maharaj, S. (2014). *Neurolaena lobata* L. promotes wound healing in Sprague Dawley rats. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 4(2), 1060-110. <https://doi.org/10.4103/2229-516X.136791>.
- Nicolas, J. P. (1999). *Plantas Medicinales des Mayas kiché du Guatemala*. Ibis Press.
- Noguera, B., Díaz, E., García, M. V., Feliciano, A. S., López-Pérez, J. L., & Israel, A. (2004). Antiinflammatory activity of leaf extract and fractions of *Bursera simaruba* (L.) Sarg (Burseraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 92(1), 129-133. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.009>
- Núñez, V., Castro, V., Murillo, R., Ponce-Soto, L. A., Merfort, I., & Lomonte, B. (2005). Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards myotoxic phospholipases A₂ from *Bothrops* snake venoms: Isolation of 4-nerolidylcatechol as active principle. *Phytochemistry*, 66(9), 1017-1025. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.03.026>
- Onwasigwe, E. N., Verghese, M., Sunkara R., Shaxckelford, L., & Walker, T. (2017). In vitro analysis of the antioxidant effect of allspice. *Food and Nutrition Sciences*, 8(7), 778-792. <https://doi.org/10.4236/fns.2017.87055>
- Otero, R., Núñez, V., Barona, J., Fonnegra, R., Jiménez, S. L., Osorio, R. G., Saldarriaga, M., & Díaz, A. (2000). Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 233-241. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(00\)00321-4](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(00)00321-4)
- Owoyele, B. V., Oguntoye, S. O., Kare, K., Ogunbiyi, B. A., Aruboula, E. A., & Soladoye, A. O. (2008). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities from flavonoid fractions of *Chromolaena odorata*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(9), 219-225.
- Pandith, H., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., & Gritsanapan, W. (2012). In vivo and in vitro hemostatic activity of *Chromolaena odorata* leaf extract. *Pharmaceutical Biology*, 50(9), 1073-1077. <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.656849>
- Pandith, H., Zhang, X., Liggett, J., Min, K. W., Gritsanapan, W., & Baek, S. J. (2013). Hemostatic and wound healing properties of *Chromolaena odorata* leaf extract. *International Scholarly Research Notices*, Article 168269. <https://doi.org/10.1155/2013/168269>
- Pardo Villegas, P. D., Burgos Barrios, C. L., & Cruz de León, H. W. (2011). *Plantas medicinales y comestibles de la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico-RNUMM-, Taxisco, Santa Rosa. Guatemala: Dirección General de Investigación* (inf-2011-024). Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente y Centro de Datos para la Conservación, Centro de Estudios Conservacionistas.
- Patiño, A., C., Benjumea, D. M., & Pereañez, J. A. (2013). Inhibition of venom serine proteinase and metalloproteinase activities by *Renealmia alpinia* (Zingiberaceae) extracts: Comparison of wild and in vitro propagated plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(2), 590-596. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.07.033>
- Paul, J. H., Seaforth, C. E., & Tikasingh, T. (2011). *Eryngium foetidum* L.: A review. *Fitoterapia*, 82(3), 302-308. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.11.010>

- Peraza-Sánchez, S. R., Cen-Pacheco, F., Noh-Chimal, A., May-Pat, F., Simá-Polanco, P., Dumonteil, E., García-Miss, M. R., & Mut-Martín, M. (2007). Leishmanicidal evaluation of extracts from native plants of the Yucatan peninsula. *Fitoterapia*, *78*(4), 315-318. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.013>
- Pereañez, J. A., Patiño, A. C., Núñez, V., & Osorio, E. (2014). The biflavonoid morelloflavone inhibits the enzymatic and biological activities of a snake venom phospholipase A₂. *Chemico-Biological Interactions*, *220*, 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.06.015>
- Pilco, G., Vinueza, D., Acosta, K., & Torres, A. (2019). Actividad inhibitoria de la hialuronidasa del extracto hidroalcohólico de *Piper peltatum*. *KnE Engineering*, *5*(2)247-259. <https://doi.org/10.18502/keg.v5i2.6241>
- Posadas, S., Rodríguez, B., Lobo-Echeverri, T., Ramos, R. S., Hyslop, S., & Núñez, V. (2019). Effects of two fractions of *Swietenia macrophylla* and catechin on muscle damage induced by *Bothrops* venom and PLA₂. *Toxins (Basel)*, *1*(1), Article 40. <https://doi.org/10.3390/toxins11010040>
- Preciado, L. M., Comer, J., Núñez, V., Rey-Suárez, P., & Pereañez, J. A. (2018). Inhibition of a snake venom metalloproteinase by the flavonoid myricetin. *Molecules*, *23*(10), Article 2662. <https://doi.org/10.3390/molecules23102662>
- Rao, P. S., Navinchandra, S., & Jayaneera, K. N. (2012). An important spice, *Pimenta dioica* (Linn) Merrill: A review. *International Current Pharmaceutical Journal*, *1*(8), 221-225. <https://doi.org/10.3329/icpj.v1i8.11255>
- Rojas, G., Jiménez, J. M., & Gutiérrez, J. M. (1994). Caprylic acid fractionation of hyperimmune horse plasma: Description of a simple procedure for antivenom production. *Toxicon* *32*(3), 351-363. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90087-6)
- Rucavado, A., & Lomonte, B. (1996). Neutralization of myonecrosis, hemorrhage, and edema induced by *Bothrops asper* snake venom by homologous and heterologous pre-existing antibodies in mice. *Toxicon*, *34*(5), 567-577. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(95\)00162-X](https://doi.org/10.1016/0041-0101(95)00162-X)
- Rucavado, A., Soto, M., Escalante, T., Loria, G. D., Arni, R., & Gutiérrez, J. M. (2005). Thrombocytopenia and platelet hypoaggregation induced by *Bothrops asper* snake venom. Toxins involved and their contribution to metalloproteinase-induced pulmonary hemorrhage. *Thrombosis and Haemostasis*, *94*(1), 123-131. <https://doi.org/10.1160/TH05-02-0112>
- Sáenz, M. T., Fernández, M. A., & García, M. D. (1997). Antiinflammatory and analgesic properties from leaves of *Eryngium foetidum* L. (Apiaceae). *Phytotherapy Research*, *11*(5), 380-383. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199708\)11:5<380::AID-PTR116>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199708)11:5<380::AID-PTR116>3.0.CO;2-%23)
- Salazar, M., Chérigo, L., Acosta, H., Otero, R., & Martínez-Luis, S. (2014). Evaluation of anti-*Bothrops asper* venom activity of ethanolic extract of *Brownea Rosademonte* leaves. *Acta Pharmaceutica*, *64*(4), 475-483. <https://doi.org/10.2478/acph-2014-0033>
- Sánchez, E. E., Ramírez, M. S., Galán, J. A., López, G., Rodríguez, A., & Pérez, J. (2003). Cross reactivity of three antivenoms against North American snake venoms. *Toxicon*, *41*(3), 315-320. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(02\)00293-3](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(02)00293-3)
- Sandoval, M. A., & Ayala, M. L. (1999). *Etnobotánica de las plantas medicinales usadas por la cultura k'aqchikel en el departamento de Guatemala* (Proyecto Fodecyt No. 32/97). Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Universidad Rural de Guatemala.
- Santhosh, M. S., Hemshekhar, M., Sunitha, K., Thushara, R. M., Jnaneshwari, S., Kemparaju, K., & Girish, K. S. (2013). Snake venom induced local toxicities: Plant secondary metabolites as an auxiliary therapy. *Mini Reviews in Medical Chemistry*, *13*(1), 106-123.
- Saravia, P., Cáceres, A., Velásquez, R., & Lara, O. (2001). *Plantas con actividad antiofidica en Guatemala. I. Identificación y evaluación de su capacidad neutralizante* (Proyecto Fodecyt No. 47-99). Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Saravia, P., Hernández, 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. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v2i1.34>
- Saravia, P., Hernández, R., Marroquín, N., García, G., Mérida, M., Cruz, S., Orozco, N., Cáceres, A., & Gutiérrez, J. M. (2017). Inhibición de los efectos coagulante, fosfolipasa A₂ y proteolítico del veneno de *Bothrops asper* por plantas usadas tradicionalmente en Centroamérica. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 4(2), 203-216. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v4i2.355>
- Saravia, P., Hernández, R., Marroquín, N., García, G., Nave, F., Rochac, L., Genovez, V., Mérida, M., Cruz, S. M., Cáceres, A., & Gutiérrez, J. M. (2021). Inhibición de las actividades proteolítica y fosfolipasa A₂ del veneno de *Bothrops asper* por el extracto etanólico de *Neurolaena lobata* (L.) Cass. *Ciencia Tecnología y Salud*, 8(1), 10-23. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v8i1.865>
- Saravia, P., Hernández, R., Marroquín, N., Pereañez, J. A., Preciado, L. M., Vásquez, A., García, G., Nave, F., Rochac, L., Genovez, V., Mérida, M., Cruz, S. M., Orozco, N., Cáceres, A., & Gutiérrez, J. M. (2022). Inhibition of enzymatic activities of *Bothrops asper* snake venom and docking analysis of compounds from plants used in Central America to treat snakebite envenoming. *Journal of Ethnopharmacology*, 283, Article 114710. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114710>
- Singh, A., Duggal, S., Singh, J., & Katekhaye, S. (2010). An inside preview of Ethnopharmacology of *Cissampelos pareira* Linn. *International Journal of Biological Technology*, 1(1), 114-120.
- Singh, B. K., Ramakrishna, Y., & Ngachan, S.V. (2014). Spiny coriander (*Eryngium foetidum* L.): A commonly used, neglected spicing-culinary herb of Mizoram, India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61, 1085-1090. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0130-5>
- Singha, S. C. (1965). *Medicinal plants of Nigeria*. Nigeria National Press
- Sirinthipaporn, A., & Jiraungkoorskul, W. (2017). Wound healing property review of Siam weed, *Chromolaena odorata*. *Pharmacognosy Reviews*, 11(21), 35-38. https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_53_16
- Six, D. A., & Dennis, E. A. (2000). The expanding superfamily of phospholipase A(2) enzymes: Classification and characterization. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1488(2), 1-19. [https://doi.org/10.1016/s1388-1981\(00\)00105-0](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00105-0)
- Soares, A. M., Ticali, F. K., Marcussi, S., Lourenço, M. V., Januário, A. H., Sampaio, S. V., Giglio, J. R., Lomonte, B., & Pereira, P. S. (2005). Medicinal plants with inhibitory properties against snake venoms. *Current Medicinal Chemistry*, 12(22), 2625-2641. <https://doi.org/10.2174/092986705774370655>
- Solórzano, A. (2004). *Serpientes de Costa Rica*. Editorial InBio.
- Sosa, S., Balick, M. J., Arvigo, R., Esposito, R. G., Pizza, C., Altinier, G., & Tubaro, A. (2002). Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2), 211-215. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00080-6](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00080-6)
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946-1976). Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 24, (1-12).
- Standley, P. C., & Williams, L.O. (1975). Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 24(8), 411-412.
- Suárez, A., Ulate, G., & Ciccio, J. F. (1997). Cardiovascular effects of ethanolic and aqueous extracts of *Pimenta dioica* in Sprague-Dawley rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 55(2), 107-111. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(96\)01485-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(96)01485-7)
- Taiwo, O. B., Olakide, O. A., Soyannwo, O. O., & Makinde, J. M. (2000). Anti-inflammatory, antipyretic and antispasmodic properties of *Chromolaena odorata*. *Pharmaceutical Biology*, 38(5), 367-370. <https://doi.org/10.1076/phbi.38.5.367.5970>
- Umukoro, S., & Ashorobi, R. B. (2006). Evaluation of the anti-inflammatory and membrane-stabilizing effects of *Eupatorium odoratum*. *International Journal of Pharmacology*, 2(5), 509-512.
- Vijayaraghavan, K., Rajkumar, J., Bukhari, S. N. A., Al-Sayed, B., & Seyed, M. A. (2016). *Chromolaena odorata*: A neglected weed with a wide spectrum of pharmacological activities (Review). *Molecular Medicine Reports*, 15(3), 1007-1016. <https://doi.org/10.3892.mmr.2017.6133>

- Vijayaraghavan, K., Rajkumar, J., & Seyed, M. A. (2017). Efficacy of *Chromolaena odorata* leaf extracts for the healing of rat excision wounds. *Veterinarni Medicina*, 62(10), 565-578.
- Vital, P. G., & Rivera, W. L. (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(7), 511-518.
- Walshe-Roussel, B., Choueiri, C., Saleem, A., Asim, M., Caal, F., Cal, V., Rojas, M. O., Pesek, T., Durst, T., & Arnason, J. T. (2013). Potent anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass., a Q'eqchi' Maya traditional medicine. *Phytochemistry*, 92, 122-137. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.05.004>.
- Yasunaka, K., Abe, F., Nagayama, A., Okabe, H., Lozada-Pérez, L., López-Villafranco, E., Muñiz, E. E., Aguilar, A., & Reyes-Chilpa, R. (2005). Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 293-299. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.014>
- World Health Organization. (2017). WHO Guidelines for production, control and regulation of snake antivenom immunoglobulins. Annex 5
- World Health Organization. (2019). *Snakebite Envenoming. A Strategy for Prevention and Control*. <https://www.who.int/snakebites/resources/9789241515641/en/>
- Zhang, L., & Lokeshwar, B. L. (2012). Medicinal properties of the Jamaican pepper plant *Pimenta dioica* and allspice. *Current Drug Targets*, 13, 19-1906. <https://doi.org/10.2174/138945012804545641>

Los manglares como ecosistemas prioritarios para aumentar la resiliencia ante el cambio climático: retos y oportunidades en el pacífico de Guatemala

The mangroves as priority ecosystems to increase the resilience to climate change: challenges and opportunities in the pacific of Guatemala

María A. Schoenbeck^{1,2*}

¹Departamento de posgrado, Centro de Estudios del Mar y Acuicultura (CEMA),

²Centro de Estudios Conservacionistas -CECON- Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: schoenbeck.maria@usac.edu.gt

Recibido: 17 de agosto 2021 / Revisión: 12 de agosto 2022 / Aceptado: 29 de agosto 2022

Resumen

Los manglares se distribuyen en las zonas tropicales y subtropicales del planeta. Se ubican en zonas inundables, en suelos de alta salinidad y anaerobios. Estos bosques son reconocidos como ecosistemas fundamentales para el mantenimiento de la resiliencia ante el cambio climático en los hábitats marino-costeros ya que actúan como defensa ante tormentas y tsunamis, además participan en la estabilización microclimática y en la absorción de CO₂. Sin embargo, estos ecosistemas han disminuido a través de los años debido a factores principalmente antropogénicos; se prevé que el cambio climático también influirá negativamente en su conservación. En el pacífico de Guatemala se ha registrado una cobertura de 22,763.25 ha de bosque de manglar, compuestas por seis especies. A pesar de lo anterior, únicamente el 23% está protegido dentro del sistema de áreas protegidas, por lo que, la cobertura vegetal de manglar ha disminuido a través de los años debido a cambios de uso de suelo, crecimiento urbano, contaminación, tala ilegal, entre otros. Asimismo, existen diversos retos que dificultan su conservación, como la falta de ordenamiento territorial y falta de conocimiento legal. Es necesario realizar acciones que promuevan la gestión sostenible de este ecosistema, y trabajar en las oportunidades existentes que podrían contribuir a la conservación, como el turismo sostenible e incentivos forestales que pueden disminuir los retos planteados.

Palabras clave: Servicios ecosistémicos, ecosistema de manglar, cambio climático

Abstract

Mangroves are distributed in tropical and subtropical zones of the planet. They are located in flood zones, in high salinity and anaerobic soils. These forests are recognized as fundamental ecosystems for maintaining resilience to climate change in marine-coastal habitats, as they act as a defense against storms and tsunamis and participate in microclimatic stabilization and CO₂ absorption. However, these ecosystems have declined over the years due mainly to anthropogenic factors, and it is expected that climate change will also negatively influence their conservation. In the Pacific region of Guatemala, 22,763.25 ha of mangrove forest, composed of six species, have been recorded. Despite the above, only 23% is protected within the protected areas system, therefore mangrove vegetation cover has decreased over the years due to changes in land use, urban growth, pollution, illegal logging, among others. Likewise, there are several challenges that hinder its conservation, such as the lack of land use planning and lack of legal knowledge. It is necessary to carry out actions that promote the sustainable management of this ecosystem, and to work on existing opportunities that could contribute to conservation, such as sustainable tourism and forestry incentives that can reduce the challenges posed.

Keywords: Ecosystemic service, mangrove ecosystem, climate change



Introducción

Los manglares son bosques de plantas halófitas que se distribuyen en zonas inundables a lo largo de las regiones costeras tropicales y subtropicales (Gaxiola, 2011; Rzedowski, 2006). Estos ecosistemas representan áreas de alta productividad primaria en función de la biomasa aérea o caída de hojarasca, esta última es esencial para la regeneración de los nutrientes en suelos, y la dinámica de carbono en sistemas adyacentes (Alongi et al., 2001; Gattuso et al., 1998; Lacerda et al., 2001; López-Medellín & Ezcurra, 2012; Wafar et al., 1997).

Desde el punto de vista ecológico, albergan una gran diversidad de especies biológicas tanto locales como migratorias en sus distintos estadios de vida (Rzedowski, 2006; Windevoxhel et al., 2009). Además, los bosques de manglar son fundamentales para el mantenimiento de los hábitats marino-costeros al actuar como defensa ante eventos climáticos. Al mismo tiempo, participan en la estabilización microclimática y en la absorción de CO₂ a través del mar y la atmósfera, manteniendo así la resiliencia ante el cambio climático (Carvajal-Oses et al., 2019; Yáñez-Arancibia et al., 2014).

Los bosques de manglar desde el punto de vista económico y social contribuyen a los medios de vida de las personas locales al proveerles leña, turismo, material de construcción, madera, recreación, recursos pesqueros, taninos y protección ante eventos climáticos. Se calcula que el uso de la leña de manglar en el pacífico genera un ingreso de USD 35,000 al año, en el caso de los materiales de construcción (Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales [Marn] & Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo [PNUD], 2018; The Nature Conservancy [TNC] & Marn, 2009; Yáñez-Arancibia et al., 1998).

En el pacífico de Guatemala en año 2012, el Instituto Nacional de Bosques [Inab] & Consejo Nacional de Áreas Protegidas [Conap], registró una cobertura de manglar de aproximadamente 22,763.25 (ha) de las cuales únicamente el 23% se encuentra protegido dentro del Sistema guatemalteco de Áreas Protegidas (SIGAP). Se han reportado seis especies de mangle para el área: *Rhizophora mangle* L. 1753, *Rhizophora racemosa* G. Mey., Prim. Fl. Esseq., 185. 1818., *Avicennia germinans* (L.) L. 1764, *Avicennia bicolor* Standl 1923, *Laguncularia racemosa* (L.) CFGaertn 1807 y *Conocarpus erectus* L. 1753. La distribución de estas especies en la costa pacífica de Guatemala depende de la presencia de cuerpos de agua, disposición de nu-

trientes y a la salinidad, esta puede variar entre 0-100 PSU (Jimenes, 1985; Kathiresan, 2005; Zacarías-Coxic et al., 2019).

Estos manglares son vulnerables ante los impactos relacionados al cambio climático y además son altamente afectados debido a actividades antropogénicas como urbanización, cambios de uso del suelo, alteraciones del flujo hídrico, contaminación, tala ilegal y avance de la frontera agrícola; provocando su degradación y su capacidad de respuesta a perturbaciones naturales y en su capacidad de brindar servicios ecosistémicos a las poblaciones locales (Marn & PNUD, 2018; Windevoxhel, 1994). El objetivo de este ensayo es describir los distintos retos y oportunidades actuales para la conservación de los manglares en el pacífico de Guatemala.

Contenido

Los manglares son ecosistemas constituidos por árboles y arbustos de formación leñosa, densa, de hojas perennes y se caracterizan porque algunas especies presentan un sistema radical con raíces adventicias y neumatóforos (Rzedowski, 2006). Estos ecosistemas se distribuyen en zonas inundables en regiones costeras tropicales y subtropicales (Gaxiola, 2011; Flores-Verdugo et al., 2003; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura [FAO], 1994; Rzedowski, 2006).

Los ecosistemas de manglar se encuentran entre los ecosistemas más productivos en el planeta tierra y proveen áreas de refugio, reproducción, alimento y zonas de descanso para una gran diversidad de especies terrestres y acuáticas en los diferentes niveles tróficos, incluyendo especies locales como migratorias de importancia ecológica y económica (Rzedowski, 2006; Windevoxhel et al., 2009; Yáñez-Arancibia et al., 1998).

Por otro lado, los manglares son fundamentales para el mantenimiento de la conectividad del paisaje, la calidad del agua y la estabilidad de la línea de costa, debido a que controlan los sedimentos y la concentración y distribución de nutrientes en aguas estuarinas (Marn & PNUD, 2018; Yáñez-Arancibia et al., 1998). Además, son prioritarios para mantener la resiliencia de los ecosistemas al funcionar como defensa a perturbaciones como tormentas tropicales, huracanes, inundaciones y erosión, así como mitigar los efectos del cambio climático al almacenar CO₂ en sus raíces (Yáñez-Arancibia et al., 1998).

La abundancia y distribución geográfica de las seis especies registradas en el área del pacífico de Guatemala, depende de las características climáticas y fisiográficas de la costa. *C. erectus* se distribuye en la zona de transición entre bosque de manglar y bosque seco, *A. bicolor* se encuentra principalmente en la zona Este, *R. racemosa* se encuentra desde Iztapa a Chiquimulilla, mientras que el resto de las especies están presentes a lo largo de la costa sur del país (Inab & Conap, 2012; Zacarías-Coxic et al., 2019).

De acuerdo con Conap (2011), existen dos zonas de importancia natural para los manglares en el pacífico del país: manglares de Tehuantepec-Manchón y manglares del norte de la costa pacífica. La primera zona tiene una superficie de 853 km², y se ubica en el departamento de San Marcos, Retalhuleu, Suchitepéquez y parte de Escuintla. En esta zona se encuentran los manglares más altos del país. Además, es importante mencionar que esta zona incluye el área protegida Manchón Guamuchal, conocida como la masa de manglar más grande de Guatemala, la cual brinda refugio a diversas plantas, peces, moluscos y aves, incluyendo aves migratorias. Es por esta razón que, en 1995 la Convención de Humedales de Interés Mundial (Convención Ramsar) reconoció el área como un humedal de alta importancia para la conservación de aves migratorias marinas.

La segunda zona conocida como manglares del norte de la costa pacífica seca, posee una superficie de 150 km², ubicada en los departamentos Escuintla, Santa Rosa y Jutiapa. Esta zona contiene al corredor biológico Monterrico-Hawái conocido como la segunda masa de manglar más grande del país y además se encuentra el área Monterrico-Río La Paz, señalada como un Área de Importancia para la Conservación de las Aves (IBA), por sus siglas en inglés (Eisermann & Avendaño, 2007).

Sin embargo, el ecosistema de manglar en la región del pacífico ha sido altamente afectado a través del tiempo debido a factores naturales y antropogénicos, esta última ha provocado la pérdida de alrededor del 50% de la cobertura forestal de mangle desde 1965 hasta la actualidad. Esto a consecuencia de la extracción desmedida para producción de leña, carbón y construcción de viviendas, así como, salineras, camaronerías, avance de la frontera agrícola, incendios forestales, crecimiento urbano desordenado y centros turísticos (Asociación de Rescate y Conservación de Vida-Silvestre [Arcas], 2010; Inab & Conap, 2015; López et al., 2014).

Por otro lado, el cambio climático tiene un alto impacto en el ecosistema de manglar, afectando su sobrevivencia debido a cambios en los patrones de tem-

peratura, precipitación pluvial, depresiones tropicales, huracanes, patrones hidrológicos y variación del nivel medio del mar. Por ejemplo, PNUD en el 2018, menciona que, en el pacífico de Guatemala en los últimos 50 años, la temperatura aumentó 0.71-0.96 °C. Asimismo, prevé que para el 2050 existirá un aumento en 2 °C de la temperatura, 1 cm en el nivel del mar y la precipitación disminuirá un 20%. Además, un estudio en Monterrico, Santa Rosa prevé que para el 2050 existirá un incremento de temperatura en un 14% y una disminución de precipitación entre el 20% al 28%, esto podría provocar un aumento de áreas secas, limitación de la disponibilidad hídrica y cambios en la composición y estructura de la vegetación, por lo que se espera que los manglares sean uno de los ecosistemas más afectados (Scheel, 2017).

A continuación, se abordarán distintos retos y oportunidades actuales para alcanzar la conservación de los manglares en el pacífico de Guatemala.

Retos

Avance de la frontera agrícola

En el pacífico de Guatemala existen crecientes actividades agrícolas, que figuran como un reto para la conservación de los bosques de manglar, ya que mantienen un modelo ecológico no compatible. Estas actividades han promovido el cambio de uso del suelo y deforestación, en el caso de la agricultura utilizan mangle joven principalmente como tutores, para el cultivo de pashte (Ruiz-Ordoñez & Sigüenza, 1999). Por otro lado, se ha documentado que monocultivos como la caña de azúcar generan alto impacto en la dinámica hídrica de la zona marino-costera, ya que, el cambio de uso de suelo y desvío de ríos para uso de riego, promueven el flujo de nutrientes hacia los manglares provocando asolvamiento en los canales y esteros. Esto genera cambios en la hidrología y estrés hídrico, lo que induce al ahogamiento de los neumatóforos de los manglares, afectando así su sobrevivencia (Arcas, 2011; Dirección de Normatividad de la Pesca y Acuicultura [Dipesca] et al., 2018; Marn & PNUD, 2018). Así mismo, la tala a orillas de los esteros y la zafra promueve al aumento de temperatura afectando a los suelos y manglares debido al calentamiento, además ligado a esta actividad agrícola, se puede mencionar la contaminación por agroquímicos, los cuales al llover se arrastran por la escorrentía hasta los ríos que desembo-

can a los esteros y al canal de Chiquimulilla (Marn & PNUD, 2018; Ruiz-Ordoñez & Sigüenza, 1999).

Sobreexplotación y actividades no sustentables

El ecosistema de manglar sufre alta presión por parte de taladores para su comercialización de leña y construcción (Ruiz-Ordoñez & Sigüenza, 1999). Esta tala ilegal degrada el bosque de manglar, generando un impacto en todo el ecosistema, así como en la flora y fauna. De la misma forma, la deforestación de los bosques cuenca arriba promueve una gran cantidad de sedimentos, provocando azolvamiento e interrumpiendo así el flujo de agua a lo largo de los esteros de la zona marino-costera, afectando el ecosistema de manglar como se menciona anteriormente.

Por otra parte, las quemadas e incendios forestales generan una fuerte presión y contribuyen a la disminución de la cobertura del bosque de manglar. Estas quemadas tienen lugar principalmente en los tulares con el fin de cazar iguanas, galapos o tortugas de agua dulce, para consumo o venta (Arcas, 2011), además se ha documentado que los pescadores buscan abrir brechas entre los tulares durante la actividad pesquera, afectando a los manglares ya que estos colindan con los tulares generalmente. Estas actividades no sustentables representan un reto para el ecosistema y para el bienestar de las poblaciones locales por lo que es necesario realizar esfuerzos para aumentar la educación ambiental y las oportunidades laborales.

Debilidad administrativa y falta de conocimiento legal

Otro reto para la conservación del ecosistema de manglar es la poca presencia de instituciones estatales conservacionistas como del Conap, Inab y la División de Protección a la Naturaleza (Diprona). Las autoridades administradoras de las distintas áreas protegidas en el pacífico de Guatemala y las comunidades necesitan respaldo y apoyo gubernamental para realizar patrullajes de control y vigilancia, divulgar y sensibilizar a las poblaciones locales sobre las sanciones legales por realizar actividades ilegales. La falta de conocimiento sobre las leyes perjudica las actividades relacionadas al aprovechamiento de los recursos naturales, sumado a la falta de estudios técnicos, estudios de impacto ambiental y la falta de aplicación de Ley Forestal,

umenta la vulnerabilidad del ecosistema de manglar ante el cambio climático (Arcas, 2011; Dipesca et al., 2018).

Falta de ordenamiento territorial

Actualmente, el ordenamiento territorial está normado por el Decreto 126-97, Ley Reguladora de las Áreas de Reserva Territoriales de la Nación de la Oficina de Control de Áreas de Reserva del Estado (OCRET). Sin embargo, en la actualidad no existe un catastro en el pacífico de Guatemala, por lo que el ordenamiento territorial es inadecuado (Ruiz-Ordoñez & Sigüenza, 1999). Por esta razón, es necesario implementar estrategias de ordenamiento territorial que incluya la supervisión y el cumplimiento de las licencias para infraestructura y actividades económicas, así mismo para garantizar que todas las actividades que se realicen cumplan con las normativas y estén de acuerdo con la zonificación en las áreas protegidas. Además, se considera que estas actividades puedan ser reguladas para mantener la conectividad en los ecosistemas, logrando así su conservación, ya que al mantener la conectividad se promueve que los ecosistemas se mantengan menos vulnerables ante el cambio climático. Hasta el momento, existe un único estudio que ha analizado la conectividad actual de este ecosistema para el pacífico del país realizado por Dávila-Pérez y colaboradores en el 2019 en Las Lisas- La Barrona.

Cambio climático

El cambio climático es otro factor que se encuentra afectando al ecosistema de manglar en el pacífico de Guatemala, ya que se prevé que diversos factores asociados al clima tendrán influencia sobre este ecosistema aumentando su vulnerabilidad. Entre ellos se puede mencionar el aumento del nivel del mar, en donde se espera que grandes volúmenes de agua entren a la zona de manglares, promoviendo estrés en estos humedales (Yáñez-Arancibia et al., 2014). Las sequías podrían contribuir a incrementar la salinidad del suelo, lo que disminuiría la sobrevivencia de plántulas de manglar y la tasa de crecimiento. Esto provocará cambios en la composición, diversidad, tamaño y productividad de los bosques de manglar (PNUD & Maga, 2018).

Por otro lado, estos factores podrían provocar además el desplazamiento de los manglares tierra adentro. Sin embargo, estos no pueden desplazar sus

rangos de distribución geográfica con la suficiente rapidez, además que el mangle está limitado tierra adentro debido al avance de la frontera agrícola, en especial a consecuencia de monocultivos. Según Yáñez-Arancibia y colaboradores (2014), la respuesta final de los ecosistemas de manglar ante el cambio climático estará determinada por el balance dinámico entre la tasa de incremento del nivel del mar, descarga de agua dulce, acreción sedimentaria, la migración lateral potencial y la temperatura. En donde se prevén tres posibles escenarios: cuando el incremento del nivel del mar es mucho mayor que la acreción sedimentaria, la erosión y la migración de la línea de costa sobrepasa la tasa a la cual pueden migrar los manglares, el ecosistema se sumergirá y será remplazado por un ambiente costero marino. Por otro lado, si la tasa del incremento del nivel del mar es mayor que la acreción sedimentaria, pero la tasa de traslado de la línea de costa no sobrepasa la tasa a la cual el ecosistema puede migrar tierra adentro, el bosque de manglar podrá retraerse tierra adentro. Finalmente, si el incremento del nivel del mar es relativamente pequeño, los manglares pueden permanecer en la línea de costa actual acumulando sedimentos en la vertical del sustrato (Ortiz-Pérez & Méndez Linares, 1999; Yáñez-Arancibia, 2010; Yáñez-Arancibia et al., 1993, 2013, 2014).

Oportunidades

A pesar de los retos mencionados anteriormente, es importante dirigir esfuerzos y generar oportunidades para la conservación de estos ecosistemas, ya que los manglares en el pacífico de Guatemala se distribuyen alrededor de lagunas costeras, esteros y desembocaduras de ríos. En estas áreas se desarrollan importantes actividades como la pesca de subsistencia y artesanal, las cuales contribuyen a la seguridad alimentaria, empleo y desarrollo económico a comunidades locales.

Programa de incentivos forestales (Probosque)

El programa de incentivos forestales, a cargo del Inab está dirigido a apoyar esfuerzos para el establecimiento, recuperación, restauración, manejo, producción y protección de bosques en Guatemala, con el objetivo de aumentar la cobertura forestal en Guatemala. Este programa tiene la modalidad de restauración de

tierras forestales degradadas a través del establecimiento o manejo de bosque de manglar y con esto se pueden beneficiar municipalidades, comités, personas individuales, comunidades indígenas y arrendatarios en áreas de reserva de la nación.

Dentro de esta clasificación, se consideran diferentes criterios entre ellos: áreas de manglar sin cobertura, área con cobertura forestal máxima de 4 m² de área basal, en el caso de ser manglar tipo matorral mayor a 0.5 ha y áreas en donde el flujo hídrico fue alterado (camaroneras, salineras, asolvamientos, entre otros). Dentro de esta clasificación se consideran 3 tipos de degradación incluyendo tres tipos de restauración las cuales incluyen regeneración natural, plantación, nucleación, considerando en un tipo la rehabilitación de flujo hídrico.

El programa Probosque representa una oportunidad para poder restaurar el ecosistema de manglar, aumentar la vulnerabilidad ante el cambio climático, conservar los bienes y servicios que este ecosistema provee a la población y beneficiar a la población a través de incentivos. Inab solicita los siguientes requisitos para la inscripción al programa: certificado de propiedad, pago de regencia en donde se califique la capacidad de uso de suelo, fotocopia de identificación personal y tarjeta de identificación tributaria del representante. Tras ser aprobada la solicitud por parte de Inab, el proyecto se puede inscribir por un periodo de 10 años y se recibe un pago de entre Q2,500/hectárea a Q22,000/hectárea anual, según el tipo de manejo que se realice, conservación o restauración (Diario de Centroamérica, 2015).

Turismo

El turismo representa una oportunidad para la conservación de los recursos naturales, incluyendo el manglar, ya que este ecosistema alberga una gran cantidad de organismos, entre ellos reptiles y aves, las cuales son consideradas un atractivo para personas locales y extranjeras. Se estima que el turismo de la naturaleza representa ingresos importantes para la industria turística a nivel mundial, generando millones de dólares al año (Buckley & Coghlan, 2003). En Guatemala, se considera que la zona marino-costera del pacífico es una región con gran actividad turística, las cuales han incluido actividades de avistamiento de cetáceos, pesca deportiva, surf y aviturismo (PNUD & Maga, 2018). Se ha reportado que la zona que tiene mejor sistematiza-

dos los datos de turismo es la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico (RNUMM), mostrando que el 74% de turismo es de visitantes nacionales, y el 19% de extranjeros, en donde la recreación ha sido el principal motivo de viaje, seguido de un 39% por el avistamiento de naturaleza y por último un 9% para aventura. En cuanto a actividades se reporta que el 59% planeo hacer caminatas, 16% conocer la historia del lugar y el 8% hacer aviturismo (Conap & Inguat, 2013).

Por esta razón, la promoción del turismo en el pacífico de Guatemala podría considerarse una oportunidad para impulsar la economía, generando fuentes de empleo para las comunidades, lo cual podría apoyar a la conservación del ecosistema, disminuyendo actividades no sustentables como la tala por parte de las comunidades locales y al mismo tiempo se promoverá el aumento de la resiliencia del ecosistema ante el cambio climático.

Adaptación basada en ecosistemas

La metodología de adaptación basada en ecosistemas (AbE), es definida como la utilización de la biodiversidad y servicios de los ecosistemas, como parte de una estrategia para la adaptación al cambio climático. Esta metodología incluye acciones para el manejo sostenible, conservación, la restauración de la biodiversidad y los servicios ecosistémicos tomando en cuenta la esfera social, ambiental y de gobernanza. Una de las prioridades de este enfoque es la infraestructura verde y los servicios ecosistémicos para fomentar la resiliencia de las sociedades humanas y el ecosistema ante el cambio climático (Iza, 2019). La infraestructura verde, se basa en una estrategia para la conservación del paisaje y sus componentes de valor natural y cultural, dentro de las iniciativas de ordenamiento y planificación sustentable del territorio. Su planificación se basa en un enfoque multi-escalar que identifica el conjunto de espacios abiertos del territorio entre ellas áreas productivas, áreas verdes, corredores hídricos, áreas silvestres con el fin de potenciar su conectividad y complementariedad (Moreno Flores, 2015).

Esta metodología a la vez genera beneficios sociales, económicos, ambientales y culturales, lo cual es un aspecto clave para lograr mejorar los impactos de cualquier programa o proyecto de conservación y/o protección. Además, puede aplicarse a diferentes escalas geográficas, tanto local, regional y nacional así mismo en diferentes plazos como corto, mediano y largo plazo. Por lo que aplicar esta herramienta dentro

de proyectos en el pacífico de Guatemala puede ayudar a obtener resultados contextualizados, viables y relevantes que colaboren a aumentar la resiliencia de los ecosistemas ante el cambio climático y promueva a la vida digna de las personas locales (Iza, 2019).

Políticas públicas relacionadas al cambio climático

El gobierno de Guatemala ha ratificado distintos convenios internacionales sobre cambio climático, como el Protocolo de Kioto y el Acuerdo de París. Por otro lado, ha desarrollado distintas políticas públicas relacionadas al cambio climático, las cuales incluyen pautas para el abordaje e implementación de planes y estrategias para incrementar la capacidad de adaptación; y reducir las emisiones de Gases de efecto invernadero (Marn & PNUD, 2018). Entre estas políticas públicas se pueden mencionar las siguientes leyes nacionales: Ley Marco de Cambio Climático (Decreto 7-2013) y la Ley de Fomento al Establecimiento, Recuperación, Restauración, Manejo, Producción y Protección de Bosques en Guatemala (Decreto 2-2015). Además, se pueden mencionar otros instrumentos importantes de política que apoyan a seguir la implementación de compromisos: Política Nacional de Cambio climático (Marn, 2009a); Política para el Manejo Integral de las Zonas Marino-Costera de Guatemala (Marn, 2009b); Plan Nacional de Acción de Cambio Climático (Consejo Nacional de Cambio Climático [CNCC], 2018); Estrategia Nacional para la Reducción de la Deforestación y Degradación de Bosques (ENDBG) (MARN, s.f.); Estrategia Nacional de Desarrollo con Bajas Emisiones de Gases de Efecto Invernadero (Gobierno de la República de Guatemala, 2018), y Actualización de la Contribución Nacionalmente Determinada (CND) (Marn, 2021).

Investigación científica sobre el ecosistema de manglar

La investigación científica desempeña un papel fundamental en los procesos de decisión pública y política a través de la generación de información. En el tema de manglares en el pacífico de Guatemala se puede mencionar las investigaciones más relevantes de las últimas dos décadas: García Chacón y colaboradores (2000), estudiaron las bases ecológicas de las funcionalidades del ecosistema manglar del pacífico

de Guatemala. Hernández y colaboradores (2012), estudiaron la cobertura actual del mangle en Guatemala a través de técnicas de percepción remota. Catalán Armas y colaboradores (2017), determinaron la degradación ambiental en el ecosistema de manglar a través de sensores remotos. Dávila-Pérez y colaboradores (2019), realizaron una primera aproximación al conocimiento de la conectividad del ecosistema manglar encontrando que el canal de Chiquimulilla en las Lisas-La Barrona funciona como corredor el cual es un elemento estratégico para considerar en la planificación.

En cuanto a investigaciones relacionadas a manglar y cambio climático en el pacífico de Guatemala, se puede mencionar: Rodríguez y Ramírez (2018), quienes estudiaron la dinámica de la cobertura de manglar y del carbono asociado en Sipacate-Naranjo, Guatemala. Sin embargo, existen vacíos de información, entre ellos, investigaciones que modelen escenarios sobre la vulnerabilidad al cambio climático, y que a su vez aporten opciones de adaptación y mitigación. Actualmente, la bióloga María Schoenbeck se encuentra realizando una investigación en el corredor Monterrico-Hawaii con el apoyo del laboratorio de ornitología de la universidad de Cornell, en donde analizará la vulnerabilidad costera ante escenarios de cambio climático. A partir de la información generada diseñará e implementará de forma participativa acciones estratégicas basadas en la naturaleza que permitan aumentar la conectividad del ecosistema y la resiliencia al cambio climático, y que además puedan incluirse en políticas públicas del área.

Los resultados derivados los estudios mencionados, han servido de base para apoyar los procesos de inventario nacional forestal (INF) y los sistemas de medición, reporte y verificación (MRV) de REDD+. Además, sirven para fortalecer la gestión sostenible de los manglares y el ordenamiento del uso de la tierra.

Conclusiones

Los manglares son fundamentales para disminuir los impactos del cambio climático ya que funcionan como defensa frente a eventos climáticos y mantienen la línea de costa; sin embargo, estos se encuentran altamente amenazados en el pacífico de Guatemala debido a diversos retos para su conservación. Por esta razón, en el país se requiere fortalecer y desarrollar políticas públicas basadas en investigación científica previamente mencionada en este documento. Estas investigaciones brindan herramientas para la toma de de-

cisiones en distintos procesos de gestión sostenible de este ecosistema y el ordenamiento del uso de la tierra.

Además, se deben generar más investigaciones científicas que brinden información fiable para entender la ecología del ecosistema de manglar, amenazas naturales y antropogénicas; que contribuyan al manejo integrado de este ecosistema. Es necesario analizar y actualizar la información sobre la cobertura de estos bosques, su conectividad y vulnerabilidad ante el cambio climático, asimismo, que contemple aspectos económicos, culturales y sociales. Esto permitirá identificar áreas y acciones prioritarias para la conservación y restauración del ecosistema, disminuyendo su vulnerabilidad ante los efectos del cambio climático. Actualmente únicamente se cuenta con el trabajo de Dávila-Pérez y colaboradores (2019), en la región de Las Lisas- La Barrona.

Finalmente, es necesario incrementar el financiamiento para implementar las medidas estipuladas dentro de las políticas públicas incluyendo el Plan de Acción Nacional de Cambio Climático (PANCC) y demás instrumentos de política. Por otro lado, es fundamental fortalecer a las entidades públicas para la gestión de fondos, generación de información, monitoreo y análisis.

Autoría del artículo

La coordinación, elaboración, revisión del documento, diseño de la recolección de datos, recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo, limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos, estructura y escritura del documento: María de los Angeles Schoenbeck Yanes.

Materiales suplementarios

Este ensayo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Asociación de Rescate y Conservación de Vida-Silvestre. (2010). *Plan Maestro del Área de Usos Múltiples de Usos Múltiples Hawaii 2010-1025*. https://www.arcasguatemala.org/wp-content/uploads/Arcas_pub_PlanHawaii2010.pdf
- Asociación de Rescate y Conservación de Vida-Silvestre. (2011). *Diagnóstico del estado actual*

- del recurso manglar y consumo familiar de mangle en el Área de Usos Múltiples Hawaii, Chiquimulilla, Santa Rosa, Guatemala.* https://arcasguatemala.org/wp-content/uploads/Arcas_pub_DiagnosticoManglar2011.pdf
- Carvajal-Oses, M., Herrera-Ulloa, A., Valdés-Rodríguez, B., & Campos-Rodríguez, R. (2019). Manglares y sus servicios ecosistémicos: Hacia un desarrollo sostenible. *Gestión y Ambiente*, 22(2), 277-290. <https://doi.org/10.15446/ga.v22n2.80639>
- Catalán Armas, S. M., Ávila Mora, M. A., & Quezada Aguilar, M. L. (2017). *Determinación de la degradación ambiental en el ecosistema de manglar pacífico a través de sensores remotos y el uso de vehículos aéreos no tripulados (Inf-2017-11)*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Consejo Nacional de Cambio Climático. (2018). *Plan de acción nacional de cambio climático*, segunda edición. Guatemala.
- Consejo Nacional de Áreas Protegidas & Instituto Nacional de Turismo de Guatemala. (2013). *Perfil del visitante del Área de Usos Múltiples Monterrico 2008-2013*.
- Dávila-Pérez, V., García, M., Velásquez-Jofre, P. (2019). Aporte al conocimiento de la conectividad del manglar de Las Lisas-La Barrona, Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud* 6(2), 107-119. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v6i2.667>
- Dirección de Normatividad de la Pesca y Acuicultura, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, & The Nature Conservancy. (2018). *Planificación Espacial Marina del Pacífico de Guatemala*. Proyecto Conservación y Uso Sostenible de la Biodiversidad en Áreas Protegidas Marino-Costeras, (Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales-Consejo Nacional de Áreas Protegidas/Programa de las Naciones Unidas-Fondo para el Medio Ambiente Mundial).
- García Chacón, P. J., Taracena, J. J., Marroquín, E. de L., & Aceituno Pozuelos, E. (2000). *Bases ecológicas de las funcionalidades del ecosistema manglar del pacífico de Guatemala (Inf-2000-08)*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Centro de Estudios del Mar Acuicultura. <https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puirna/INF-2000-008.pdf>
- Gaxiola, J. M. D. (2011). Una revisión sobre los manglares: Características, problemáticas y su marco jurídico. Importancia de los manglares, el daño de los efectos antropogénicos y su marco jurídico: caso sistema lagunar de Topolobampo. *Ra Ximhai*, 7(3), 355-369.
- Gobierno de la República de Guatemala. (2018a). *Estrategia Nacional de desarrollo con bajas emisión de gases de efecto invernadero*. USAID Desarrollo con Bajas Emisiones.
- Hernández, B., Cherrington, E. A., Bosarreyes, A., Gálvez, J. G., Oyuela, M., & Sempris, E. (2012). *Clasificación de cobertura actual del mangle de las costas del Pacífico y Atlántico de Guatemala, a través de técnicas de percepción remota*. Centro del Agua del Trópico Húmedo para América Latina y el Caribe CATHALAC.
- Iza, A. (Ed.). (2019). *Gobernanza para la adaptación basada en ecosistemas* (UICN Serie de Política y derecho ambiental, No. 89). Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y de los Recursos Naturales. <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/EPLP-089-Es.pdf>
- Diario de Centroamérica. (2015). *Ley de Fomento al Establecimiento, Recuperación, Restauración, Manejo, Producción y Protección de Bosques en Guatemala -PROBOSQUE*. https://www.inab.gob.gt/images/centro_descargas/legislacion/Ley%20Probosque.pdf
- Instituto Nacional de Bosques & Consejo Nacional de Áreas Protegidas. (2015). *Mapa forestal por tipo y subtipo de bosque, 2012*. Guatemala.
- Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales. (s.f.). *Estrategia nacional para la reducción de la deforestación y degradación de bosques (ENDDBG)*.
- Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales. (2009a). *Política Nacional de Cambio Climático*.
- Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales. (2009b). *Política para el Manejo Integral de las Zonas Marino-Costeras de Guatemala. Acuerdo gubernativo 328-2009*.

- Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales. (2021). *Contribución Nacionalmente Determinada, Guatemala*.
- Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales & Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2018) *Diagnóstico y análisis de la vulnerabilidad ante el cambio climático en la zona marino-costera del litoral pacífico de Guatemala. Tomo 1*. Proyecto Conservación y Uso Sostenible de la Biodiversidad en Áreas Protegidas Marino-Costeras.
- Moreno Flores, O. (2015). Paisajes en emergencia: Transformación, adaptación, resiliencia. *Revista Invi*, 83(30), 9-17. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-83582015000100001>
- Ortiz Pérez, M. A., & Méndez Linares, A. P. (1999). Escenarios de vulnerabilidad por ascenso del nivel del mar en la costa mexicana del Golfo de México y el Mar Caribe. *Investigaciones Geográficas*, (39), 68-81.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2018). *Estudio Técnico para el Área de Uso Múltiple Marino-Costera Hawaii*. Proyecto Conservación y Uso Sostenible de la Biodiversidad en Áreas Protegidas Marino-Costeras.
- Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Rodríguez, C., & Ramírez, L. (2018). Dinámica de la cobertura de manglar y del carbono asociado en Sipacate-Naranjo, Guatemala. *Revista Mesoamericana de Biodiversidad Cambio Climático*, 2, 17-26.
- Ruiz-Ordoñez, J. A & Sigüenza de Micheo, R. R. (1999). *Plan Maestro de la Reserva Natural de Usos Múltiples Monterrico*. Centro de Estudios Conservacionistas, Consejo Nacional de Áreas Protegidas. Proyecto "Aprovechamiento sostenible de los recursos asociados a los manglares del pacífico de Guatemala".
- Scheel, S. (2017). *Impactos del cambio climático en la Reserva de Usos Múltiples de Monterrico* [Tesis de licenciatura, Universidad Rafael Landívar]. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2017/06/15/Scheel-Sara.pdf>
- The Nature Conservancy & Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales. (2009). *Importancia económica de los recursos marino-costeros y su relevancia en el desarrollo de una política nacional para Guatemala*.
- Yáñez-Arancibia, A. (2010). *Impactos del Cambio Climático sobre la Zona Costera*. Instituto Nacional de Ecología.
- Yáñez-Arancibia, A., Equihua, M., Day, J. W., Arroyo, A. M., Carranza-Edwards, A., Welsh-Rodríguez, C., & Alonso, S. M. (2013). Cambio Climático: Dimensión Ecológica y Socio Económica. *Change*, 577, 55-70.
- Yáñez-Arancibia, A., Day, J. W., Twilley, R. R., & Day, R. H. (2014). Manglares: Ecosistemas centinela frente al cambio climático, Golfo de México. *Madera y Bosques*, 20, 39-75.
- Yáñez-Arancibia, A., Lara-Domínguez, A., & Day, J. W. (1993). Interactions between mangrove and seagrass habitat mediated by estuarine nekton assemblages: Coupling primary and secondary production. *Hidrobiología* 264(1), 1-12.
- Yáñez-Arancibia, A., Twilley, R. R., & Lara-Domínguez, A. L. (1998). Los ecosistemas de manglar frente al cambio climático global. *Madera y Bosques* 4(2), 3-19.
- Windevoxhel, N. (1994). Valoración económica de los manglares: Demostrando la rentabilidad de su aprovechamiento sostenible. Casos Héroes y Mártires de Veracruz, Nicaragua. *Revista Forestal Centroamericana*, (9), 18-26.
- Windevoxhel, N., Sigüenza, R., & Villagrán, J. (2009). *Situación actual de los manglares de Guatemala*.
- Zacarías-Coxic, C. J., Sánchez, M., & Cifuentes, J. (2019). *Especies arbóreas en el ecosistema de manglar de Guatemala*. Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo/ Fondo para el Medio Ambiente Mundial/ Wildlife Society Conservation.

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) 7a. 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 50 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

7.

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 modelación, 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

8. 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. Conclusiones
- g. Referencias (Normas APA)

9. 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

Comparación de series mensuales de precipitación y temperaturas de los Modelos CMIP6 para Guatemala
Paris Rivera, Eduardo Herrera, Werner Ochoa

Comportamiento meteorológico durante la sequía de medio verano en Guatemala
Wener Ochoa-Orozco, Paris Rivera, Eduardo Herrera

Identificación molecular y diversidad genética de las especies de nematodos Globodera rostochiensis y G. pallida en regiones productoras de papa de Guatemala

Jose A. Ruiz-Chutan, Julio E. Berdúo-Sandoval, Sergio Melgar, Marie Kalousová, Bohdan Lojka, Eloy Fernández, Jana Žiarovská, Amilcar Sanchez

Evaluación de la resistencia a los antibióticos de cepas de Escherichia coli aisladas en carne de cerdo comercializada en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala

Flor D. Porras, Kevin Flores, Jacqueline Escobar Muñoz

Producción de plásticos biodegradables a partir de bacterias de hábitats salinos aisladas de la Laguna de Ayarza

Ricardo Figueroa; Osberth Morales, Gustavo Álvarez, María C. Bran

Artículo de Revisión

Cristallogénesis biológica y cristalografía en la elucidación de la estructura tridimensional de las proteínas. Revisión narrativa

Omar E. Vélasquez-González,
Luis Amézquita-Morataya

Neutralization of toxic activities of Bothrops asper snake venom by ethnomedicinal plants used in Central America, with emphasis in Guatemala: a review

Patricia Saravia-Otten, Jose M. Gutierrez,
Yann-Oliver Hay, Armando Caceres

Ensayos Científicos

Los manglares como ecosistemas prioritarios para aumentar la resiliencia ante el cambio climático: Retos y oportunidades en el Pacífico de Guatemala.
Maria A. Schoenbeck

Los artículos científicos son indexados en:

latindex ROAD

DOAJ DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS



BASE

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