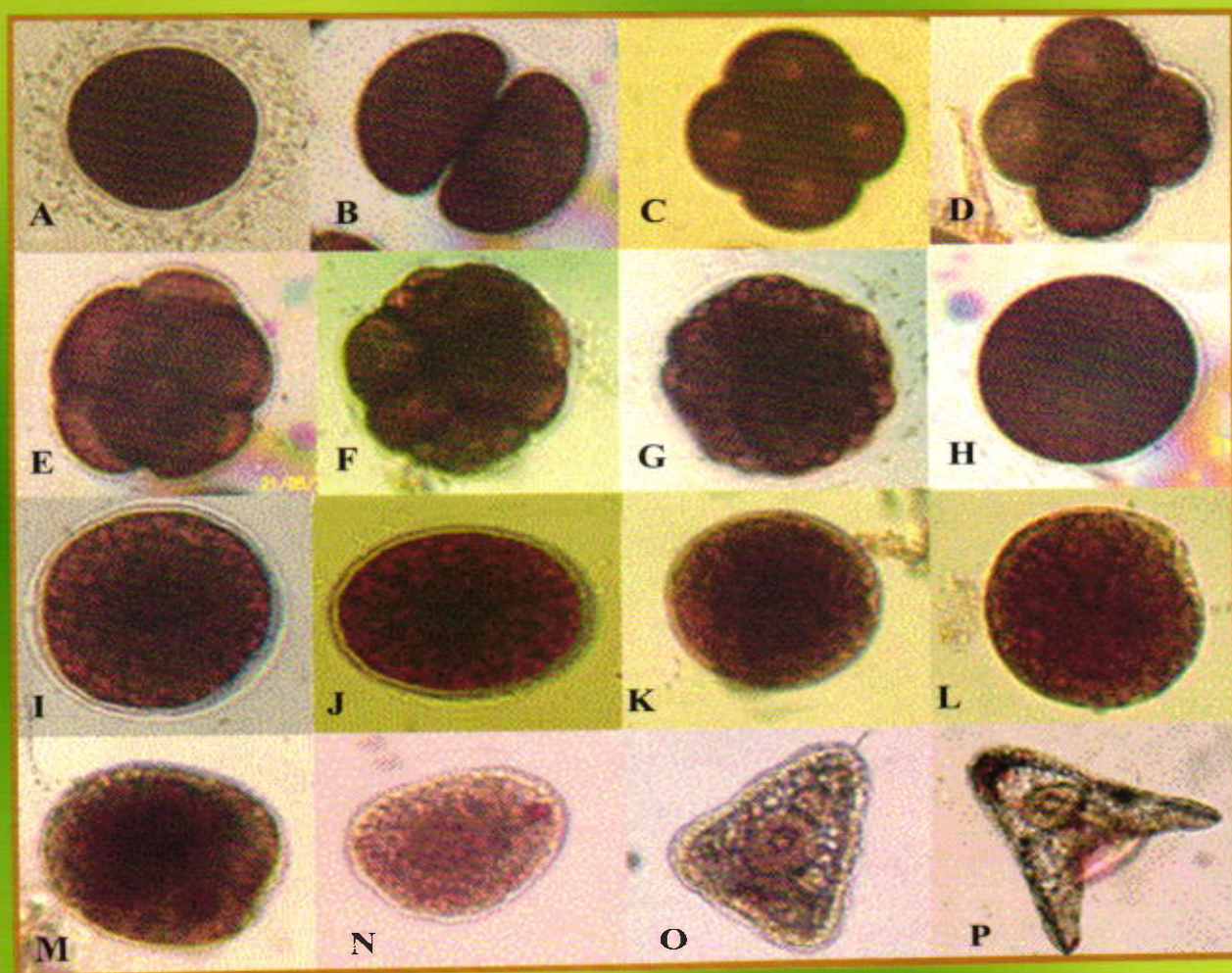




FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

BIOTEMPO

REVISTA DE INVESTIGACIÓN





UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
Facultad de Ciencias Biológicas

RECTOR

Dr. Iván Rodríguez Chávez

VICE RECTORADO ACADÉMICO

Arq. Roberto Chang Chao

VICE RECTORADO ADMINISTRATIVO

Dr. Ronald Figueroa Ávila

DECANO

Dr. Hugo Gonzáles Figueroa

CONSEJO DE FACULTAD

Dr. Hugo Gonzáles Figueroa

Dra. Reina Zuñiga de Acleto

Quím. Pilar Caso Caballero

Dr. Fred García Alayo

Lic. Pedro Huamán Mayta

Quím. Víctor Diestra Lara

TERCIO ESTUDIANTIL

Rocío Dávalos Torres

Sheila Figueroa Ramírez

Brakson Zamudio Méndez

SECRETARIA ACADÉMICA

Dra. Lidia Cruz Neyra

BIOTEMPO

Vol. 6, 2006

**COMISIÓN CIENTÍFICA DE
PUBLICACIONES**

Editor: Dra. Lidia Cruz Neyra

Dirección: Av. Benavides 5440

Lima 33 - Perú

Apartado Postal 18-0131

Telefax: 275-3624

El contenido de los trabajos publicados en esta revista es de exclusiva responsabilidad de los autores.

Biotempo, Volumen 6, 2006

Revista Biotempo de la Facultad de Ciencias
Biológicas – Universidad Ricardo Palma
Lima – Perú

© Copyright 2006

ISSN 1992-2159
Versión Impresa

Carátula: Ilustración de las etapas del desarrollo temprano de *Tetrapygus niger*,
presentando en el artículo Desarrollo Embrionario de *Tetrapygus niger*
(Molina 1782) «Erizo negro» en diferentes temperaturas.

CONTENIDO

»	INDUCCIÓN DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN «PAPAYO» (<i>Carica papaya Linnaeus</i>) Antonietta Gutiérrez-Rosati, Consuelo Jiménez y Jean Yépez Maravi.	5
»	MECANISMOS ENDÓGENOS IMPLICADOS EN LA EMBRIOGÉNESIS CIGÓTICA Y EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA: GENERALIDADES Y ÚLTIMOS DESCUBRIMIENTOS Antonietta Gutiérrez Rosati, Sandy Espinoza, Danilo, Arias y Víctor Caro	9
»	INFLUENCIA DEL ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA MADURACIÓN <i>in vitro</i> DE OVOCITOS DE PORCINO Hugo Mauricio Gonzáles	22
»	DESARROLLO EMBRIONARIO DE <i>Tetrapygus niger</i> (Molina, 1782) «Erizo Negro» EN DIFERENTES TEMPERATURAS Pamela Olaechea, Juan José Panéz y Hugo Gonzáles-Figueroa.	27
»	CARACTERIZACIÓN LEUCOCITARIA DEL PEZ AMAZÓNICO <i>Pterophyllum scalare</i> (Lichtenstein, 1823) (PERCIFORMES: CICHLIDAE) DE PERÚ José Iannaccone, Cinthya Bello, Nancy Hernández y María Díaz	32
»	MANEJO COMUNAL DE FAUNA SILVESTRE EN EL PARQUE NACIONAL CORDILLERA AZUL, SAN MARTÍN - PERÚ Jorge Watanabe Sato	38
»	BIOLOGÍA DE <i>Brachmia convolvuli</i> Walsingham (Lepidoptera: Gelechiidae) Menandro S. Ortiz, Mario E. Aguana, Verónica E. Rubí de Celis.	46
»	ALIMENTOS TRANSGÉNICOS Lidia Cruz Neyra	51
»	OBTENCIÓN DE RATONES ALBINOS EN UN CAMPO MAGNÉTICO PULSANTE DE 5 mT, 60 HZ Y DESARROLLO DE SU MASA CORPORAL Ivan Ramirez Jiménez, Oscar Barces, Sabina Gutiérrez y Rocío Coca M.	56
»	ESTADO ACTUAL DEL PATRIMONIO PALEONTOLÓGICO DEL PERÚ Vera Alleman	62
»	SEMBLANZA DEL Dr. SANTIAGO ERIK ANTÚNEZ DE MAYOLO Antonio Brack Egg	68

INDUCCIÓN DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN «PAPAYO» (CARICA PAPAYA LINNAEUS)

Antonietta Gutiérrez-Rosati¹
Consuelo Jiménez
Jean Yépez Maraví

RESUMEN

El objetivo principal del presente estudio es desarrollar un sistema de regeneración eficiente de plantas de papayo del cultivar PT-101-B, a través de embriogénesis somática.

Se utilizaron embriones de semillas de frutos de papayo. Los embriones cigóticos fueron sembrados en medio basal Murashige-Skoog a mitad de concentración, suplementado con sucrosa al 3% y gelrite al 0,3%. Se ensayaron concentraciones de 2, 5, 10 y 15 mg.l⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético. El pH del medio fue ajustado a 5,8. Las placas permanecieron en oscuridad. Los callos embriogénicos fueron trasladados a medio basal Murashige-Skoog suplementado con 0,15 y 0,2 mg.l⁻¹ de 6-benzilaminopurina más 0; 0,15 y 0,2 mg.l⁻¹ de Kinetina. El material experimental fue expuesto a una intensidad lumínica de 2500 a 3000 lux y un fotoperíodo de 12 horas luz.

Se comprobó que el medio de cultivo con 10 mg.l⁻¹ de 2,4-diclorofenoxiacético presenta la concentración apropiada para inducir la formación de callos embriogénicos, llegando a presentar un 90% de formación de callos embriogénicos. El medio de cultivo con 0,15 mg.l⁻¹ de 6-benzilaminopurina fue suficiente para promover la germinación, el desarrollo y enraizamiento de los embriones somáticos.

Palabras claves: *Ácido 2,4-diclorofenoxiacético, 6-benzilaminopurina, callo embriogénico, cultivo de tejido, fitohormona.*

SUMMARY

The primary target of this work is to develop a system of efficient regeneration of papaya plants of cultivar PT-101-B, through somatic embryogenesis. Embryos of seeds of papaya fruits were used. The zygotic embryos were placed on half concentration basal Murashige-Skoog media, supplemented with 3% sucrosa and 0.3% gelrite and concentrations of 2, 5, 10 and 15 mg.l⁻¹ of 2,4-diclorofenoxiacetic acid. The plates with the embryos were placed in the dark.

After the embryogenic callus were growth they were transferred to a basal Murashige-Skoog media supplemented with 0.15 and 0.2 mg.l⁻¹ of 6-benzilaminopurina and 0; 0,15 and 0.2 mg.l⁻¹ of Kinetina.

During all experiments the explants were growth at 2500 to 3000 lux and photoperiod of 12 hours light. It was verified that the culture media with 10 mg.l⁻¹ of 2,4-diclorofenoxiacetic acid was the appropriate media to induce the formation of embryogenic callus, obtaining 90% of embryogenic callus formation. The culture media with 0.15 mg.l⁻¹ of 6-benzilaminopurina were sufficient to promote the germination, development and rooting of the somatic embryos.

Key words: *2,4-diclorofenoxiacetic Acid, Embryogenic callus, tissue culture, phytohormone.*

Abreviaciones:

BA : 6-benzilaminopurina, 2,4-D: ácido 2,4-diclorofenoxiacético, IBA: ácido indolbutírico, MS: Medio Murashige-Skoog (BA : 6-benzilaminopurina, 2,4-D: 2,4-diclorofenoxiacético ácido, IBA: indolbutírico ácido, MS: Murashige-Skoog Media)

¹ Universidad Nacional Agraria La Molina. P.O.Box 456 La Molina, Lima 12- Perú.
E-mail: antonietta@lamolina.edu.pe

INTRODUCCIÓN

El papayo, es un frutal semipereño que empieza la producción de frutos al año de su siembra y mantiene la producción anualmente por ocho o diez años consecutivos, es debido a esta característica que lo convierte en un frutal de aceptación por los agricultores ya que permite un rápido retorno del capital. Pese a ser un cultivo adaptado y óptimo para el desarrollo de la agroindustria, en el Perú, su expansión se ve limitada por la falta de semilla mejorada que brinde alta producción y productividad. Adicionalmente otros factores como deficiencias en la fertilización del cultivo, falta de una adecuada política de comercialización y presencia de plagas y enfermedades, tales como el virus del mosaico del papayo (PMV) y el virus de la mancha anillada del papayo (PRV), se convierten en factores detrimentales de su óptima producción y productividad. El PRV ataca a las plantas de papayo que se encuentran en edad de producción no llegando éstas al segundo año de vida. Muchos de los países afectados por este virus, han emprendido campañas para la identificación de genotipos resistentes a este virus sin resultados positivos, por ello se han visto en la necesidad de incorporar a sus programas de mejoramiento la tecnología de transformación genética, habiendo logrado desarrollar plantas transgénicas de papayo resistentes al virus PRV. El éxito de esta tecnología consiste en tener a disposición una eficiente metodología de regeneración que asegure un buen número de plantas transformadas.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

El presente estudio fue desarrollado utilizando semillas inmaduras de papayo de la variedad PT-101-B, variedad obtenida por el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), en su Centro de Investigación localizado en Tingo María, quienes proporcionaron el material vegetal.

INTRODUCCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL A CONDICIONES *IN VITRO*

Se abrieron los frutos y se extrajeron las semillas inmaduras, las cuales fueron esterilizadas con una solución de hipoclorito

de sodio, se extrajeron el integumento interno y el endospermo, para luego proceder a la extracción y siembra de los embriones inmaduros.

Inducción y desarrollo embriogénico.

Los embriones inmaduros extraídos, fueron sembrados en un medio de inducción embriogénica, el cual estuvo compuesto por: Medio MS básico a media concentración suplementado con 0, 4 mg. l⁻¹ de tiamina-HCl, 0,5 mg. l⁻¹ de piridoxina-HCl, 0,5 mg. l⁻¹ ácido nicotínico, 2,0 mg. l⁻¹ glicina, 0,4 mg. l⁻¹ glutamina, 3% sucrosa y 0,3% de gelrite como agente gelificante. Se ajustó el pH del medio a 5,8 previo al autoclavado. Luego de esterilizado el medio y cuando este alcanza una temperatura aproximada de 60°C se adicionó al medio de cultivo ácido 2,4-diclorofenoxiacético esterilizado por filtración. Se analizaron cuatro diferentes concentraciones de 2,4 -D (0, 2, 5, 10, 15 ppm), constituyéndose en los tratamientos para la inducción embriogénica. Los embriones así sembrados, se cultivaron en condiciones de oscuridad a 25°C, haciendo cambios mensuales del medio. Los callos en formación se observaron diariamente, y los datos de evaluación se registraron mensualmente a partir de la fecha de siembra.

Crecimiento (germinación) de los embriones somáticos

Los embriones formados, se transfirieron a nuevos medios que permitiesen su crecimiento, para ello se analizaron diferentes medios, estando estos constituidos por: Medio MS básico suplementado con 0, 4 mg. l⁻¹ de tiamina-HCl, 0,5 mg. l⁻¹ de piridoxina-HCl, 0,5 mg. l⁻¹ ácido nicotínico, 2,0 mg. l⁻¹ glicina, 0,4 mg. l⁻¹ glutamina, BAP (0,15 mg. l⁻¹ y 0,2 mg. l⁻¹), kinetina (0,05 mg. l⁻¹ y 0,1 mg. l⁻¹), se ajustó el pH del medio a 5,8 previo al autoclavado. El material sembrado fue cultivado en cuarto aclimatado a una temperatura de 25°C, 12 horas de luz como fotoperíodo, siendo mantenidos en este medio hasta observarse la presencia de embriones en el material sembrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Introducción del material vegetal a condiciones *in vitro*

De los diferentes tratamientos con concentraciones y tiempos de exposición a la solución esterilizadora de hipoclorito de

sodio, se encontró que el tratamiento de 25 minutos con una solución al 1 % resulta eficiente.

(El protocolo de desinfección de semillas de papayo de Litz y Conover es eficiente. Los embriones cigóticos de la variedad estudiada responden muy bien a esta técnica.)

Se observó que luego de ser extraídos los embriones de las coberturas seminales, deben ser estos sembrados de inmediato a fin de evitar su deshidratación y contaminación.

Inducción y desarrollo embriogénico.

De los tratamientos estudiados en la fase inductiva, se encontró que el medio control (sin presencia de auxinas) favoreció la germinación de los embriones inmaduros sembrados y en el lapso de una semana se convirtieron éstos en plántulas.

Conforme el explante permanece en el medio inductor, se va formando el callo embriogénico, el cual empieza a proliferar a partir de los meristemos apical y radicular del embrión. Los callos embriogénicos se observan como células isodiamétricas de coloración amarilla y de consistencia frágil (Fotografía 1) que exudan un líquido claro y denso.



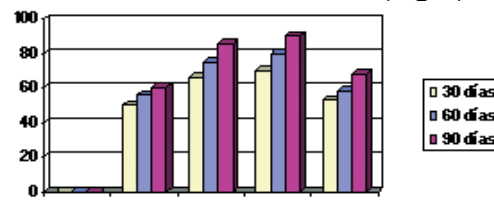
Foto 1 : Callo embriogénico

La cantidad de callo embriogénico se incrementa en el explante conforme este es transferido a medios frescos con la presencia de auxina, de esta forma se inducen a sucesivas fases embriogénicas (embriogenesis secundaria), así se pudo observar que al cabo de tres meses algunos de los tratamientos alcanzaron hasta un 80 u 85% de callos embriogénicos. Igualmente se observó que los callos embriogénicos inducidos durante la primera etapa de exposición a la auxina logran desarrollar hasta embriones maduros en la etapa en la cual la auxina desciende en su

concentración en el medio debido a consumo o pérdida de efectividad de la misma por el tiempo que esta se encuentra en el medio. De los tratamientos utilizados, se observó que el tratamiento con (10 ppm) de 2,4-D mostraba el nivel más alto de formación de callos embriogénicos así como embriones somáticos, por lo que se seleccionó a este tratamiento como el más eficiente a ser utilizado en futuros experimentos.

Porcentaje de formación de callo embriogénico

Concentración de 2,4-D (mg/L)



Crecimiento (germinación) de embriones somáticos y análisis del proceso embriogénico.

De los tratamientos realizados a fin de observar el efecto de la Kinetina y el BAP en el crecimiento de los embriones somáticos encontramos que estos no prosperan cuando son seccionados individualmente para ser sembrados en los medios de crecimiento, pero si respondían a estos cuando eran trasladados conjuntamente con la masa de callo. Se pudo observar igualmente que la desecación del embrión antes de ser éste sembrado en el medio favorecía su crecimiento, mientras que aquellos no desecados se vitrificaban con facilidad. Otro aspecto observado en el estudio es la ocurrencia de abortos embrionarios en el estadio de torpedo, fusión de embrioides, formación de callos en la estructura embrionaria o embriones con cotiledones supernumerarios, hecho reportado también por Litz (Litz et al., 1982).

Los embriones somáticos fueron sembrados en los tratamientos, observándose el mayor porcentaje de germinación en el tratamiento que contiene 0.2 mg.l⁻¹ BAP (Foto 2). A medida que la concentración de BAP y kinetina aumentan, se incrementa la frecuencia de formación de plántulas con raíces callosas, y tallos con base callosas.



Foto 2: Embriones somáticos, explante tratado con 0.2 mg.l⁻¹ BAP

Efecto del IBA y la Riboflavina en el enraizamiento de brotes

Los embrioides germinados y brotes formados fueron trasladados a medios de inducción de raíces conteniendo: medio básico MS (1962), suplementado con ácido indolbutírico y riboflavina (vitamina B2), 3% de sucrosa (tabla 3), ajustando a un pH de 5,8; los explantes fueron cultivados durante un mes a condiciones controladas de fotoperíodo y temperatura para inducir la formación de raíces. La riboflavina descompone el IBA en presencia de luz, evitando que la prolongada exposición al regulador induzca la formación de callos en la base de los tallos (Drew et al., 1993).

Los resultados del experimento de enraizamiento usando IBA y riboflavina mostraron que en realidad no existe una diferencia significativa entre ambos tratamientos. Las raíces formadas generalmente fueron de apariencia gruesas (Foto 3).



**Foto 3:
Desarrollo
de plántulas**

LITERATURA CITADA

- CABRERA-PONCE JL, VEGAS-GARCÍA A y HERRERA-ESTRELLA L 1995. Herbicide resistant transgenic papaya plants produced by an efficient particle bombardment transformation method. *Plant Cell Reports*. 15: 1-7.
- DANDEKAR, A.M. 1992. Biotechnology of Perennial Fruit Crops. *C.A.B. International* pp. 141-168.
- DREW R A, MCCOMB J A & CONSIDINE J A 1993. Rhizogenesis and root growth of *Carica papaya* L. *in vitro* in relation to auxin sensitive phases and use of riboflavin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 33: 1-7.
- FITCH, M.M. 1993. High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration from papaya hypocotyl callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 32: 205-212.
- FRANCIOSI, R. 1992. *El Cultivo del papayo en el Perú*. Manual. Fundación para el Desarrollo del Agro (Fundeagro). Lima, Perú.
- JIMENEZ, C. 1999. Inducción de Embriogénesis Somática en Papaya (*Carica papaya* L.) cv. PT-101-B. Tesis de la Universidad Nacional Agraria La Molina Lima-Perú.
- LITZ R E y CONOVER R A 1982. High frequency somatic embryogenesis from *Carica* cell suspension cultures. *Annals of Botany*. London. 51: 683-686
- LITZ, R.E. 1986 . Papaya.: Handbook of Plant Cell Culture. Evans, D. E. , W.R. Sharp, P. V. Ammirato. 3: 349-368. Macmillan Publishing Company, New York.
- MERKLE S A, PARROTT W A y FLINN B S 1995. Morphogenic Aspects of Somatic Embryogenesis. In *In vitro Embryogenesis in Plants* 155-203 pp. Thorpe Trevor A. (ed). Netherlands.
- MONMARSON, S., MICHAUX-FERRIERE, N. y TEISSON, C. 1995. Production of high- frequency embryogenic calli from integuments of immature seeds of *Carica papaya*, L. *Journal of Horticultural Science* 70 (1) 57-64.
- MURASHIGE T y SKOOG F 1962. A revised medium for growth and Bioassay with Tobacco Tissue Culture. *Physiology Plant*. 15: 431-497.
- OLIVEIRA, M. 1996. Transformation studies in woody fruit species. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. June 1996. 2 (2)
- PANG, S.Z. y SANFORD, J.C. 1988. *Agrobacterium*-mediated Gene Transfer in Papaya. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113(2):287-291.
- PICKARDT, T.; MEIXNER, M.; SCHADE, V. y SCHIEDER, O. 1991 Transformation of *Vicia narborensis* via *Agrobacterium*-mediated gene transfer. *Plant Cell Reports*. 9: 535-538.
- SUKSA-ARD, P.; KATAOKA, I.; y FUJIME, Y. 1997. Effect of temperature, growth retardants and osmotic potential on growth papaya shoots conserved *in vitro*. *Japanese Journal of Tropical Agriculture*. 41(1): 7-13.

MECANISMOS ENDÓGENOS IMPLICADOS EN LA EMBRIOGÉNESIS CIGÓTICA Y EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA: GENERALIDADES Y ULTIMOS DESCUBRIMIENTOS

Antonietta Gutiérrez Rosati¹
Sandy Espinoza
Danilo Arias
Víctor Caro

RESUMEN

Haberlandt en 1902 propuso la teoría que todas las células de las plantas pueden llegar a formar otras plantas, es decir, la totipotencia, pero en ese tiempo no pudo ser demostrado. White en 1939 informó sobre la inducción de brotes adventicios *in vitro* de callos en *Nicotiana glauca* con *N. langsdorfii* y Nobercourt obtuvo raíces adventicias de brotes en callo de la zanahoria, estos experimentos endosaron la teoría de la totipotencia celular.

Más adelante y en forma simultánea, demostraron Reinert y Steward en 1958 sobre la producción de embriones somáticos, más adelante demostró que estos embriones fueron originados de las células aisladas, demostrando la totipotencia de las células de la planta. La regeneración de plantas directamente de explantes o de callos, por medio de la embriogénesis somática se ha utilizado como alternativa en los métodos de la propagación; sin embargo, ese uso se ha limitado debido a estabilidad genética limitada en las culturas de callos. Tiene, no obstante la necesidad regenerar las plantas de selecciones de las células, como también la necesidad para establecer métodos genéticos celulares aplicables en la mejora de las plantas y la recuperación de las variantes somaclonales; por lo tanto un interés considerable en definir las rutas de la regeneración para varias plantas de la importancia económica aún existe

Palabras Claves: *embriogénesis somática, embriogénesis cigotica, regeneración, variante somaclonal, totipotencia celular.*

SUMMARY

In 1902 Haberlandt proposed the theory that all cells of the plants are able to form complete plants that is to say, that have the totipotency, but in that time it was not demonstrated.

White in 1939 I inform about the induction of in Vitro adventitious buds from calluses in *Nicotiana glauca* with *N. langsdorfii* and Nobercourt obtained adventitious buds roots in carrot callus, these experiments endorsed the theory of cellular totipotency.

Later and in simultaneous form, Reinert and Steward in 1958 informed about the production of somatic embryos, later was demonstrated that these embryos were originated from isolated cells, demonstrating the totipotency of plant cells. The regeneration of plants directly from explantes or from calluses, by means of the somatic embryogenesis has been used as an alternative in the propagation methods; nevertheless, that application has been limited because of limited genetic stability in the cultures of calluses. It has, however the necessity to regenerate plants from cells selections, as also the necessity to establish applicable cellular genetic methods in the improvement of the plants and the recovery of somaclonales variants; consequently a considerable interest in defining the routes of regeneration for several plants of economic importance exists

¹ Universidad Nacional Agraria La Molina, P.O.Box 456 La Molina, Lima 12- Perú.
E-mail: antonietta@lamolina.edu.pe

Key Words: *somatic embryogenesis, cigotic embryogenesis, regeneration, somaclonal variation, celular totipotency.*

INTRODUCCIÓN

En 1902 Haberlandt propuso la teoría que todas las células de las plantas son capaces de formar plantas completas es decir que tienen la totipotencialidad, pero en ese tiempo no fue demostrado.

White en 1939 informo acerca de la inducción de yemas adventicias in Vitro a partir de callos de *Nicotiana glauca* con *N. langsdorfii* y Nobercourt obtuvo raíces adventicias de un callo de zanahoria estos experimentos respaldaron la teoría de totipotencia celular.

Posteriormente y en forma simultánea, Reinert y Steward en 1958 informaron acerca de la producción de embriones somáticos, mas tarde se demostró que estos embriones eran originados a partir de células aisladas, demostrándose la totipotencia de las células vegetales.

La regeneración de plantas directamente de explantes o a partir de callos, por medio de la embriogénesis somática se ha utilizado como una alternativa en los métodos de propagación; sin embargo, esa aplicación ha sido limitada a causa de la poca estabilidad genética en los cultivos de callos. Hay, en cambio la necesidad de regenerar plantas a partir de células selectas, como también la necesidad de establecer métodos genéticos celulares aplicables en el mejoramiento de las plantas y en la recuperación de variantes somaclonales; en consecuencia existe un considerable interés en definir las vías de regeneración para varias plantas de importancia económica.

ASPECTOS TEÓRICOS GENERALES:

La embriogénesis somática (asexual o adventicia) consiste en el desarrollo de embriones a partir de células que no son el producto de una fusión gamética, en este proceso se produce una estructura bipolar con eje radical-apical a partir de una célula somática.

Este proceso se produce con mucha asiduidad en la naturaleza, produciéndose de forma espontánea en más de 60 familias, algunas tan importantes como las: crucíferas, gramíneas, rosáceas, legumi-

nosas y palmáceas etc. Es catalogado como un mecanismo apomítico.

La efectividad de los tratamientos para la obtención de la embriogénesis somática depende de si el tejido del explante esta formado de CsDPE (células somáticas determinadas proembriogénicas) o CsNE (células somáticas no embriogénicas) términos planteados por Evans et al (1981) Sharp et al (1983).

En ciertos aspectos los embriones somáticos mantienen similitud con los embriones zygóticos; sin embargo, tanto *in vivo* como *in vitro*, puede ocurrir ciertas anomalías en el desarrollo como por ejemplo fusión de cotilédones.

En estudios de embriogénesis somática se sigue utilizando la zanahoria como un sistema modelo no solo para estudios de desarrollo, sino también para determinar eventos bioquímicos que controlan la morfogénesis.

Tipos De Embriogénesis Somática

Existe principalmente dos tipos de embriogénesis somática: directa e indirecta. **Embriogénesis directa:** un estímulo de la división celular puede ser suficiente para la formación de un embrión somático a partir del tejido del explante (Merkle et al 1995).

Los explantes con este tipo de embriogénesis experimentan un mínimo de proliferación antes de formar los embriones somáticos, formándose en explantes en que todas o algunas de las células están predeterminadas como células embriogénicas, por haber retenido algunas de las propiedades de las células meristemáticas parentales de las que derivaron (embriones, semillas).

Embriogénesis indirecta: en este caso las células no embriogénicas tienen que llevar a cabo varias divisiones mitóticas ante la presencia de una auxina durante la inducción, pasando al estado de las células embriogénicas y formándose callos.

En este proceso la fase de formación de callos se interpone entre el explante original y la aparición de embriones somáticos (Merkle et al 1995) según Halperin (1995) este tipo de embriogénesis es característica

de órganos maduros en que las células tienen que pasar por varios ciclos celulares para lograr la embriogénesis a determinadas condiciones.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA

Explante: muchos factores influyen en la conducta del explante estos incluyen el órgano que está sirviendo como fuente de tejido, la edad fisiológica y ontogénica del órgano, la estación en que el explante es obtenido, el tamaño del explante y las cualidades globales de la planta a la cual se ha obtenido el explante.

Se pueden usar diferentes tipos de explantes para inducir la formación de embriones en especies forestales, entre ellos embriones zygóticos en *Taxus bravifolia* y en *Araucaria angustifolia*. En algarrobo se usó la radícula como explante, en nuez se usó cotiledones, hipocotilos y raíces, mientras que en roble se usó embriones inmaduros y óvulo.

Uno de los problemas de la inducción de la embriogénesis somática es la alta tasa de fenolización de explantes, la cual es una reacción natural de la planta al efecto de la herida debido a los polifenoles y taninos.

Medio de cultivo: se usa generalmente el medio desarrollado por Murashige et al (1982) debido a su alta concentración de sales, otros medios utilizados también son el medio basal MS- en rosa y WP- en roble. Se ha demostrado que la exposición a altas concentraciones de sacarosa y manitol aumenta el potencial embriogénico en callo de zanahoria.

El nitrógeno en forma de nitrato y Ion amonio en concentraciones de 5-12.5 μM es esencial así como el nitrógeno orgánico que provisto de glutamina y alanina es también beneficioso y puede reemplazar al nitrógeno inorgánico en el medio.

El abastecimiento de nitrógeno es importante en la embriogénesis somática debido a la continua síntesis de proteína, ácidos nucleicos y sustancias de reserva.

El carbón activado inhibe el efecto de los fenoles. La adición de esta sustancia en cultivos embriogénicos promueve el desarrollo cuando este ha sido inhibido, ya que al parecer este adsorbe los compuestos fenólicos.

Las auxinas y citoquininas inhiben el desarrollo del embrión, pero permiten la germinación y la maduración de embriones. Las poliamidas como la espermita, la putrescina y la espermidina, esta relacionada con el control de la embriogénesis somática en zanahoria, inhibiendo el desarrollo de los embriones somáticos.

Reguladores de crecimiento: según Evans et al (1981) la mayoría de los sistemas embriogénicos requieren para la inducción de embriones concentraciones altas de auxina (generalmente 2,4-D) en el medio.

Nombra y Kumamine (1995) demostraron que a pesar que las auxinas son importantes para la formación de grupos celulares embriogénicos, su remoción permite el desarrollo de la embriogénesis somática, la cual se da a través de los estadios globular, corazón, torpedo y cotiledón. El desarrollo de un sistema embriogénico de alta frecuencia y sincrónico así como métodos alternativos para el aislamiento del embrión ha incrementado nuestro conocimiento de los eventos moleculares y fisiológicos que regula los diferentes estadios de la maduración del embrión.

El rango del uso del 2,4-D es de 0.5-27.6 μM y concentraciones más altas como 45 μM de 2,4-D en caso del que el carbón activado se incorpore al medio.

También es importante el uso del ANA e AIA así como también el uso del Picloran que es un inductor de la embriogénesis (0.1mg/l), Pliego Alfaro 1988.

Las citoquininas y ácido giberélico es incorporado al medio con el fin de ayudar a la maduración y a la germinación de los embriones somáticos como en el *Santalum album* y *Citrus sinensis*.

El ácido Abscísico se usa como un inhibidor el cual reprime la embriogénesis somática y reduce las frecuencias de anomalías del desarrollo como son la formación secundaria de embriones a partir de embriones somáticos.

Algunos otros aditivos del medio: Se ha encontrado que AgNO_3 a concentraciones de 10-20 μM incrementa hasta en dos veces el número de embriones somáticos en cultivos de suspensión de *Daucus carota* L. Estas concentraciones no afectan el

crecimiento o sobrevivencia de las células ni el pH del medio, solo genera un leve incremento de la producción de etileno. Sin embargo 1-10 ppm de ethephon, ácido 2-cloroetilfosfónico (fuente exógena de etileno) provoca un decaimiento en la formación de embriones somáticos con tasas inhibitorias de 15 y 50% respectivamente. Asimismo, la actividad de arginina descarboxilasa (ADC), una enzima clave de la ruta de poliaminas es estimulada por AgNO_3 en los primeros 4 días de embriogénesis somática y reducida por ethephon. Esto sugiere que AgNO_3 estimula la embriogénesis somática inhibiendo la acción del etileno aunque aún no es claro su papel en el control de la actividad de ADC.

La adición de 1-10mM de DFMO (difluorometilornitina) a un medio de cultivo permite el normal desarrollo de la embriogénesis somática aun a concentraciones inhibitorias de 2,4-D. DFMO también causa un incremento de la actividad de la arginina descarboxilasa (ADC) y de la acumulación de poliaminas e inhibe la acumulación de etileno en presencia o ausencia de 2,4-D. Difluorometilarginina (DFMA) a 0.1-1.0 mM inhibe completamente la embriogénesis aun en ausencia de 2,4-D; también inhibe la actividad ADC y causa reducción de los niveles de poliaminas. Por tanto, la biosíntesis de etileno inducida por auxina juega un rol importante en la embriogénesis ya que la promoción de la biosíntesis de poliaminas (por DFMO) puede causar una reducción de la biosíntesis de etileno por reducción de SAM (s-adenosilmetionina) lo que permite el desarrollo de la embriogénesis aun en presencia de auxina.

Condiciones del medio ambiente: los parámetros físicos influyen en el desarrollo y crecimiento del embrión.

Altas intensidad lumínica es esencial para la embriogénesis somática en *Nicotiana tabacum* in Vitro, en cambio en zanahoria fue necesaria la oscuridad para el desarrollo y la maduración normal de los embriones somáticos.

Entre otros factores que inducen la embriogénesis somática se encuentran la presión osmótica, iones metálicos pesados y deshidratación los cuales generaron embriones somáticos en cultivos celulares de *Arabidopsis thaliana* como lo

demuestran los trabajos hechos por Mijo Ikeda-Iwai et al., 2003. Además en estos trabajos también se a determinado que el tipo de planta de una misma especie influye en el desarrollo de embriones en *Arabidopsis*. También es importante la duración del tratamiento a estrés.

Control endógeno de la embriogénesis somática por mecanismos genéticos:

El desarrollo de la semilla consta principalmente de dos partes: los procesos morfológicos tempranos (desarrollo del embrión) y los eventos de maduración tardíos (deshidratación de la semilla, acumulación de reservas, etc)

En los procesos morfológicos tempranos y luego los tardíos se observa una diferenciación del embrión en diferentes tejidos: meristemo apical del tallo, Hipocotilo, Raíz, Meristemo apical de la raíz, cotiledones y plúmula. Todo este proceso de diferenciación que se realiza en el proceso morfológico temprano y el de maduración de la semilla han sido investigados principalmente en *Arabidopsis thaliana*.

ALGUNOS ESTUDIOS REALIZADOS EN LAS PROTEÍNAS PRESENTES EN LA EMBRIOGÉNESIS

Proteínas PR: las proteínas PR son proteínas de defensa contra el stress y ataque de algunos insectos.

Se han detectado también durante la formación de algunos órganos: en germinación, fluoración, senescencia en plantas sanas (Tahiri-ALout, et al., 1990). Una de ellas es la proteína P-19 cuyo rol no se ha especificado durante embriogénesis, pero que se encuentra preferentemente en estadios tempranos, estadio globular (Chenget al., 1996; Sassa, Hilano 1998; Capella et al., 1997). En el estudios de Takuma et al (2004) se detectaron dos otras proteínas de esta misma familia: una de 16 y otra de 18.5Kb. La de 16 se detecto durante toda la embriogénesis, pero la de 19 y 18.5Kb solo durante el estadio globular. Como las tres reaccionaron al mismo antisuero, concluyeron que su estructura es semejante. (Takuma et al., 2004)

Como P-19 es una glicoproteína, la secuencia de bases corresponde con una proteína de 16.5Kb, y no de 19.5Kb como se esperaba (Takuma et al., 2004).

Hay reportes anteriores que hablan de otras proteínas tipo PR que se expresan durante la embriogénesis: GEA 20 en plántulas y semillas, y GEA31 en estadios globulares hasta el de plántula. 43 proteínas tipo Thaumatina que tienen alta similitud con las PR han sido detectadas durante este período, siendo mas frecuentes en los estadios tempranos.

Estas proteínas parecen tener relación con la iniciación de la embriogénesis desde las células somáticas de zanahoria. De la misma manera GEA20 y 31 fueron encontrados por Lin et al. (1996) en los estadios tempranos.

Se ha asociado estas proteínas PR con eventos tempranos secuenciales en la formación de los Cluster de células somáticas hasta la diferenciación de plántulas (Yasuda et al., 2000)

ESTUDIOS EN GENES RELACIONADOS A LA EMBRIOGÉNESIS

En *A. thaliana* se ha encontrado que existen 4 genes principales que se encargan de su regulación: ABI3 (ABSICIC ACID INSENSITIF3), LEC1 (LEAFY COTYLEDONS1), LEC2 (LEAFY COTYLEDONS2), FUS3 (FUSCA 3) (Giraudat et al., 1992, Gusmaroli et al., 2001, Lotan et al., 1998, Meinke et al., 1994, Parcy et al., 1997, Stone et al., 2001, West et al., 1993). Estos 4 genes codifican para proteínas que son activadoras transcripcionales, y que son los principales reguladores de la embriogénesis.

LEC1, LEC2 y FUS3 son importantes para ambas fases del desarrollo de la semilla.

En la embriogénesis de los mutantes para estos tres genes observamos una intolerancia del embrión a la desecación, defectos en la síntesis y acumulación de los materiales de almacenamiento y tricomas en los cotiledones (estructuras exclusivas de hojas). Y los mutantes *lec1* presentan cotiledones semejantes a hojas (Meinke et al., 1994, Parcy et al., 1997, West et al., 1993, West et al., 1994).

La expresión de estos tres genes se da principalmente en la fase temprana de la embriogénesis. Si provocamos una expresión ectópica de LEC1 en células vegetativas se induce la formación de estructuras semejantes a las de un embrión en la superficie de la hoja. Y así mismo, la expresión de LEC2 induce la expresión de genes exclusivos del embrión como los que codifican para la cruciferita A, la proteína de almacenamiento 2S y la Oleosina (Lotan et al., 1998, Stone et al., 2001). Sin embargo no se conoce como estos genes actúan a nivel molecular en esta planta. Se sabe que las proteínas LEC1 y FUS3 presentan un dominio B3 que se encuentra en factores de transcripción de plantas, como es el caso de ABI3 y VP1 (Leurben et al., 1998, Stone et al., 2001) implicados en la maduración de la semilla y que expresan tardíamente.

Los genes LEC son reguladores centrales de la embriogénesis somática. Se confirma esta predicción ya que los genes LEC1 y FUS3 codifican para Factores de transcripción que son críticos para la embriogénesis (Lotan et al., 1998, Luerbern et al., 1998, Reidt et al., 2000).

LEC1:

La proteína LEC1 es muy semejante a la subunidad HAP3 del factor de unión a la caja (CBF) CCAAT que es un regulador transcripcional en eucariotas (Lotan et al., 1998). Se sabe poco de estos CBF en plantas (Albani et al., 1995, Edwards et al., 1998, Li et al., 1998), pero se ha identificado genes homólogos a HAP3 en dicho grupo. En bacterias y vertebrados, solo se ha identificado 1 gen tipo HAP3, pero en plantas se han detectado varios: los que son tipo LEC1 (like-LEC1) y los que no son de este tipo (non-like-LEC1) (Gusmaroli et al., 2002, Gusmaroli et al., 2001), lo que sugiere que existen múltiples homólogos HAP3 en plantas superiores que regulan la expresión genética de sets de genes específicos de la embriogénesis.

Pero es difícil un análisis específico de la expresión de LEC1 durante la embriogénesis, ya que esta se da en áreas muy específicas y pequeñas dentro de flores y frutos inmaduros en estadios tempranos de desarrollo, y porque no existen protocolos para el cultivo in Vitro

de embriones zygóticos en estadios tempranos.

En *A. thaliana* se ha inducido la embriogénesis somática para dicho propósito con embriones zygóticos, protoplastos de células derivadas de hojas y con explantes de punta de ápice de tallo (Ikeda et al., 2002, Ikeda et al., 2003, Luo et al., 1997, Meinke et al., 1994); pero solo se obtuvo un número limitado de embriones somáticos y fue muy difícil obtenerlos en el mismo estadio.

Es por ello que el modelo dominante es el de zanahoria, ya que desde 1958 en el que se reporta el primer estudio, muchos investigadores han desarrollado procesos experimentales simples y eficientes (Zimmerman, 1993).

Dicha embriogénesis en zanahoria se logra en grandes cantidades transfiriendo células embrionarias de un medio con auxinas a uno sin dicha hormona; y se logra una sincronización de estadios transfiriendo agregados celulares de un cierto tamaño (entre 38 y 63 µm) a un medio sin auxinas de manera espaciada (baja concentración celular).

Así se logra observar los cambios morfológicos semejantes a los de la embriogénesis zygótica.

En zanahoria existe un gen similar al de LEC1 de *A. thaliana*. Utilizando la biblioteca génica de zanahoria se obtuvieron algunos genes candidatos con esta función. Dicho gen LEC1 de zanahoria se denominó C-LEC1, encontrándose por lo menos dos copias de este (Yazawa et al., 2004).

Se observó que la secuencia de amino ácidos de dicha secuencia candidata en zanahoria era muy semejante a la de LEC1, observándose que del 56 al 79% de los Amino ácidos de la región B3 de la subunidad HAP3 del factor de unión a la caja CCAAT (Yazawa et al., 2004).

El gen C-LEC1 se expresa en células embriogénicas, en embriones somáticos y en semillas en desarrollo, y dicha expresión se da en las regiones periféricas del embrión mas no en el endospermo (Yazawa et al., 2004).

Esta expresión no se da al azar. se observa una pico en su expresión a los 7 días de iniciada la inducción de células embriogénicas (trasladándolas a un medio sin auxinas), o a los 23 días después de la floración, mas no en las células ya diferenciadas. (Yazawa et al., 2004).

Para comprobar que dicho gen tenía una actividad semejante a LEC1 de *Arabidopsis*, se introdujo dicho gen C-LEC1 a un mutante *lec1* (*Arabidopsis*), y se observó que el promotor de LEC1 promovía la transcripción de los genes estructurales de C-LEC1, traducido por la corrección de las estructuras anormales del mutante *lec1*, lo cual prueba que dichos genes son homólogos en estas dos especies. (Yazawa et al., 2004).

LEC2 y FUS3:

LEC 2 es expresado principalmente en la embriogénesis, y transcribe una proteína con un dominio B3, lo que sugiere, que la igual que LEC1 y FUS3 son reguladores transcripcionales del desarrollo de la semilla.

El dominio B3 es una secuencia de 120 Amino Ácidos descrita inicialmente en la tercera región básica del gen del maíz VP1, que comparte secuencias con su ortólogo en *Arabidopsis*: ABI3 (Giraudat et al., 1992). Varias otras proteínas de origen vegetal contienen este dominio B3, tales como ABI3, VP1, FUS3 y AUXIN RESPONSE FACTOR1 (Reidt 2000, Mc Carty et al., 1991, Ulmasov et al., 1997). Hasta donde se sabe, el dominio B3 es exclusivo en plantas.

LEC2 FUS3 y ABI3 son expresados principalmente durante el desarrollo de la semilla, aunque ABI3 opera en la fase de maduración, mientras que FUS3 y LEC2 en ambas etapas.

Los resultados del estudio de Stone et al. (2001) sugieren que la expresión del gen LEC2 es suficiente para establecer un medio embrionario que provee la formación de un embrión somático.

Si bien la expresión ectópica de LEC1 también es suficiente para la formación de un embrión somático, dicha embriogénesis es mucho mas intensa con LEC2 que con LEC1 (Stone et al., 2001)

En embriogénesis zygótica los genes LEC1 y LEC2 son expresados de manera temprana, dándole la competencia para formar el embrión, pero sus funciones se traslapan.

LEC1 y LEC2 tiene funciones parecidas pero no idénticas. sus funciones son complementarias y parcialmente redundantes, aunque sus roles exactos no han sido caracterizados de manera precisa

(Lotan et al, 1998, Meinke et al., 1994, West et al, 1994).

PKL:

En arabidopsis, el mutante *pkl* genera embriogénesis en cultivo de raíces germinadas sin hormonas en el medio (Ogas et al, 1997). Sin embargo LEC1 se expresa en las raíces de estos mutantes y no en los tipos nativos. (Ogas et al, 1999). Estos resultados sugieren que LEC1 es reprimido por PKL en la post embriogénesis, dicha represión no seda en los mutantes *pkl*. SE sugiere que LEC2 podría también ser inhibido por PKL luego de la embriogénesis de la misma manera que lo hace con LEC1. La expresión LEC1 y LEC2 son suficientes para la inducción de la embriogénesis somática. Ya no renecesita inducir por hormonas el tejido somático para que se de la competencia a estas células. Lo que nos da a entender que los genes LEC1 y LEC2 son factores de transcripción que avivan los genes responsables de la iniciación de la embriogénesis somática.

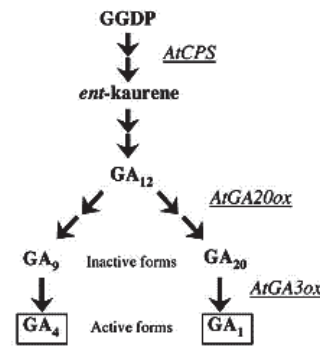
ACCIÓN DE LOS GENES ANTERIORMENTE VISTOS EN EL GEN ATGA3OX2:

FUS3 y LEC2 están envueltos en la regulación de la embriogénesis de plantas superiores. Según análisis bioquímicos y moleculares en la biosíntesis de GA es activada erróneamente en los mutantes *lec2* y *fus3* con respecto al tipo silvestre (Curaba et al., 2004).

Ogawa et al (2003) determino que no solo existía un tipo de GA activo: GA1, sino que existía otro: GA4 que incluso presenta mas actividad que GA1 hasta ahora estudiado durante la germinación.

Se observo también que las proporciones entre GA1 y GA4 difieren en la embriogénesis con respecto a la germinación y los tejidos vegetativos, presentándose una proporción de 10:1 en la primera, y de 1:10 en los dos otros estados (Talon et Al., 1990; Xu et al., 1999)

Como podemos observar en la figura, GA4 y GA1 siguen diferentes rutas alternas para la formación de GA. No se conoce aun que es lo que determina si se va a seguir una u otra vía, pero los datos de Curaba et al., (2004) sugiere que esta activación se da en algún punto entre el desarrollo tardío de la semilla y la germinación.



Plant physiol. Vol 136(2004)

Metabolismo predominante de la formación de GA en *A. thaliana*

Se observaron niveles elevados de GA1 en los mutantes *lec1-2* mientras que los niveles de GA4 se elevaron en los mutantes *fus3-8*. Como esta dos formas de GA solo difieren por una 13b-hydroxilación, la hipótesis mas sencilla para explicar esta observación es que las 13 b-hydroxilasa es codificada por un gen desconocido que es regulado de manera diferente por las vías de LEC2 y FUS3 (Curaba et al., 2004).

Se ve siempre la germinación prematura como un desajuste temporal en la germinación. Los datos de Curaba et al. (2004) nos muestran que esto no es cierto para los genes biosintéticos de GA. En los tipos nativos, los genes de la biosíntesis de GA son expresados, mientras que los catabólicos de Ga no lo son (Ogawa et al., 2003). Podemos contrastar estos resultados con las o la afectación de la expresión del gen *AtGA3ox2* en los mutantes *lec2* y *fus3*, y observamos también que *AtGA20ox3* desactiva enzimas responsables del catabolismo de GA bioactivo (Thomas et al 1999) y que es fuertemente inducida en semillas mutantes *lec2* y *fus3*.

Sabemos también que la germinación prematura de *lec1* es independiente de GA (Raz et al., 2001). Como el metabolismo de GA esta implicado, esto sugiere que la germinación prematura y la germinación son diferentes, y que los genes LEC2 y FUS3 actúan específicamente en los genes *AtGA3ox2* (Curaba et al., 2004)

Se observo un alta interacción sinérgica entre los genes LEC y los ABI, especialmente con respecto a la respuesta a ABA durante la germinación (Baumlein et a., 1994; Parcy et al., 1994; Meinke et al., 1994; West et al., 1994; Parcy et al.,

1997; Namara et al., 2000; Brocard-Gifford et al., 2003). Este estudio sugiere fuertemente que este sinergismo es debido a la disrupción del balance GA/ABA durante la embriogénesis: siendo el metabolismo de GA controlado por los genes LEC y el de ABA por los ABI. Los genes PICKLE, PKL, fueron propuestos como componentes del de activador que modula GA durante el desarrollo de la germinación que previene la re-expresión del estado de desarrollo embrionario. (Ogas et al., 1999; Dean Rider et al., 2003) así un mutante *pkl* retiene características de tejido embrionario en los meristemos de raíz de una manera muy incrementada cuando se somete a dicho embrión a bajas concentraciones de inhibidores de GAs. Esta expresión de diferenciación aberrante es compensada con la incorporación de GA exógeno. (Ogas et al., 1997). PKL expresa un factor de remodelación de cromatina necesario para la represión de LEC1, LEC2 y FUS3 (Ogas et al., 1997; Dean Rider et al., 2003). Los estudios de Curaba et al (2004) sugieren que los niveles menores de GAs con respecto a los tipos nativos se deben a la represión incrementada de la biosíntesis de GA por los genes LEC.

Regulación de la expresión del gen AtGA3ox2 por FUS3

En *fus3-8* y *lec1-2* no hay represión de este gen. La no represión en el mutante *lec2* puede ser consecuencia de una baja regulación de FUS3 (Kroj et al., 2003). También podemos suponer que la represión del gen *AtGA3ox2* es una acción primaria del gen FUS3. los datos de Curaba et al., (2004) muestran que esta acción es directa ya que la proteína FUS3 se une específicamente al elemento RY presente en el promotor de dicho gen. Pero no podemos dejar de lado que LEC2 y FUS3 juntos son necesarios para la represión de este gen. En ambos casos este gen *AtGA3ox2* es el primer gen blanco de una proteína de dominio B3 descrito hasta ahora, aunque se han descrito varios genes que son luego regulados por los genes ABI y FUS3 (Namara et al., 2000). Lo que intrigaría es que este gen no sea reprimido en células epidérmicas del embrión del mutante *fus3*. este gen tampoco se expresa en la epidermis durante la germina-

ción, pero si en el cortex y el endodermis (Yamaguchi et al., 2001). Es posible que existe algún tipo de regulación tipo cis durante la embriogénesis y la germinación. Se ha demostrado recientemente que los genes FUS3 se expresan específicamente en las células epidérmicas del embrión donde reprime la expresión de TTG1 (Tsuchiya et al., 2004). Además la expresión del gen FUS3 bajo el control del promotor específico de la epidermis *AtML1* es suficiente para reprimir el fenotipo del mutante *fus3*. (Tsuchiya et al., 2004). Sería interesante colocar al gen *AtGA3ox2* bajo el control del promotor *AtML1* para determinar en cuanto la biosíntesis de GA participa en el genotipo *fus3*.

Las rutas metabólicas de LEC2 y FUS3 reprimen la expresión de *AtGA3ox2* durante la embriogénesis. (Curaba et al., 2004)

Por más que trabajos anteriores hayan mostrado que GA es importante durante la embriogénesis (Singh et al., 2002) este estudio (Curaba et al., 2004) muestra que las plantas necesitan regular negativamente la biosíntesis de GA en los embriones. El afinamiento de la regulación de la biosíntesis de GA parece envolver mecanismos cruzados entre otras fitohormonas tales como ABA, etileno o auxinas que también tienen un rol importante en la embriogénesis. (Curaba et al., 2004)

Se necesitan más estudios para entender el mecanismo molecular exacto utilizado en este complejo tramado de señales que se da durante la embriogénesis. (Curaba et al., 2004).

El gen *C-ESE1*

El gen *C-ESE1* (Carrot Early somatic Embryogenesis 1) en zanahoria es expresado en la etapa inicial de embriogénesis somática. *C-ESE1* codifica una proteína con los dominios aglutinina y S-locus-glicoproteína y su expresión es específica en células primordiales del embrión somático. Las células transgénicas de zanahoria con expresión reducida de *C-ESE1* poseen un amplio espacio intercelular y un bajo nivel de polisacáridos en la superficie celular y un desarrollo retardado de la embriogénesis somática. Se deduce que este gen es responsable para la

morfología necesaria durante el desarrollo embrionario.

El gen TAN

La mutación de *tanmei/emb2757 (tan)* en *Arabidopsis thaliana* causa defectos en el desarrollo del embrión y de la semilla. Los embriones mutantes *tan* al igual que los mutantes *lec* (leafy cotyledon) acumulan antocianina, son intolerantes a la desecación, forman tricomas en los cotiledones y poseen una reducida acumulación de proteínas y lípidos de reserva. El gen *tan* funciona en las fases temprana y tardía del desarrollo embrionario y actúa en forma conjunta con el gen *lec* los cuales se solapan durante la embriogénesis. El producto del gen *tan* tiene 7 motivos WD que se repiten lo que sugiere que puede interactuar con otras proteínas como controladores durante el desarrollo del embrión.

Genes ABI5 y EEL

Estos genes codifican los factores de transcripción homólogos ABI5 y EEL funcionan antagónicamente para regular la expresión génica durante la embriogénesis tardía.

El desarrollo de una semilla implica dos fases: en la primera se da la división celular y la morfogénesis de la planta, en la segunda fase, llamada maduración, el embrión acumula sustancias de reserva, adquiere dormancia y tolerancia a la desecación. (Wobus and Weber, 1999).

En *Arabidopsis* existen genes de clase MAT y de clase LEA. Los primeros incluyen genes que codifican proteínas de reserva tales como globulinas 2S y 12S (Pang et al., 1988; Guerche et al., 1990). Los de clase LEA, abundantes en la embriogénesis tardía, codifican proteínas LEA implicadas en la tolerancia a la desecación (Hoekstra et al., 2001). Además la fitohormona ABA se acumula durante la maduración de la semilla y regula positivamente la expresión de genes de las dos clases (Koornneef et al., 1989; Parcy et al., 1994; Phillips et al., 1997).

Entre los factores de transcripción que regulan la expresión de genes durante la maduración se encuentra el gen *ABI3* insensible al ABA.

En semillas mutantes *abi3*, la expresión de los genes de clase MAT y LEA es reducida

comparada con las de tipo silvestre (Parcy et al., 1994; Nambara et al., 1995, 2000).

ABI3 no se puede unir por si solo al promotor de sus genes blanco.

Un ortólogo de *ABI3* en el arroz, *OsVP1*, interactúa con *TRAB1* que es un factor de transcripción tipo cremallera de leucina (bZIP) que se une al elemento de respuesta para ABA (ABRE), CACGTG, que esta presente en el promotor de los genes LEA (Hobo et al., 1999).

En *Arabidopsis* *ABI5* cumple un papel igual al de *TRAB1* y permite la regulación de los genes LEA dependientes de *ABI3*.

La mutación *abi5* produce una reducción en la sensibilidad a ABA durante la germinación y decrece la expresión de algunos genes LEA como *AtEm1* y *AtEm6* durante la maduración de la semilla (Finkelstein, 1993, 1994; Gaubier et al., 1993).

Finkelstein y Nakamura establecieron por separado que *ABI5* posee estructura de cremallera de leucina (bZIP) y que interactúa con *ABI3*. Por tanto, la acción de *ABI3* sobre los ABREs presentes en los promotores de los genes LEA esta mediada por las proteínas bZIP.

Los mutantes *abi3* son muchos más perceptibles que las de *abi5* ya que según Delseny et al., 2001, la acumulación de los RNAm de genes LEA como *AtEm1* y *AtEm6* es nula en *abi3* pero solo parcialmente reducida en *abi5*. Esto nos dice que *ABI5* contribuye solo en algunos casos de los diferentes roles que *ABI3* cumple durante la maduración de la semilla. Se ha aislado y caracterizado el factor de transcripción EEL, que es homólogo a *ABI5* y posee estructura de cremallera de leucina (bZIP) pero difieren en ciertas estructuras que los hacen diferentes.

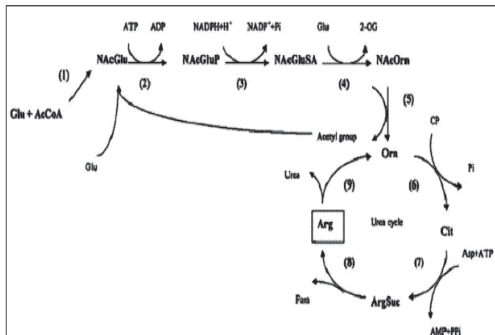
A diferencia del mutante *abi5*, los mutantes *eel* no inhiben la expresión de los genes de maduración observados y por el contrario se acrecentó las concentraciones de los mRNAs de *AtEm1* y de *AtEm6*. Estudios sobre estos comportamientos concluyeron que *ABI5* y *EEL* compiten por los mismos lugares de unión con el promotor para *AtEm1*.

La expresión de los genes *AtEm* están regulados positivamente por *ABI5* y negativamente por *EEL*.

Esto se deduce de la competencia por lugares de unión en los cuales el activador positivo de la transcripción de *AtEm1*, *ABI5*,

esta regulado por el efecto negativo en la transcripción de AtEm1 por parte de EEL. Este modelo simple de regulación genética explicaría por que los mutantes *eel* generan un aumento en la concentración de mRNAs de AtEm1 ya que ABI5 no tiene competencia por el sitio de regulación para el promotor de AtEm1. Además de constatarse que los niveles de EEL disminuyen en los estados tardíos de el embrión y disminuyen en las fases tempranas; caso contrario ocurre con EEL. De este modo, los genes LEA se encuentran regulados por factores de transcripción pertenecientes al tipo bZIP y en este caso específico ABI5 y EEL cumplen roles antagónicos para la expresión de estos genes.

El gen Agamous- like 15 (AGL15)



AGL-15 es un factor de transcripción del dominio MADS y se acumula preferentemente en tejido de angiosperma pro- embrionario (meristemas, heridas, embriones somáticos, apomicticos y otros) lo que sugiere un rol en esta etapa importante da la planta su ubicación es en el núcleo donde cumple un papel de regulación.

La construcción de semillas transgénicas que expresan en forma constitutiva el gen AGL-15, denominados MIKC debido a los dominios M, I, K y C-terminal, mantuvieron por periodos prolongados la forma embrionaria de los embriones secundarios generados usando semillas MIKC germinados.

Otros reguladores transcripcionales que promueven programas embrionéticos (LEC1, LEC2, BABY BOOM y WUSCHEL) son expresados en estas semillas MIKC. Así BABY BOOM induce embriones somáticos en cotídonos, pecíolos de hojas y en meristemo apicales

caulinaires (SAM). La expresión de WUS induce embriones somáticos en las raíces. Por tanto el rol de AGL15, un factor del dominio MAS que se acumula durante la embriogénesis, es mantener el estado embrionario de las células en las que se expresan. Muchos de los miembros del grupo MADS juegan un papel importante en el desarrollo, como lo demuestran las mutaciones de pérdida de función que originan la transformación homeótica de la identidad del órgano (Riechmann y Moyerowitz, 1997). AGL15 se acumula en el núcleo de las células de los embriones en estadios muy importantes (estado de ocho células en *Arabidopsis* y permanecerá relativas a altos niveles durante la morfogénesis y dentro del estado de maduración (Perry et al, 1996)

CONTROL DE LA EMBRIOGÉNESIS POR REGULACIÓN DEL METABOLISMO: ASIMILACIÓN DE NITRÓGENO.

Las macromoléculas nitrogenadas, tales como los amino ácidos y las poliamidas tienen un rol muy importante para el metabolismo de las células, principalmente en el proceso de morfogénesis, y embriogénesis somática donde las replications celulares y las diferenciaciones celulares son tan intensas. Se marco con ^{15}N un medio con células vegetales en diferentes estadios de embriogénesis y con células no embriogénicas así como embriones germinantes.

Las células no embrionígenas y los embriones germinantes mostraron glutamina y alfa amino ácidos marcados con dicho nitrógeno, mientras que las moléculas marcadas en células en embriogénesis (entre el estadio globular hasta el torpedito) la L-arginina fue el principal amino ácido marcado, así como los alfa amino ácidos. Así mismo, se marcó un medio con sucrosa con ^{14}C . Los amino ácidos marcados fueron glutamina, glutamato, arginina y ornitina. Glutamina y glutamato presentaban una concentración constante durante la embriogénesis, mientras que Arginina aumentaba en concentración desde el estadio globular hasta el torpedito, y luego decrecía.

Esto nos hace pensar que dicho amino ácido es muy importante en el proceso de embriogénesis.

Dicho amino ácido proviene del ciclo de la ornitina o de la urea. Uno de sus puntos de control mas importantes esta dado a nivel de la enzima **N- acetyl glutamato Kinasa** cuya acción se describe en la siguiente ruta: (enzima #2)

Esta enzima presenta control tipo feedback, inhibiéndose por su producto final: arginina.

Esta enzima solo ha sido purificada y caracterizada en algunos organismos unicelulares, teniéndose reportes de su estructura 3D en *E. coli*. En arveja (*Pisum sativum*) ya se ha logrado aislar y caracterizar; y en arroz hay reportes que se activa dentro del cloroplasto al unirse sensible al aumento de nitrógeno PII.

En este reporte (Lohmeier et al., (2005) se ha estudiado principalmente su actividad durante la embriogénesis, presentándose un pico en el estadio de torpedo. Esto nos hace pensar que la inhibición por producto final se desactivara en este punto, llegando a una actividad muy alta, por mas que la concentración de arginina aumenta también.

En células no embrionicas la actividad de esta enzima existe pero es muy baja, y en células proembrionicas es un poco más elevada.

Podemos llegar a la conclusión, que lo que inhabilita el retrocontrol de esta enzima por producto final es el alto requerimiento de arginina durante este proceso. Al tener una alta replicación celular, este amino ácido es utilizado inmediatamente para la síntesis de proteínas, y no llega a inhibir la NAGK, siento esta enzima muy importante para los requerimientos de la célula en compuestos nitrogenados.

LITERATURA CITADA

- A. TAHIRI-ALAOUI, E. Dumas, S. Gianinazzi (1990) Detection of PR-b proteins in tobacco roots infected with *Chalara elegans*, Plant Mol.Biol. 14 869-871.
- BAUMLEIN H, MISERA S, LUERSSEN H, KOLLE K, HORSTMANN C, WOBUS U, MULLER AJ (1994) The FUS3 gene of *Arabidopsis thaliana* is a regulator of gene expression during late embryogenesis. Plant J 6: 379-387
- BROCARD-GRIFFORD IM, Lynch TJ, Finkelstein RR (2003) Regulatory networks in seeds integrating developmental abscisic acid, sugar, and light signaling. Plant Physiol. 131: 78-92
- CAPELLI N, DIOGON T, Greppin H, Simon P (1997) Isolation and characterization of cDNA clone encoding an osmotin-like protein from *Arabidopsis thaliana*. Gene 191: 51-56
- CHEN R, WNAG F, SMITH A.G (1996) A flower-specific gene encoding an osmotin-like protein from *Lycopersicon esculentum*. Gene 179: 301-302
- CURABA J, MORITZ T, Blervaque R, Parcy F, Raz V, Herzog M, Vachon G (2004) AtGA3ox2, a key gene responsible for bioactive Gibberellin biosynthesis, is regulated during embryogenesis by LEAFY COTYLEDON2 and FUSCA3 in *Arabidopsis*. Plant physiology 136: 3660-3669
- D. W. MEINKE, L. H. Franzmann, T. C. Nickle and E. C. Yeung. Leafy Cotyledon Mutants of *Arabidopsis* (1994) The Plant Cell, Vol 6, Issue 8 1049-1064.
- ELLEN W. HARDING, Weining Tang, Karl W. Nichols2, Donna E. Fernandez, and Sharyn E. Perry (October 2003) Expression and Maintenance of Embryogenic Potential Is Enhanced through Constitutive Expression of AGAMOUS-Like 15. *Plant Physiology*, Vol. 133, pp. 653-663.
- DEAN RIDER JR, HENDERSON JT, Jerome RE, Edenberg HJ, Romero-severson J, Ogas J (2003) Coordinate repression of regulators of embryogenic identity by PIKLE during germination in *Arabidopsis*. Plant J 35: 33-43
- GIRAUDAT, J., HAUGE, B. M., VALON, C., SMALLE, J PARCY,F. & GOODMAN, H.M. (1992) Plant cell 4, 1251-1261
- H. SASSA, H. HIRANO (1998) Style-specific and developmentally regulated accumulation of a glycosylated thaumatin/PR5-like protein in Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.), Planta 205,514-521.

- HUANG W, CUI X, TIAN Y, PENG X (1994) Cloning of T7 Lysozyme gene and construction of the vector for transgenic plants resistant to bacterial infection.
- WEI SHENG WU HSUEH PAO 34: 261-265
- KAZUTOSHI YAMAGISHI, NORIKO Nagata, Kelly Matsudaira Yee, Siobhan A. Braybrook, Julie Pelletier, Shozo Fujioka, Shigeo Yoshida, Robert L. Fischer, Robert B. Goldberg and John J. Harada (September 2005) *TANMEI/EMB2757* Encodes a WD Repeat Protein Required for Embryo Development in Arabidopsis. *Plant Physiology*. Vol. 139, pp. 163-173.
- KIMINORI TAKAHATA, MIYUKI TAKEUCHI, Minoru Fujita, Junichi Azuma, Hiroshi Kamada and Fumihiko Sato (2004) Isolation of Putative Glycoprotein Gene from Early Somatic Embryo of Carrot and its Possible Involvement in Somatic Embryo Development. *Plant and Cell Physiology* 45(11):1658-1668.
- KROJ T, SAVINO G, VALON C, Giraudat J, Parcy F (2003) Regulation of storage protein gene expression in Arabidopsis. *Development* 130: 6065-6073
- LIN X, HUANG G.J.H, ZIMMERMAN J.L (1996) Isolation and characterization of a diverse set of genes from carrot somatic embryos. *Plant physiol.* 112: 1365-1374
- LOTAN, T., OHTO, M., MATSUDAIRA Yee, K., West, M. A. L., Lo, R., KWONG, R. W., YAMAGISHI, K., FISCHER, R. L., Goldberg, R. B. & Harada, J. J. (1998) *Cell* 93, 1195-1205.
- LUERBEN, H., KIRIK, V., HERRMANN, P. & MISERA, S. (1998) *Plant J.* 15, 755-764.
- LOHMEIER-VOGEL E M, LOUKANINA N , Ferrar T S, Moorhead G B.G , Thorpe T.A , (2005). N-acetyl glutamate kinase from *daucus carota* suspension cultures: embryogenic expression profile, purification and characterization
- MCCARTY, D. R., HATTORI, T., CARSON, C. B., Vasil, V., Lazar, M. & Vasil, I. K. (1991) *Cell* 66, 895-906.
- MEINKE, DW (1992) A homeotic mutant of *Arabidopsis thaliana* with leafy cotyledons. *Science* 258: 1647-1650
- MEINKE, D. W., FRANZMANN, L. H., Nickle, T. C. & Yeung, E. C. (1994) *Plant Cell* 6, 1049-1064.
- N. CAPELLI, T. DIOGON, H. GREPPIN, P. SIMON (1997) Isolation and characterization of a cDNA clone encoding an osmotin-like protein from *Arabidopsis thaliana*, *Gene* 191 51-56.
- NAMBARA E, HAYAMA R, NISHIMURA M, Kawaide H, Kamiya Y, Naito S (2000) the role of ABI3 and FUS3 loci in *Arabidopsis thaliana* on phase transition from late embryo development to germination. *Dev. Biol.* 220: 412-423
- OGAS J, CHENG JC Sung ZR Somerville C (1997) Cellular differentiation regulated by gibberellin in the *Arabidopsis thaliana* pickle mutant. *Science* 227: 91-94
- OGAS, J., CHENG, J.-C., SUNG, Z. R. & Somerville, C. (1997) *Science* 277, 91-94
- OGAS J, KAUFMANN S, HENDERSON J, Somerville C (1999) PICKLE is a CHD3 chromatin-remodeling factor that regulate the transition from embryonic to vegetative development in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 13839-13844
- OGAS, J., KAUFMANN, S., Henderson, J. & Somerville, C. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 13839-13844.
- OGAWA M, HANADA A, YAMAUCHI Y, Kuwahara A, Kamiya Y, Yamaguchi S (2003) Gibberellin biosynthesis and response during Arabidopsis seed germination. *Plant cell* 15: 1591-1604
- PARCY F, VALON C, KOHARA A, Misera S, Giraudat J (1997) The ABSICIC ACID-INSENSITIVE3, FUSCA3 and LEAFY COTYLEDON1 loci act in concert to control multiple aspects of Arabidopsis seed development. *Plant cell* 9: 1265-1277
- R. CHEN, F. WANG, A.G. SMITH (1996) A flower-specific gene encoding an osmotin-like protein from *Lycopersicon esculentum*, *Gene* 179 , 301-302.

- REIDT, W., WOHLFARTH, T., Ellerstroem, M., Czihal, A., Tewes, A., Ezcurra, I., Rask, L. & Baumlein, H. (2000) *Plant J.* 21, 401–408.
- RAZ V, BERGERVOET JH, Koornneef M (2001) Sequential steps for developmental arrest in *Arabidopsis* seeds. *Development* 128: 243-252
- SASSA H, HIRANO H (1998) Style-specific and developmentally regulated accumulation of glycosylated thaumatin/PR5-like protein in Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.). *Planta* 205: 514-521
- SINGH DP, JERMAKOW AM, Swain SM (2002) Gibberellins are required for seed development and pollen tube growth in *Arabidopsis*. *Plant cell* 14: 3133-3147
- SANDRA BENSMIHEN, SONIA RIPPA, Guillaume Lambert, Delphine Jublot, Véronique Pautot, Fabienne Granier, Jérôme Giraudat, and François Parcy. (June 2002) The Homologous ABI5 and EEL Transcription Factors Function Antagonistically to Fine-Tune Gene Expression during Late Embryogenesis. *The Plant Cell*, Vol. 14, 1391–1403.
- Science (1 July 2005) How does a single somatic cell become a whole plant. Published by AAAS.
- Sharyn E. Perry², Melissa D. Lehti, and Donna E. Fernandez (May 1999) The MADS-Domain Protein AGAMOUS-Like 15 Accumulates in Embryonic Tissues with Diverse Origins. *Plant Physiology*, Vol. 120, pp. 121–129.
- Stone S, Kwong L, Matsudaira Y, Pelletier J, Lepiniec L, Fisher R, Goldberg R, Harada JJ (2001) LEAFY COTYLEDON2 encodes a B3 domain transcription factor that induces embryo development. *Plant Biol* 98: 11806-11811
- TAKUMA S, MAMORU NISHIMOTO, WATARU Saburi, Atsuo Kimura, Hiroshi Yasuda, masahiro Uchibatake, Takuji Ohwada, Hiroshi Masuda (2004) Isolation and Characterization of cDNA encoding P-19.5 protein accumulated preferentially at early stage of carrot somatic embryogenesis. *Plant science* 167: 1211-1217
- TALON M, KOORNEEF M, Zeevaart JAD (1990) Endogenous gibberellins in *Arabidopsis thaliana* and possible steps blocked in the biosynthetic pathway of semidwarf ga2 and ga5 mutants. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 7983-7987
- TAHIRI-ALAOUT A, DUMAS E, Gianinazzi S (1990) Detection of PR-protein in tobacco roots infected with *Chalara elegans*. *Plant Mol. Biol.* 14: 869-871
- THOMAS SG, PHILLIPS AL, Hedden P (1999) Molecular cloning and functional expression of gibberellin 2-oxidases, multifunctional enzymes involved in gibberellin deactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 4398-4703
- TSUCHIYA Y, NAMBARA E, Naito S, McCourt P (2004) The FUS3 transcription factor functions through the epidermal regulator TTG1 during embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant J* 37: 73-81
- ULMASOV, T., Hagen, G. & Guilfoyle, T. J. (1997) *Science* 276, 1865- 1868.
- W. HUANG, X. CUI, Y. Tian, M. Lin, X. Peng (1994) Cloning of T7 lysozyme gene and construction of the vector for transgenic plants resistant to bacterial infection, Wei Sheng Wu Hsueh Pao. 34 261–265.
- WEST M, HARADA JJ (1993) Embryogenesis in higher plants: an overview. *Plant Cell* 5: 1361-1369
- WEST, M. A. L., Matsudaira Yee, K., Danao, J., Zimmerman, J. L., Fischer, R. L., Goldberg, R. B. & Harada, J. J. (1994) *Plant Cell* 6, 1731–1745.
- XU Y-L, LI L, Gage D, Zeevaart J (1999) Feedback regulation of GA5 expression and metabolic engineering of gibberellin levels in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 11: 927-936
- YAMAGUCHI S, KAMIYA Y, Sun T (2001) Distinct cell-specific expression patterns of early and late gibberellin biosynthetic genes during *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell* 10: 2115-2126
- YASUDA H, NAKAJIMA M, Ito T, Ohwada T, Masuda H (2000) Partial characterization of genes whose transcripts accumulate preferentially in cell cluster at the earlier stage of carrot somatic embryogenesis. *Plant Mol. Biol.* 45: 705-712

INFLUENCIA DEL ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA MADURACIÓN *in vitro* DE OVOCITOS DE PORCINO

Hugo Mauricio Gonzáles Molfino¹

RESUMEN

El presente tiene como objetivo esclarecer la influencia del ácido ascórbico durante la maduración de ovocitos de porcino *in vitro*. 845 complejos ovocito-cúmulo (COCs) seleccionados de ovarios de porcino, pre-púberes se incubaron en el medio de maduración (NSCU-23) que contenía ácido ascórbico en diferentes dosis: 0 (control), 250 y 500 μM respectivamente. En todos los tratamientos se visualizó la expansión de las células del cúmulo al término del cultivo (44 horas). Se encontraron ovocitos maduros con corpúsculo polar en las diferentes concentraciones de ácido ascórbico, 71.8% en el control, 65.7% en el de 250 μM y 59.5% en el de 500 μM .

Estos resultados indicarían que el rol antioxidante del ácido ascórbico estaría encubierto por la presencia de antioxidantes como las superoxidismutasas y el glutatión entre otros presentes en el fluido folicular de porcino.

Palabras Claves: Maduración de ovocitos, porcinos, ácido ascórbico.

SUMMARY

The objective of this study was to elucidate the role of ascorbic acid during *in vitro* porcine oocyte maturation. 845 Cumulus-oocyte complexes (COCs) were cultured for 44 h in NCSU 23 supplemented with cysteine, gonadotropins, 10% porcine follicular fluid, and ascorbic acid. In all treatments, cumulus expansion was observed in cultures of 44 hours.

Were mature oocytes with polar corpuscle in the different ascorbic acid concentrations, 71,8% in the control, 65,7% in the of 250 μM and 59,5% in the of 500 μM .

These findings suggest that porcine follicular have a critical role in protecting oocytes against oxidative stress-induced through the enhancement of higher levels of superoxide dismutase and glutatión content in follicular fluid.

Key words: Oocyte maturation, porcine, ascorbic acid.

INTRODUCCIÓN

Las hembras de los mamíferos tienen ovarios bifuncionales con función exocrina cuando liberan ovocitos y endocrina cuando producen hormonas que regulan el desarrollo folicular ovárico (Manikkan y et al., 2002). El conocimiento de estos procesos celulares es importante para

comprender y establecer métodos eficientes que puedan usarse en la biotecnología reproductiva.

En el parénquima ovárico se localizan los complejos ovocito-cúmulo (COC_s) formados por una delicada conexión entre las células del cúmulo y la membrana plasmática del ovocito (Moor et al., 1980), se pueden clasificar en relación a ciertas

¹ Laboratorio de Biología del Desarrollo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. e-mail: hgonzalesm@mail.urp.edu.pe

características del cúmulo (compactación, transparencia y número de capas) así como del citoplasma (densidad y tamaño de gránulos). Esta conexión estructural y funcional es necesaria para que el proceso de maduración sea exitoso.

Los mecanismos de maduración del ovocito ocurren tanto en el núcleo como en el citoplasma. Las modificaciones visible en el núcleo son la condensación de la cromatina y la desintegración de la vesícula germinal (GVBD) cambios que permiten el reinicio de la meiosis hasta metafase II, cuya expresión citológica es la presencia del primer corpúsculo polar en la superficie del ovocito, estado en que el ovocito es ovulado. Por otro lado, las células del cúmulo no sólo son importantes para que el ovocito adquiera la competencia de desarrollo asociada con la maduración del citoplasma sino también que tienen un rol protector contra el daño que pueda causar el estrés oxidativo durante la maduración del ovocito. Tatemoto et al., (2000) sugieren que las células del cúmulo tienen un rol crítico en la protección de la apoptosis inducida por estrés oxidativo a través del incremento del contenido de glutatión en el ovocito. El glutatión es un tripeptido (???glutamin-cisteinglicina; GSH) que en las células de los mamíferos regula la síntesis, metabolismo y secreción de los antioxidantes celulares más importantes. Así mismo el GSH regula algunas funciones celulares esenciales como el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares la síntesis de ADN, la modulación del plegamiento de las proteínas, el ensamblaje de los microtúbulos y también participa como coenzima en diversas reacciones enzimáticas (Meister, 1989). La competencia de desarrollo se incrementa después de fecundación *in vitro* en ovocitos de porcino madurados en presencia de ácido ascórbico 2-O- á-glucósido (AA-2G), sugiriendo que AA-2G previene el estrés oxidativo durante la maduración citoplasmática, permitiendo que el ovocito de porcino alcance competencia de desarrollo (Tatemoto et al., 2000).

Es de suma importancia que se cuente con protocolos experimentales que admitan el rol de los antioxidantes y de las especies oxígeno reactivas ROS durante la

maduración y el desarrollo embrionario temprano en mamíferos. En el presente trabajo, usando indicadores citológicos (presencia del corpúsculo polar y expansión del cúmulo) se analiza la progresión de la maduración ovocitaria de porcino en el medio NCSU-23, al que se le adicionó ácido ascórbico en diferentes concentraciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recuperación y selección de ovocitos

Se utilizó ovarios de porcino pre-púberes, provenientes de animales sacrificados para el consumo humano, los cuales fueron transportadas al laboratorio en un frasco térmico conteniendo una solución salina fisiológica (0.9% NaCl) a 37°C.

Para la recuperación de los complejos cúmulo-ovocito (COC_s) se utilizó el método de aspiración folicular (Cheong y col., 2000). Utilizando una jeringa hipodérmica de 10 ml y una aguja de 21 G (Gauge) se aspiró los folículos que oscilaban entre 4 – 6 mm colocándolos en un tubo de polipropileno (50 ml) mantenido a una temperatura de 37°C en baño María. Luego de 10 minutos de reposo, se extrajo el sedimento del fondo del tubo llevándolo a las placas Petri, a las que se le agregó 25 mM Hepes-buffer TCM-199 suplementado con 0.1% alcohol polivinílico y sulfato de gentamicina 50µ/ml, sobre una platina temperada entre 30-35°C.

Para la selección de los COC_s se tomaron en cuenta indicadores morfológicos en el cúmulo: número de capas, compactación, y transparencia y en el citoplasma del ovocito: color (densidad) y tamaño de gránulos (Madison y col, 1992; Blondin y Sirard, 1993; Hazeleger y col., 1995; Hosoe y Shioya, 1997).

Maduración *in vitro* de los COCs

Para la maduración se utilizó el medio North Carolina State University 23 (NCSU-23; Petters & Wells, 1993) suplementado con 0.57 mM de cisteína, 10% fluido folicular, 10 IU/ml de gonadotropina corionica equina, 10 IU/ml de gonadotropina corionica humana y 50 µg/ml sulfato de gentamicina (Sigma).

En una placa Falcon 3560 que contenía 100 μ l de NCSU 23 cubierta con aceite mineral se colocaron entre 10 a 15 COCs para incubarlos por 20 - 24 horas a 39°C; 5% CO₂; y 90% humedad. Transcurrido este tiempo, los ovocitos se pusieron en el medio NCSU 23 sin hormonas por un periodo adicional de 22 A 24 horas.

Al término del cultivo las células del cúmulo fueron separadas empleando un vortex por 4 minutos en una solución buffer fosfato PBS (Dulbecco's) sin Ca²⁺ y Mg²⁺ con hialuronidasa al 0,1% colocándolos después en 25 mM Hepes-buffered TCM-199. En este medio fueron seleccionados aquellos ovocitos maduros, que presentaron el primer corpúsculo polar los que fueron observados a través de una lupa estereoscópica 20x.

Los datos fueron procesados para encontrar el nivel de significancia mediante las pruebas de Student y Tukey.

RESULTADOS

Se seleccionaron 845 complejos ovocito-cúmulo (COCs) que fueron obtenidos de ovarios de porcino pre-púberes y colocados aleatoriamente en el medio de maduración (NSCU-23), al que se le adicionó ácido ascórbico en diferentes dosis: 0 (control), 250 y 500 μ M respectivamente. En todos los tratamientos se visualizó la expansión de las células del cúmulo al término del cultivo (44 horas).

El porcentaje de ovocitos maduros que presentaron corpúsculo polar y citoplasma homogéneo fue de 71.8% para el control, 65.7% con 250 μ M y 59.5% con 500 μ M respectivamente (ver Tabla N° 1)



Fig 1: Expansión parcial de las células del cúmulo en cultivo de 24 horas de maduración (20 X)

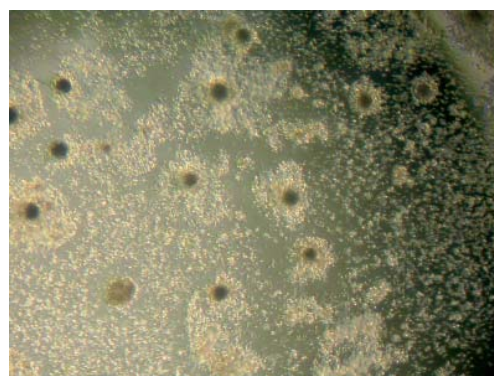


Fig 2: Expansión total de las células del cúmulo en cultivo de 44 horas de maduración (20 X)

Tabla N° 1: Efecto del ácido ascórbico en el medio de maduración de ovocitos porcino

Tratamientos	No de Ovocitos (Replicaciones)	% de Ovocitos Madurados
Control (NCSU-23)	255 (4)	71 $\pm$ 1.41 ^a
NCSU-23 + 250 μ M A.A	285 (4)	62 $\pm$ 2.83 ^a
NCSU-23 + 500 μ M A.A	305 (4)	59 $\pm$ 1.41 ^b

^{a,b} Representa diferencia significativa p <0.05

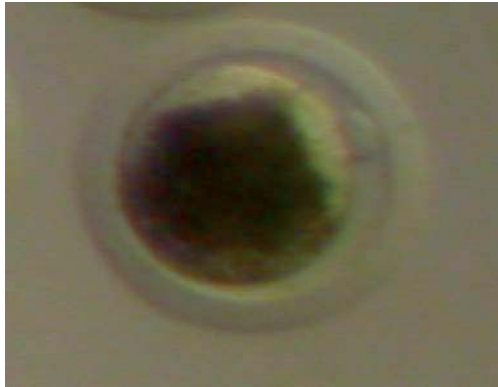


Fig.3: Ovocito maduro con presencia del corpúsculo polar en cultivos de 44 horas (20 X)

DISCUSIÓN

El desarrollo embrionario está influenciado por sucesos que ocurren durante la maduración de los ovocitos. Si bien es cierto que muchos ovocitos inmaduros son capaces de completar la meiosis *in vitro*, sólo un pequeño porcentaje de ellos adquieren una correcta competencia para continuar el desarrollo hasta el estado de blastocisto. Los ovocitos recolectados de ovarios procedentes de hembras sacrificadas para el consumo humano son una fuente extremadamente heterogénea en términos de calidad y competencia para el desarrollo,

El tamaño del folículo es un factor fundamental para que el ovocito adquiera competencia de desarrollo (Krisher, 2004), en esta investigación se usaron folículos que medían entre 3 a 5 mm de diámetro y presentaban irrigación superficial, con los que se logró una tasa de maduración relativamente alta en todos los tratamientos. Los COCs mantienen un acoplamiento mecánico y funcional entre la superficie de la membrana del ovocito con las de las células del cúmulo que permiten un flujo adecuado de sustancias en ambas direcciones durante el proceso de maduración. El flujo de sustancias se realizan a través de modificaciones de las proteínas de membrana denominados conexones (Canipari, 2000). Los COCs de 24 hrs de cultivo presentan una expansión mas compacta en relación a los cultivados

por 44 hrs donde se muestra una expansión total de las células del cúmulo (Figs. 1y 2) que sería consecuencia de la perdida de acoplamiento celular durante el tiempo que dura la maduración *in vitro*. La expansión del cúmulo al término de la maduración también ha sido observada en cultivos de ovocitos de bovino y se explica que ocurre por la perdida de acoplamiento intercelular al desorganizarse los conexones, (Suzuki y et al., 2000). Las células del cúmulo secretarían ligandos para mantener el diploteno meiotico (Aktas y col. 1995) hasta que la actividad gonadotrópica induzca la despolarización de la membrana plasmática del ovocito, señal para el reinicio de la meiosis hasta metafase II (Mathioli y et al., 1990). La expresión citológica de que estos eventos moleculares ocurren, es la presencia del corpúsculo polar. En todos los tratamientos los cultivos entre 44 y 48 horas de incubación presentaron ovocitos con corpúsculos polares bien definidos (Fig.3)

Con respecto a la influencia del ácido ascórbico (AA) en la maduración de los ovocitos, se ha encontrado que 71% de COCs maduros en el medio NCSU-23 en relación al 62% y 59% hallados en los medios con 250 μ M y 500 μ M de AA respectivamente. En el medio NCSU-37 con ácido ascórbico 2-O- α -glucósido (AA-2G) se han encontrado 86% de ovocitos de porcino maduros en el medio control, en relación a 82% y 77% que aparecen cuando se agrega al medio de cultivo 250 μ M y 500 μ M de (AA) respectivamente (Tatemoto et al., 2000). El fluido folicular de porcino desempeña un papel crítico en la protección de los ovocitos de sustancias oxígeno reactivas mediante la activación de isoenzimas de superoxidismutasas las que inhiben la formación de radicales libre, mejorando considerablemente la maduración citoplásmica, importante, para la competencia de desarrollo posfecundación (Tatemoto et al., 2004).

La proporción de ovocitos maduros encontrados ($p < 0.05$) en los tratamientos con y sin ácido ascórbico, se debería, de alguna manera, a la presencia de superoxidismutasas, y glutatión en el fluido folicular que se adicionó al medio NCSU-23, que estarían encubriendo la posible

actividad antioxidante del ácido ascórbico exógeno durante la maduración ovocitaria de porcino.

LITERATURA CITADA

- AKTAS H., WHEELER M.B., FIRST N., LEIBFRIED-RUTELEDGE ML. 1995. Maintenance of meiotic arrest by increasing (cAMP)I may have physiological relevance in bovine oocyte. *J. Reprod. Fertil* 105 (2):237-45.
- BLONDIN P. & A. SIRARD. 1995. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocyte. *Mol Reprod Dev.* 41, 54-62.
- CANIPARI R. 2000. Oocyte-granulosa cell interactions. *Hum. Reprod. Update* 6 (3):279-89.
- CHEONG H.T., K. IKEDA, M.A. MARTINEZ., S. KATAGIRI. & Y.TAKAHASHI. 2000. Development of reconstituted pig embryos by nuclear transfer of cultured cumulus cells. *Reprod. Fertil. Dev.* 12: 15-20.
- HAZELEGER N.L., D.J. HILL., R.B. STUBBINGS. & I.A. WATSON. 1995. Relationship of morphology and follicular fluid environment of bovine oocyte to their development potential *in vitro*. *Theriogenology* 43, 509-22.
- HOSOE M. & Y. SHIOYA. 1997. Distribution of cortical granules in bovine oocyte classified by cumulus complex. *Zigote* 5, 371-376.
- KRISHER, RL. 2004. The effect of oocyte quality on development. *J. Anim. Sci* 82 suppl: 14-23.
- MADISON V., B. AVERY. & T. GREVE. 1992. Selection of immature bovine oocytes for developmental potential *in vitro*. *Anim Reprod Sci* 27, 1-11.
- MANIKKAM M., Y. LI., B.M. MITCHELL., D.E. MASON & L.C. FREEMAN. 2002. Potassium channel antagonist influence porcine granulosa cell proliferation, differentiation and apoptosis. *Biol Reprod.* 67: 88-98.
- MATHIOLI M., BARBONI B, BACCI ML, SEREN E. 1990. Maturation of pig oocytes: observations on membrane potential. *Biol. Reprod.* 43(2): 318-22.
- MEISTER A. 1989. A brief history of GSH and survey of its metabolism and functions. In: Dolphin D., Avramovic O & Poulson R (eds.) *Glutathione: chemical, biochemical and medical aspects*. Part A. New York, NY:Wiley pp: 1-48.
- MOOR R.M., M.W. SMITH. & R.M.C. DAWSON. 1980. Measurement of intercellular coupling between oocytes and cumulus cells using intracellular markers. *Exp Cell Res:* 126:15-29.
- PETTERS R.M. & K.D. WELLS. 1993. Culture of pig embryos. *Journal of Reproduction and Fertility; Supplement* 48: 61-73.
- SIRARD, M. A. DUBUC, D. BOLAMBA, Y. ZHENG, K. COENEN. 1993. Follicle-oocyte-sperm interactions in vivo and in vitro in pigs. *J Reprod Fertil Suppl* 48: 3-16.
- SUZUKI H, JU J.C., YANG X. 2000. Surface ultrastructural alterations of bovine oocytes after parthenogenetic activation. *Cloning* 2:69-78.
- TATEMOTO H., N. SAKURAI. & N. MUTO. 2000. Protection of porcine oocytes against apoptotic cell death caused by oxidative stress during in vitro maturation: role of cumulus cells. *Biol Reprod.* 63: 805-810.
- TATEMOTO H., MUTO N., SUNAGAWA I., SHINJOA, & NAKADA T. 2004. Protection of Porcine Oocytes Against Cell Damage Caused by Oxidative Stress During In Vitro Maturation: Role of Superoxide Dismutase Activity in Porcine Follicular Fluid. *Biol Reprod.* 71: 1150-115.

DESARROLLO EMBRIONARIO DE *Tetrapygyus niger* (Molina, 1782) “ERIZO NEGRO” EN DIFERENTES TEMPERATURAS

Pamela Olaechea¹
Juan José Panéz
Hugo Gonzáles- Figueroa

RESUMEN

Se caracterizan las diferentes etapas del desarrollo embrionario de *Tetrapygyus niger* “erizo negro” en cultivos controlados a 5, 10 y 15°C respectivamente, desde el cigote hasta la formación de larva pluteus.

Se observó que el tiempo de los ciclos de segmentación desde cigote hasta blástula temprana se alargan con relación a la temperatura, demorando 14 horas en el cultivo de 15°C, 45 horas en el de 10°C y 164 horas los que se mantuvieron a 5°C, lo que evidencia que el desarrollo embrionario temprano de *Tetrapygyus niger* es dependiente de la temperatura. El embrión de 2-células aparece 37 horas después de la fecundación a 5°C mientras que a 10°C se demora 7 horas y sólo necesita 2 horas a 15°C para llegar a blástula temprana, notándose, además, que al incrementar la temperatura el intervalo entre un ciclo de segmentación y el siguiente es más homogéneo. La variación de la temperatura induciría la activación o inhibición de señales celulares que permitirían un desarrollo embionario exitoso desde cigote hasta pluteus

Palabras claves: *Tetrapygyus niger*, erizo negro, desarrollo embrionario

SUMMARY

Different stages of *Tetrapygyus niger* “black sea urchin” embryonic development were characterized in cultures controlled to 5, 10 and 15°C respectively, from zygote until pluteus larvae. Time of cleavage cycles from zygote to early blastulae delayed 14 hours in culture at 15°C; 45 hours at 10°C and 164 hours at 5°C, which evidence that *Tetrapygyus niger* embryonic development is temperature-dependent.

2-cells embryo, appears 37 hours after of fertilization at 5°C whereas at 10°C dealed 7 hours and it is delayed, and it only needs 2 hours to 15°C to arrive at early blastula noticing, in addition, that when increasing the temperature the interval between a cleavage cycle and the following one is more homogenous. Temperature variation would induced activation or inhibition of cellular signals that they would allow a successful sea urchin development

Key words: *Tetrapygyus niger*, urchin, development embryonic

INTRODUCCIÓN

El desarrollo embrionario en erizo de mar desde cigote hasta larva pluteus comprende una serie de procesos moleculares y celulares influenciados por diversos

factores ambientales. La segmentación del cigote origina un número determinado de blastómeros que continua con un desplazamiento celular dentro del embrión y culmina con la diferenciación celular y

¹ Laboratorio de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma. Av. Benavides 5440, Santiago de Surco – Lima. e- mail: 200211384@mail.urp.edu.pe

crecimiento. El embrión de erizo de mar tiene una segmentación radial holoblástica donde a partir de la cuarta división los blastómeros de acuerdo al tamaño se identifican como mesómeros, macrómeros, y micrómeros. La blástula se visualiza como una cavidad central limitada por una capa de células epiteliales, y la gástrula se caracteriza por la presencia del arquenterón, luego el proceso continua hasta la formación de una larva predadora de vida libre denominada pluteus (Khurram et al, 2004).

La concentración de compuestos químicos y la variación de la temperatura del agua, son algunos de los factores ambientales que alteran el desarrollo embrionario en los equinodermos. Compuestos fosfatados bloquean la fecundación e inducen un desarrollo embrionario anormal en poblaciones del erizo *Lytechinus variegatus*. (Bottger, & McClintock, 2001). La variación de la temperatura del agua influye en la segmentación del erizo de mar alterando la duración de las fases del ciclo celular (Nurse, 1990), sólo la fusión de los pronúcleos para formar el núcleo del cigote, no sería influenciado por la temperatura (Yamada & Mihashi, 1998).

Tetrapygus niger «erizo negro», es la especie mas común que se encuentra a lo largo de toda la costa peruana que ha sido usada en el presente trabajo para caracterizar las diferentes etapas del desarrollo embrionario, desde la formación del cigote, de la blástula y su transformación posterior en larva pluteus, en cultivos controlados a 5, 10 y 15°C respectivamente,

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de especímenes

Especímenes de *Tetrapygus niger* “erizo negro” se colectaron en la playa Punta Negra (Km. 44 de la Panamericana Sur) entre los meses de abril a julio y se transportaron al laboratorio en baldes de plástico que contenían agua de mar.

En el laboratorio se procedió a separar individuos machos y hembras de acuerdo al tamaño.

Se acondicionaron cámaras de cultivos controladas a 5, 10 y 15°C respectivamente. El agua de mar que se utilizó en todos los experimentos fue filtrada y autoclavada y además se le agregó una solución de gentamicina (2mg/litro) para evitar el crecimiento bacteriano.

Obtención de gametos

Cada espécimen, hembra o macho recibió una inyección intracelómica de 0,2 ml de KCl (0.53 M) para inducir la liberación de los gametos.

En seguida cada ejemplar fue colocado sobre la superficie de una cubeta de vidrio con agua de mar y la salida de los gametos del cuerpo de cada individuo ocurrió entre 1 a 4 minutos después de la inyección. Una secreción blanca nacarada indicaba la presencia de espermatozoides mientras que una de color rojo vinoso la de ovocitos. Los ovocitos se mantuvieron en el agua de mar filtrada y la masa espermática y aisló y se mantuvo en seco.

Fertilización *in vitro*.

Se preparó una «suspensión patrón» agregando una gota de la masa espermática a 10 ml de agua de mar filtrada y temperada a 5, 10, y 15° C respectivamente. Por otro lado, en una cubeta de vidrio se colocó 2 ml de la suspensión de ovocitos, a la que se agregó 0.1 ml de la «suspensión patrón» y se diluyó hasta 150 ml con agua de mar filtrada y temperada, adecuada para cada bioensayo.

Desarrollo embrionario.

Las diferentes etapas del desarrollo embrionario se identificaron, a través de un microscopio compuesto de campo claro Nikon, colocando en una lámina, con bordes de parafina, 3 gotas del cultivo y cubriéndola con una laminilla. Se contaron, por cada vez, 100 embriones en cuatro campos diferentes.

El momento de la mezcla de gametos se consideró como tiempo de inicio del desarrollo y a partir de allí, las observaciones se realizaron cada 30 minutos durante las primeras 8 horas y posteriormente las observaciones se hicieron cada hora, hasta visualizar el estado de larva pluteus.

Se realizaron cinco repeticiones experimentales en el cultivo de 15°C y tres en los cultivos de 5 y 10°C respectivamente. El valor promedio obtenido de la suma total del recuento embrionario por cada rango de temperatura se consideró como el tiempo de duración de cada etapa del desarrollo embrionario

RESULTADOS

Los cigotes iniciaron la segmentación en todos los bioensayos, pero sólo llegaron hasta pluteus los que se mantuvieron a 10 y 15 °C. En la figura 1 se muestra las diferentes etapas del desarrollo embrionario desde cigote hasta pluteus de *Tetrapygus niger* obtenidas en el laboratorio.

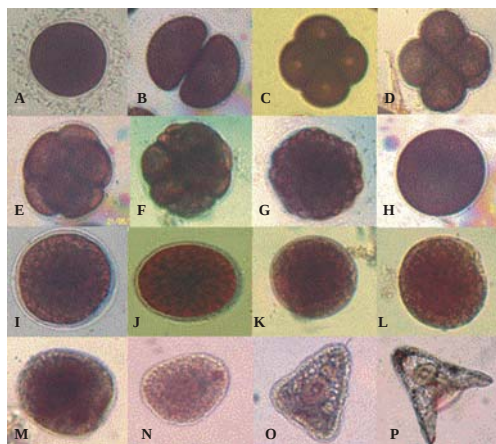


Figura 1: Etapas del desarrollo temprano de *Tetrapygus niger* «Erizo Negro» (400X). A) Zigote B) 2 Células. C) 4 Células. D) 8 Células. E) 16 Células. F) 32 Células. G) Mórula. H) Blástula temprana I) Blástula media. J) Blástula tardía. K) Gástrula temprana. L) Gástrula media. M) Gástrula tardía. N) Prismático. O) Pluteus temprano. P) Pluteus tardío.

En el cultivo a 5°C sólo se logró obtener blástula temprana a las 164 horas después del inicio del desarrollo embrionario (Figura 2), en cambio en el cultivo mantenido a 10°C el desarrollo, desde cigote hasta pluteus se completó a las 345.5 horas (Figura 3), mientras que los que se conservaron a 15 °C llegaron hasta pluteus a las 120 horas (Figura 4).

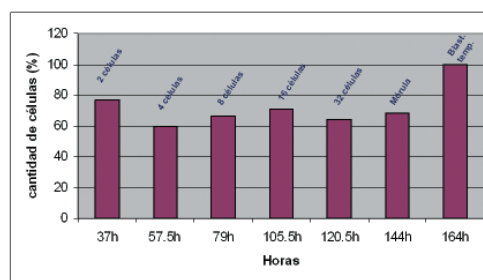


Figura 2: Etapas del desarrollo embrionario de *Tetrapygus niger* «erizo negro» a 5°C

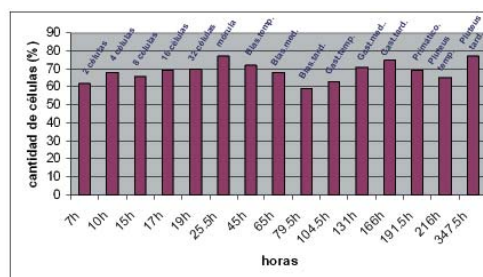


Figura 3: Etapas del desarrollo embrionario de *Tetrapygus niger* «erizo negro» a 10°C

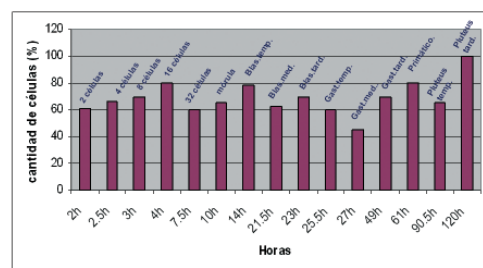


Figura 4: Etapas del desarrollo embrionario de *Tetrapygus niger* «erizo negro» a 15°C

DISCUSIÓN

La temperatura es un factor ambiental que afecta la duración del desarrollo embrionario en el erizo de mar. Se acepta que la entrada del espermatozoide provoca la activación del ovocito, que se expresa a nivel molecular y celular de diferentes maneras. El núcleo espermático se transforma en pronúcleo para que pueda fusionarse con el pronúcleo femenino y se restablezca el número diploide de cromosomas en el núcleo cigótico (Morin et al., 1999). El proceso de activación del ovocito es independiente de la temperatura, sin embargo la duración de los primeros ciclos de segmentación en *Pseudocentrotus depressus* y *Hemicentrotus pulcherrimus*, son dependientes de la temperatura (Yamada & Mihashi 1998). En los bioensayos realizados se observa que el tiempo de los ciclos de segmentación del cigote hasta blástula temprana se alargan con relación a la temperatura, demorando 14 horas en el cultivo de 15°C, 45 horas en el de 10°C y 164 horas los que se mantuvieron a 5°C, lo que evidencia que el desarrollo embrionario de *Tetrapygyus niger* también depende de la temperatura. El embrión de 2-células aparece 37 horas después de la fecundación a 5°C mientras a 10°C ocurre en 7 horas y sólo demora 2 horas en los de 15°C notándose, además, que al incrementar la temperatura el intervalo entre un ciclo de segmentación y el siguiente se hace más homogéneo.

Después de la formación del núcleo cigótico se reinicia rápidamente el ciclo celular, en respuesta a señales que estimulan o inhiben el desarrollo embrionario (Morgan, 1995). Está ampliamente aceptado que las ciclinas y sus respectivas quinasas regulan la progresión del ciclo celular en sus diferentes fases. Las ciclinas D y E tienen un rol fundamental en el desarrollo embrionario del erizo de mar. La ciclina E se localiza en la cabeza del espermatozoide y después de la fusión se distribuye en el citoplasma del

ovocito, sin embargo parece que su activación no es necesaria para la progresión del ciclo celular durante el desarrollo temprano en erizo de mar (Schnackenberg & Marzluff, 2002). Por otro lado, el ARNm de ciclina D aumenta considerablemente en los embriones en la etapa de blástula temprana permaneciendo en un nivel constante a través de la embriogénesis, esto coincide con un incremento de la actividad de cdk4. Si la expresión ectópica del ARNm de la ciclina D ocurre en embriones antes de la etapa de 16-células, se produce la muerte embrionaria (Moore et al., 2002). Al respecto pareciera que la temperatura de 5°C, podría influir en la activación de ciclina D antes de blástula temprana, desorganizando el embrión de *Tetrapygyus Níger* y por lo tanto deteniendo su desarrollo posterior.

En *Echinometra lucunter*, (Sewell. & Young, 1999) se ha comprobado que diferentes rangos de temperatura afectan el desarrollo embrionario y limitan la distribución geográfica de la especie, encontrando que temperaturas mayores a 15°C incrementan las tasas de fecundación y desarrollo embrionario, incluso los estados de blástula, gástrula y larva pluteus sobreviven a temperaturas entre 38 y 40°C, concluyendo que el desarrollo óptimo de esta especie caribeña ocurre entre 27 a 34°C. *Strongylocentrotus droebachiensis* «erizo verde» desarrolla de manera normal a 8 °C, *Strongylocentrotus purpuratus* «erizo púrpura» a 10 °C, *Arbacia purpuratus* a 23°C, (Tyler, 1944) y la temperatura óptima para el desarrollo embrionario temprano de *Tetrapygyus niger* «erizo negro», fluctúa entre 14 a 16 °C. En consecuencia se puede concluir que cada especie de erizo de mar necesita de una temperatura óptima para un desarrollo exitoso desde cigote hasta pluteus y que esta varía de acuerdo al hábitat de cada especie.

LITERATURA CITADA

- BOTTGER., SA Y MCCLINTOCK JB. 2001. The effects of organic and inorganic phosphates on fertilization and early development in the sea urchin *Lytechinus variegatus* Echinodermata: Echinoidea. Comp. Bioch & Phys. (part C) 129: 307-315
- KHURRUM M., HERNANDEZ, ESKALAEI M., BADALI O., COYLE-THOMPSON C. & OPPENHEIMER SB. 2004. Carbohydrate involvement in cellular interactions in sea urchin gastrulation. Acta histochemica 106: 97-106
- MORIN V., DÍAZ F., MONTECINO M., FOTHERGILL-GILMORE L., PUCHI M. & IMSCHENEZKY M . 1999. Poly (ADP-rybosilation) protects maternally derived histones from proteolysis alter fertilization. Biochem J. 343: 95-98.
- MOORE JC., SUMEREL JL., SCHNACKENBERG BJ.,NICHOLS JA., WIKRAMANAYAKE., GARY A., WESSEL M, & MARZLUFF WF. 2002. Cyclin D and cdk4 are required for normal development beyond the blastula stage in sea urchin embryos. Mol &Cell Biol 22: 4863-4875.
- MORGAN, DO. 1995. Principles of CDK regulation. Nature 374:131-134.
- NURSE, P. 1990. Universal control mechanism regulating onset of M-phase. Nature. 344: 543-552
- SCHNACKENBERG BJ. & MARZLUFF WF 2002. Novel localization and possible functions of cyclin E in early sea urchin development J Cell Sci. 115, 113-121.
- SEWELL MS. & YOUNG CM 1999. Temperature limits to fertilization and early development in the tropical sea urchin *Echinometra lucunter*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 236:291-305
- TYLER MS 1994. Echinoid fertilization and development. In Developmental Biology: A guide for experimental study. Sinauer Associates . Publishers; Sunderland, Massachusetts.pp.55-66
- YAMADA K. & MIHASHI K. 1998. Temperature-Independent period Immediately after fertilization in sea urchin eggs. Biol. Bull. 195: 107-III,

**CARACTERIZACIÓN LEUCOCITARIA DEL PEZ AMAZÓNICO
Pterophyllum scalare (Lichtenstein, 1823) (PERCIFORMES: CICHLIDAE) DE
PERÚ**

**José Iannacone¹
Cinthya Bello²
Nancy Hernández²
María Díaz²**

RESUMEN

La Ictiohematología es una herramienta de uso común con fines clínicos en peces de importancia económica, con un menor aporte en la comprensión de la fisiología del organismo en relación con su medio. En este contexto y frente a la escasa información publicada en el Perú de aspectos hematológicos de osteictios, se propuso caracterizar los leucocitos del pez angel *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823) y determinar los valores de referencia cuantitativos. Este pez amazónico exportado como ornamental fue obtenido de un acuario de Lima-Perú. La extracción de la sangre, se llevó a cabo por el método de punción cardiaca, realizándose luego extensiones teñidas con Giemsa y con Wright, y se procedió a realizar el recuento leucocitario. Se relacionaron los parámetros biométricos [longitud estándar (mm), longitud total (mm) y peso (g)] con su caracterización leucocitaria. Los leucocitos, en general, presentaron características similares a las descritas para otros peces. Cuantitativamente, se encontró la siguiente secuencia: linfocitos (61,6%)> monocitos (30,1%)> neutrófilos (4,0%)> eosinófilos (2,1%)> basófilos (1,8%). Los parámetros hematológicos obtenidos son un aporte al conocimiento de esta especie y servirán como base comparativa en futuras aplicaciones.

Palabras claves: Amazonía, leucocitos, parámetros hematológicos, *Pterophyllum scalare*.

SUMMARY

Ichthyohematology is a tool of a common employ for clinical aim in economic important fish, with a used less to knowledge of organism physiology in relation to its environment. In this context and face to scanty information published in Peru related to hematological aspects of bony fishes, characterization of leukocytes of angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823) and determination of reference quantitative values was proposed. This Amazonian fish exported as ornamental was obtained from an aquarium of Lima, Peru. Blood extraction, was performed by cardiac puncture method, and then slides were stained with Giemsa and with Wright, and was proceed a total leukocyte count. Biometric parameters [standard length (mm), total length (mm) and weight (g)] with its total leukocyte characterization were related. Leukocytes, in general, showed characteristics similar to description of other fish. Quantitatively, was found the following sequence: lymphocytes (61.6%)> monocytes (30.1%)> neutrophils (4.0%)> eosinophils (2.1%)> basophils (1.8%). The hematological parameters obtained are important for the specie knowledge and will be useful as a comparative base for future studies.

Key words: Amazonian, leukocytes, hematological parameters, *Pterophyllum scalare*.

¹ Laboratorio de Invertebrados. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma.
e-mail:jiannacone@mail.urp.edu.pe

² Laboratorio de Ecofisiología Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal.

INTRODUCCIÓN

La Ictiohematología puede ser definida, en términos generales, como una disciplina que estudia la sangre de los peces; sin embargo, en términos prácticos esta especialidad estudia las células sanguíneas morfológica, bioquímica y funcionalmente como también los órganos hematopoyéticos, las enfermedades relacionadas con ellos y cualquier fenómeno o patología que relacione las células y/o sus órganos productores. De este modo, las variaciones de los parámetros hematológicos como hematocrito, leucocitos, recuentos celulares y concentración de hemoglobina pueden, entre otros, ser utilizados como indicadores de contaminación o estrés por parasitismo (Örün *et al.*, 2003; Valenzuela *et al.*, 2003; Cancino & Santos de Aráoz, 2004; Aviléz *et al.*, 2006; Franca *et al.*, 2006; Pereira-Maduenho & Martinez, 2006). A su vez, los parámetros hematológicos están siendo utilizados como indicadores fisiológicos de disfunción orgánica por estrés (Örün & Erdemil, 2002; Valenzuela *et al.*, 2002). Así, por ejemplo, la tensión de oxígeno tiene implicancias directas en la regulación de la eritropoyesis de modo que la hipoxia produce, como respuesta aguda, la liberación de eritrocitos por contracción esplénica, causando aumento de policromatófilos (eritrocitos inmaduros) en circulación (Valenzuela *et al.*, 2002); por otra parte, el estrés crónico produce leucopenia y cambios en la fórmula leucocitaria como linfopenia, monocitopenia y neutrofilia (Ueda *et al.*, 2001).

La necesidad de establecer patrones hematológicos en peces surge de su utilidad como referencia para el diagnóstico de cuadros patológicos. Aunque la composición sanguínea de los peces esta determinada genéticamente, también se encuentra bajo la influencia del ambiente en el que habitan los organismos (Cancino & Santos de Aráoz, 2004). Los estudios sobre la hematología de los peces han permitido comprobar experimentalmente que variaciones en las condiciones ambientales como temperatura, salinidad y oxígeno causan modificaciones fisiológicas en los niveles de algunos parámetros sanguíneos (Landman *et al.*, 2005). En

adición, malnutrición, edad, tamaño del pez, diferencias estacionales, pueden ocasionar variaciones en los parámetros hematológicos (Veiga *et al.*, 2000; Örün *et al.*, 2003; Ranzani-Paiva *et al.*, 2003).

Las variaciones de los parámetros hematológicos como hematocrito, leucocito, recuentos celulares y concentración de hemoglobina pueden, entre otros, ser utilizados como indicadores de contaminación; así por ejemplo el estrés crónico produce leucopenia y cambios en la fórmula leucocitaria como linfopenia, monocitopenia y neutrofilia (Villalobos, 2002).

El pez ángel *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823) presenta importancia como pez ornamental amazónico para exportación. Esta especie presenta un cuerpo alto y comprimido en forma romboide con la boca sobresalida. La talla que alcanza en cautiverio es de 15 cm de longitud y 25 cm de alto. *P. scalare* requiere aguas ligeramente ácidas (Acuanovel, 2006). La temperatura más adecuada se encuentra entre los 28°C y 30°C. Esta especie presenta dimorfismo sexual, el cual es casi inexistente fuera de la época de cría, aunque se puede apreciar que el macho tiene un perfil corporal más redondeado que la hembra y una frente más abultada. Se han realizado varias investigaciones sobre el comportamiento y el parasitismo en el pez ángel bajo condiciones de laboratorio (Yamamoto *et al.*, 1999; Gómez-La Plaza & Morgan, 2003, 2005; Thilakarathne *et al.*, 2003; Cacho *et al.*, 2006).

Sobre *P. scalare* se ha desarrollado un creciente interés por utilizarlo como bioindicador de contaminación química en el Perú. Sin embargo, el conocimiento hematológico de peces ornamentales amazónicos en el Perú es muy escaso, lo cual crea la necesidad de aumentar el conocimiento de esta especie, obteniendo datos que puedan ser utilizados en su manutención tanto en su ambiente natural como en cautiverio y, además, servir como referencia para futuras investigaciones experimentales en el campo de la hematología comparada y otras disciplinas. El objetivo de este trabajo fue establecer el recuento leucocitario del pez ángel *P.*

scalare, y determinar su valores de referencia cuantitativos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dieciséis ejemplares del pez amazónico ornamental *P. scalare* se adquirieron del acuario «Cleo» en el distrito de Lince, Lima-Perú en el mes de Junio del 2006. Luego se procedió a su transporte al laboratorio de Ecofisiología Animal de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Univerdad Nacional Federico Villarreal. La temperatura fluctuó entre 19 a 24°C. Los peces fueron colocados en agua de grifo declorinada con las siguientes características fisico-químicas: pH = 7,2; Conductividad eléctrica = 0,86 dS m⁻¹; Calcio = 123,6 mg L⁻¹; Magnesio = 15,3 mg L⁻¹; Potasio = 3,90 mg L⁻¹; Sodio = 4,70 mg L⁻¹; Nitratos = 3,10 mg L⁻¹; Bicarbonatos = 216,5 mg L⁻¹; Sulfatos = 110,4 mg L⁻¹; Cloruros = 85,1 mg L⁻¹; Boro = 0,5 mg L⁻¹; Dureza cálcica = 362 mg L⁻¹.

A cada ejemplar, se determinó el sexo, se registró la longitud total (Lt en mm), longitud estándar (Ls en mm) y el peso corporal (P en g). Posteriormente, se les anestesió con Lidocaína al 2% (Xilocaina®), y después de 5 min se procedió a tomar muestras de sangre mediante el método de punción cardiaca. Se tomaron muestras de sangre para realizar los dos frotis sanguíneos. Posteriormente se realizaron los estudios leucocitarios. A cada ejemplar de *P. scalare* se le extrajo una gota de sangre confeccionando dos extendidos sobre portaobjetos. Una lámina fue coloreada con Giemsa y la otra con Wright. Los diferentes leucocitos fueron observados al microscopio óptico con un aumento de 1000x. Se realizó el recuento leucocitario de un total de 100 células (Örün & Erdemil, 2002). Finalmente se obtuvieron 15 láminas coloreadas con Giemsa y 13 con Wright.

Para los valores del recuento leucocitario obtenidos y para los parámetros biométricos se realizó el cálculo de su media y de su desviación estándar. Además se empleó el coeficiente de correlación lineal de Pearson (r), entre los parámetros biométricos y el número de leucocitos caracterizados. Se comparó si el número de los diferentes tipos

de leucocitos era diferente entre los machos y las hembras empleando la prueba de t de student. En adición, se usó la prueba de t de student para datos pareados para comparar si existen diferencias entre el recuento de leucocitario entre la coloración Giemsa y Wright. Se empleó el paquete estadístico SPSS, versión 12,00 para Windows 98 para el cálculo de los estadísticos descriptivos e inferenciales.

RESULTADOS

En el frotis sanguíneo realizado con los colorantes Giemsa y Wright para el recuento leucocitario de *P. scalare* se identificaron cinco tipos celulares (Tabla 1). A continuación se describen algunas características observadas en las cinco células leucocitarias:

Linfocitos: células redondeadas-esféricas, de forma irregular cuyo núcleo ocupa gran parte del citoplasma. Presentan cromatina condensada en grumos. El citoplasma es escaso, con algunas prolongaciones e intensamente basófilo. Se observaron linfocitos grandes y pequeños.

Monocitos: células grandes y esféricas con expansiones citoplasmáticas. Gran núcleo excéntrico con cromatina laxa y de citoplasma basófilo.

Neutrófilo: corresponden a granulocitos polimorfonucleares (PMN), generalmente con núcleo excéntrico, y lobulado. Cromatina condensada en grumos y citoplasma con finas granulaciones, con cuerpos basófilos.

Eosinófilo: células redondas pequeñas de núcleo excéntrico lobulado y con gránulos eosinófilos esféricos citoplasmáticos en bastón recto o curvo. Cromatina laxa.

Basófilo: células abastionadas con citoplasma basófilo.

Cuantitativamente, se encontró la siguiente secuencia promedio: linfocitos (61,6%)> monocitos (30,1%)> neutrófilos (4,0%)> eosinófilos (2,1%)> basófilos (1,8%) (Tabla 1). Tampoco se observó que los recuentos porcentuales de células leucocitarias (linfocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos) fueran diferentes según las técnicas de coloración empleadas (Giemsa y Wright) (Tabla 1).

Para la mayoría de los casos no se encontraron correlaciones significativas entre la Lt, Ls y el P con cada uno de los parámetros del recuento leucocitario ($P > 0,05$). Sin embargo, se encontró correlación positiva entre la Lt y el recuento de linfocitos en Wright ($r = 0,67$; $p = 0,02$). P se encontró relacionado positivamente con el recuento de basófilos en Wright ($r = 0,86$; $p = 0,001$). El aumento de linfocitos en Giemsa estuvo negativamente relacionado con el número de monocitos en Giemsa ($r = -0,84$; $p = 0,00$). El mismo patrón se observó en Wright ($r = -0,71$; $p = 0,01$). El porcentaje de basófilos en Giemsa presentó una correlación positiva con el número neutrófilos en Giemsa ($r = 0,84$; $p = 0,00$). No existieron diferencias entre los peces machos ($n = 9$) y hembras ($n = 7$) con relación a ninguno de los tres parámetros biométricos y para el porcentaje de los diferentes tipos de leucocitos (Tabla 2). La única excepción fue observar un mayor número de monocitos en la coloración Giemsa en los machos (Tabla 2).

DISCUSIÓN

Las células sanguíneas de los frotis que analizamos en las lecturas fueron similares morfológicamente a las descritas para *Shroedenchthys chilensis* (Guichenot, 1848) (Filho *et al.*, 1992; Valenzuela *et al.*, 2003), *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 (Veiga *et al.*, 2000; Ranzani-Paiva *et al.*, 2003) y *Chaetodipterus faber* (Broussonet, 1782) (Bastardo & Barberán, 2004). En el recuento se observó un predominio de los linfocitos, lo cual es concordante con lo encontrado en otros peces teleósteos como *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803, *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795), *Mugil platanus* Günther 1880 y *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Örüm & Erdemil, 2002; Ranzani-Paiva *et al.*, 2003; Valenzuela *et al.*, 2003). Los trombocitos no han sido identificados en el presente estudio, posiblemente debido a que frecuentemente son confundidos con los linfocitos y considerados un solo grupo al ser difícil su identificación (Ueda *et al.*, 2001). Estos últimos autores recomiendan

el empleo de la citoquímica como una herramienta para la identificación de los trombocitos y linfocitos. Tavares-Dias (2006) señala procedimientos citoquímicos para la diferenciación de los basófilos.

Los valores del recuento leucocitario entre individuos de la misma especie y entre otras especies son variables. Entre los factores que alteran estos parámetros se citan la dieta, el linaje, la edad, el sexo, la estación del año, la cantidad de oxígeno disuelto, la madurez sexual y métodos de muestreo empleado (Cancino & Santos de Araújo, 2004). En el pez ángel, se encontró un mayor recuento porcentual de monocitos en machos que hembras. Örüm & Erdemil (2002) encontraron para el pez *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) (Cyprinidae) un mayor número de monocitos en las hembras que en los machos. En otros tres peces ciprinidos *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782), *Chalcalburnus mossulensis* (Heckel, 1843) y *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843) se observó un mayor número de monocitos en hembras que en machos, atribuyéndosele al incremento de la actividad reproductiva y desarrollo gonadal, así como a mecanismos de defensa del pez por infecciones parasitarias (Örüm *et al.*, 2003; Ranzani-Paiva *et al.*, 2003).

Örüm & Erdemil (2002) encontraron que el aumento de la longitud del pez *C. trutta* está relacionada con una disminución del número de linfocitos. En el presente trabajo en peces ángel de tamaño promedio pequeño, se encontró un modelo opuesto, es decir un aumento de los linfocitos con el aumento de la Lt. En cambio, Ranzani-Paiva *et al.* (2003) encontró que la longitud total de *S. maxillosus* no influyó las variables hematológicas.

Algunos autores recomiendan no anestesiarse a los peces antes de la toma de las muestras de sangre para recuento leucocitario pues pudiera afectar los resultados obtenidos (Örüm & Erdemil, 2002). Por ende, este procedimiento realizado pudiera influenciar los resultados obtenidos para los parámetros de recuento de leucocitos totales en el pez ángel.

Los resultados del presente estudio pudieran ser útiles en obtener valores estándar para parámetros hematológicos de *P. scalare*.

CONCLUSIONES

En *P. scalare*, los leucocitos, en general, presentaron características similares a las descritas para otros peces. Cuantitativamente, se encontró la siguiente secuencia: linfocitos (61,6%)> monocitos (30,1%)> neutrófilos (4,0%)> eosinófilos (2,1%)> basófilos (1,8%). Mayormente no se observó variación de los parámetros leucocitarios con el sexo y con el crecimiento de los peces.

LITERATURA CITADA

- AQUANOVEL. 2006. Revista de acuariofilia marina y acuarios de agua dulce. Disponible en: <http://www.aquanovel.com/> leído 15 de Julio del 2006.
- AVILÉZ, I.M.; HORI, T.F.S.; HONORATO, C.A.; CUNHA-BASTOS, J.; CUNHA-BASTOS, V.L.F. y MORAES, G. 2006. Efeitos tóxicos do fenol em eritrócitos de *Brycon cephalus*, matrinxã (Pisces, Characidae). p. 119. IX Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. 03 a 06 de julho de 2006, São Pedro, SP, Brasil.
- BASTARDO A. y BARBERÁN, R. 2004. Parámetros hematológicos de la paragua, *Chaetodipterus faber* (Broussonet) (Pices: Ehippidae), en condiciones de cultivo. *Zootecnia Tropical*. 22: 361-370.
- CACHO, M.S.R.F.; CHELLAPPA, S. y YAMAMOTO, M.M. 2006. Reproductive success and female preference in the amazonian cichlid angel fish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). *Neotropical Ichthyology*. 4: 87-91.
- CANCINO, F. y SANTOS DE ARÁOZ, V. 2004. Parámetros hematológicos de *Astyanax abramis* (Jenyns, 1842) (Characiformes, Characidae) del embalse Río Hondo, Santiago del Estero-Tucumán. *Acta zoológica lilloana*. 48: 81-89.
- FILHO, W.; EBLE, G.J.; KASSNER, G.; CAPRARIO, F.X.; DAFRE, A.L. y OHIRA, M. 1992. Comparative hematology in marine fish. *Comp. Biochemical Physiology and Comparative Physiology*. 102: 311-321.
- FRANCA, J.G.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; LOMBARDI, J.V.; SERIANI, R.; CARVALHO, S. & ANDREGHETTO, F.M. 2006. Avaliação do efeito do selênio sobre a ação subletal do cloreto de mercúrio em tilapia, *Oreochromis niloticus*, através de análises hematológicas. p. 105. IX Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. 03 a 06 de julho de 2006, São Pedro, SP, Brasil.
- GÓMEZ LAPLAZA, L.M. y MORGAN, F. 2003. The influence of social rank in the angelfish, *Pterophyllum scalare*, on locomotor and feeding activities in a novel environment. *Laboratory Animal*. 37: 108-120.
- GÓMEZ LAPLAZA, L.M. y MORGAN, F. 2005. Time-place learning in the angelfish, *Pterophyllum scalare*. *Behavior Processes*. 70: 177-181.
- LANDMAN, M.J.; VAN DEN HEUVEL, M.R.; FINLEY, M.; BAÑÓN, H.J. y LING, N. 2005. Combined effects of pulp and paper effluent, dehydroabietic acid, and hypoxia on swimming performance, metabolism, and hematology of rainbow trout. *Ecotoxicology Environmental Safety*. (En prensa).
- ÖRÜN, I.; DÖRÜCÜ, M. y YAZIAK, H. 2003. Haematological parameters of three cyprinid fish species from Karakaya Dam Lake, Turkey. *OnLine Journal of Biological Sciences*. 3: 320-328.
- ÖRÜM, I. y ERDEMIL, A. U. 2002. A study of blood parameters of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). *OnLine Journal of Biological Sciences*. 2: 508-511.
- PEREIRA-MADUENHO, L. y MARTINEZ, C.B. R. 2006. Efeitos hematológicos, iónicos e metabólicos do inseticida dimilin para o peixe neotropical *Prochilodus lineatus*. p. 41. IX Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. 03 a 06 de julho de 2006, São Pedro, SP, Brasil.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T.; RODRIGUEZ, E.L.; VEIGA, M.L.; EIRAS, A.C. y CAMPOS, B.E.S. 2003.

- Differential leukocyte counts in «dorado» *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, from the mogiguacu river, Pirassununga, SP. *Brazilian Journal of Biology*. 63: 517-525.
- TAVARES-DIAS. 2006. Cytochemical method for staining fish basophils. *Journal of Fish Biology*. 69: 312-317.
- THILAKARATNE, I.D.; RAJAPAKSHA, G.; HEWAKOPARA, A.; RAJAPAKSE, R.P. y MAIZAL, A.C. 2003. Parasitic infection in freshwater ornamental fish in Sri Lanka. *Disease of Aquatic Organism*. 54: 157-162.
- UEDA, I.K.; EGAMI, M.I.; SASSO, W.S. y MATUSHIMA, E.R. 2001. Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis (Tilapia) niloticus*. (Linnaeus, 1758) (Cichlidae: Teleostei)- Part II. *Brazilian Journal of Veterinary Research in Animal Science*. 38: 273-277.
- VALENZUELA, A.; ALVEAL, K. y TARIFEÑO, E. 2002. Respuesta hematológica de truchas (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) a estrés hipóxico agudo: serie roja. *Gayana*. 66: 255-261.
- VALENZUELA, A. C., OYARZÚN, C. y SILVA, V. 2003. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): la serie Blanca. *Gayana*. 67: 130-136.
- VEIGA, M.L.; EGAMI, M.I.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. y RODRIGUES, E.L. 2000. Aspectos morfológicos y citoquímicos de las células sanguíneas de *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 (Characiformes, Characidae). *Revista Chilena de Anatomía*. 18: 245-250.
- VILLALOBOS, O. 2002. Pez Ángel o Escalar (*Pterophyllum scalare*) ACUARAMA. N°3. Disponible en: http://c.1asphost.com/aavforo/ACUARAMA_N_3.pdf leído el 15 de Julio del 2006.
- YAMAMOTO, M.E.; CHELLAPPA, S.; CACHO, M.S.R.F. y HUNTINGFORD. 1999. Mate guarding in an amazonian cichlid, *Pterophyllum scalare*. *Journal of Fish Biology*. 55: 888-891.

Tabla 1. Recuento leucocitario bajo coloración por Giemsa y Wright en *P. scalare*.

Leucocitos	M total %	Wright*	Giemsa*	t	P
		M % ± DE	M % ± DE		
Linfocitos	61,6	54,8±10,5	58,6±12,8	1,44	0,18
Monocitos	30,5	35,6±12,8	31,1±13,5	1,80	0,10
Neutrófilos	4,0	4,9±3,7	4,3±5,0	0,45	0,66
Eosinófilos	2,1	2,2±3,7	1,2±1,3	0,86	0,41
Basófilos	1,8	1,6±2,5	2,6±4,0	1,06	0,31

M = Promedio. DE=Desviación estándar. t=t de Student para muestras pareadas. P=Probabilidad. *= Coloración

Tabla 2. Parámetros leucocitarios y biométricos en machos y hembras de *P. scalare*.

	Macho	Hembra	t	P
Lt (mm)	23,8±8,1	20,4±3,5	0,90	0,38
Ls (mm)	19,8±5,9	16,4±4,3	1,14	0,27
P (g)	0,42±0,49	0,36±0,30	0,21	0,83
Linfocito (%) G	54,5±10,9	68,8±14,4	2,03	0,06
Linfocito (%) W	61,0±17,2	62,3±10,6	0,12	0,90
Monocito (%) G	38,5±12,7	20,6±9,2	2,71	0,02*
Monocito (%) W	28,8±17,7	28,0±7,8	0,08	0,93
Neutrófilo (%) G	3,3±3,1	4,8±4,9	0,65	0,53
Neutrófilo (%) W	4,4±5,7	3,0±1,7	0,39	0,70
Eosinófilo (%) G	1,2±2,3	4,6±4,6	1,74	0,11
Eosinófilo (%) W	1,2±2,1	2,6±1,1	1,11	0,29
Basófilo (%) G	1,1±1,8	1,4±3,1	0,20	0,84
Basófilo (%) W	1,8±3,5	4,0±5,3	0,83	0,42

G = Coloración Giemsa. W = Coloración Wright. t = t de Student. P =Probabilidad * = Significativo.

MANEJO COMUNAL DE FAUNA SILVESTRE EN EL PARQUE NACIONAL CORDILLERA AZUL, SAN MARTÍN - PERÚ

Jorge Watanabe Sato¹

RESUMEN

Situado entre los ríos Huallaga y Ucayali, el Parque Nacional Cordillera Azul (PNCAZ), fue establecido el 2001, abarcando más de 1,3 millones de hectáreas. Para iniciar el desarrollo del programa y sus actividades, se realizaron previamente revisiones de información, como la obtenida del Mapeo de Usos y Fortalezas (MUF), de investigaciones de usos de recursos desarrolladas en la zona de amortiguamiento del parque y de la realidad local de las comunidades involucradas. En este primer año de manejo, el programa se desarrolla con la participación de dos sectores, estos son Shamboyacu y Pikiyacu, además se tuvieron avances importantes en los sectores de Chazuta, Cushabatay y en menor medida en el sector de Pucayacu. La metodología del programa de manejo comunal de fauna presentó los siguientes pasos: 1) evaluación, 2) recopilación y análisis de información básica, 3) diseño, 4) identificación de usuarios y de áreas de uso, 5) elaboración de las normas de uso, 6) elaboración de la propuesta del manejo comunal, 7) implementación de las actividades de manejo, 8) monitoreo del proceso y, 9) análisis de los resultados.

Se espera que el parque y la zona de amortiguamiento podrían ser conocidos por la gente local como un sistema de fuente-sumidero, con el PNCAZ proporcionando fuentes de poblaciones de fauna que podrían ser aprovechadas dentro de la zona de amortiguamiento (sumidero).

Palabras claves: *zona de amortiguamiento, manejo comunal, sostenibilidad.*

SUMMARY

Located between the rivers Huallaga and Ucayali, the National Park Blue Mountain range, was established the 2001, including more than 1.3 million hectares. In order to initiate the development of the program and its activities, revisions of information were made previously, like the obtained one from the Mapeo de Usos and Fortalezas (MUF), of investigations uses of resources developed in the zone of damping of the park and the local reality of the involved communities. In this first year of handling, the program is developed with the participation of two sectors, these are Shamboyacu and Pikiyacu, in addition important advances in the sectors of Chazuta, Cushabatay and to a lesser extent in the sector of Pucayacu were had. The process of the handling program presented displayed the following steps: 1) evaluation, 2) compilation and basic analysis of information, 3) design, 4) identification of users and areas of use, 5) elaboration of the use norms, 6) elaboration of the proposal of the communal handling, 7) implementation of the handling activities, 8) monitored of the process and, 9) analysis of the results. One hopes that the park and the zone of damping could be known by agricultura, sino también por actividades de caza, pesca y extracción maderera como una manera de subsistencia.

Key Words: *zone of damping, commural handling, sostenibility.*

¹ Centro de Conservación, Investigación y Manejo de Áreas (CIMA)

E-mail: jwatanabesato@hotmail.com Jr. Huiracocha 1775, Jesús María - Lima, Perú

INTRODUCCIÓN

Como parte de la información de diagnóstico socio-económico para la elaboración del Plan Maestro del Parque Nacional Cordillera Azul, desarrollamos el mapa de uso actual de recursos, que incluye información sobre uso de fauna silvestre en las comunidades vecinas al parque, que ha servido como base para el diseño de las actividades de manejo de fauna.

La estrategia del plan de manejo comunal de fauna dentro y fuera del parque, es la participación de los pobladores locales (comunidades rurales, ribereñas y nativas) y sus particularidades socio-culturales en las propuestas de implementación y desarrollo de las actividades. De esta forma el programa se interiorizó entre los pobladores, elevando su importancia como estrategia de conservación. Se partió de una propuesta externa a las comunidades, pero evitándose en el diseño, manipulaciones, imposiciones y decisiones externas; pero por otro lado se respetó las normas y reglamentaciones vigentes, referente a las áreas naturales protegidas y la fauna silvestre (Watanabe, 2005).

La tarea de implementación gradual y participativa del plan de manejo, con miras a establecer alianzas con las comunidades, tiene como fin la recuperación progresiva de las poblaciones de fauna al interior del parque (Gavin, 2002). De esta forma, las poblaciones de fauna recuperada servirían de suministro o fuente para repoblar las áreas de uso de las comunidades en la zona de amortiguamiento, en base al modelo de «fuente-sumidero» (Novaro et al., 2000).

ÁREA DE MANEJO

Las actividades de manejo se realizan dentro de la denominadas zonas de recuperación propuestas según el Plan Maestro del PNCAZ (CIMA, 2004) y de la zona de amortiguamiento colindante con las comunidades. En este sentido el área es compatible tanto con el uso sostenible de los recursos naturales con fines de subsistencia, como con el desarrollo de

actividades enmarcadas en este manejo comunal elaborado con la participación de la población local.

El programa de manejo comunal de fauna silvestre se desarrolla actualmente con la participación de las comunidades del sector Shamboyacu y Pikiyacu, ubicadas en el lado noroeste de la zona de amortiguamiento del PNCAZ. Además se viene iniciando acciones en otros sectores del parque, con la finalidad de replicar esta experiencia.

El primer sector de trabajo, agrupa a las comunidades ubicadas en el valle del Ponasa, en el distrito de Shamboyacu, provincia de Picota, departamento de San Martín, en la zona amortiguamiento del PNCAZ. El segundo sector de trabajo se encuentra ubicado en el valle del Pikiyacu, en el distrito del Alto Biavo, provincia de Bellavista, departamento de San Martín, en la zona de amortiguamiento del PNCAZ (Figura 1).

METODOLOGÍA

Las acciones iniciales para diseñar participativamente las actividades de manejo comunal de fauna silvestre, se basaron en la información del MUF (Mapeo de Usos y Fortalezas), la cual es una metodología participativa diseñada para la recolección de datos, la cual fue realizada en 53 comunidades vecinas al parque. Esta herramienta permitió (1) reunir información cualitativa y cuantitativa sobre los patrones de uso de recursos, y (2) realizar un mapeo de las áreas de caza y pesca dentro y fuera del parque (Wali et al., 2004).

Se desarrollaron talleres de Visión del Plan Maestro, donde se recogieron las expectativas de la población vecina con respecto a los servicios ambientales y bienes que brinda el parque, a fin de consolidarla en una visión general sobre sus comunidades. Para validar el interés de las comunidades, se desarrollaron los Acuerdos Azules, los cuales son compromisos de conservación entre el Parque y las comunidades vecinas, orientadas al uso compatible de los recursos y la protección del parque.

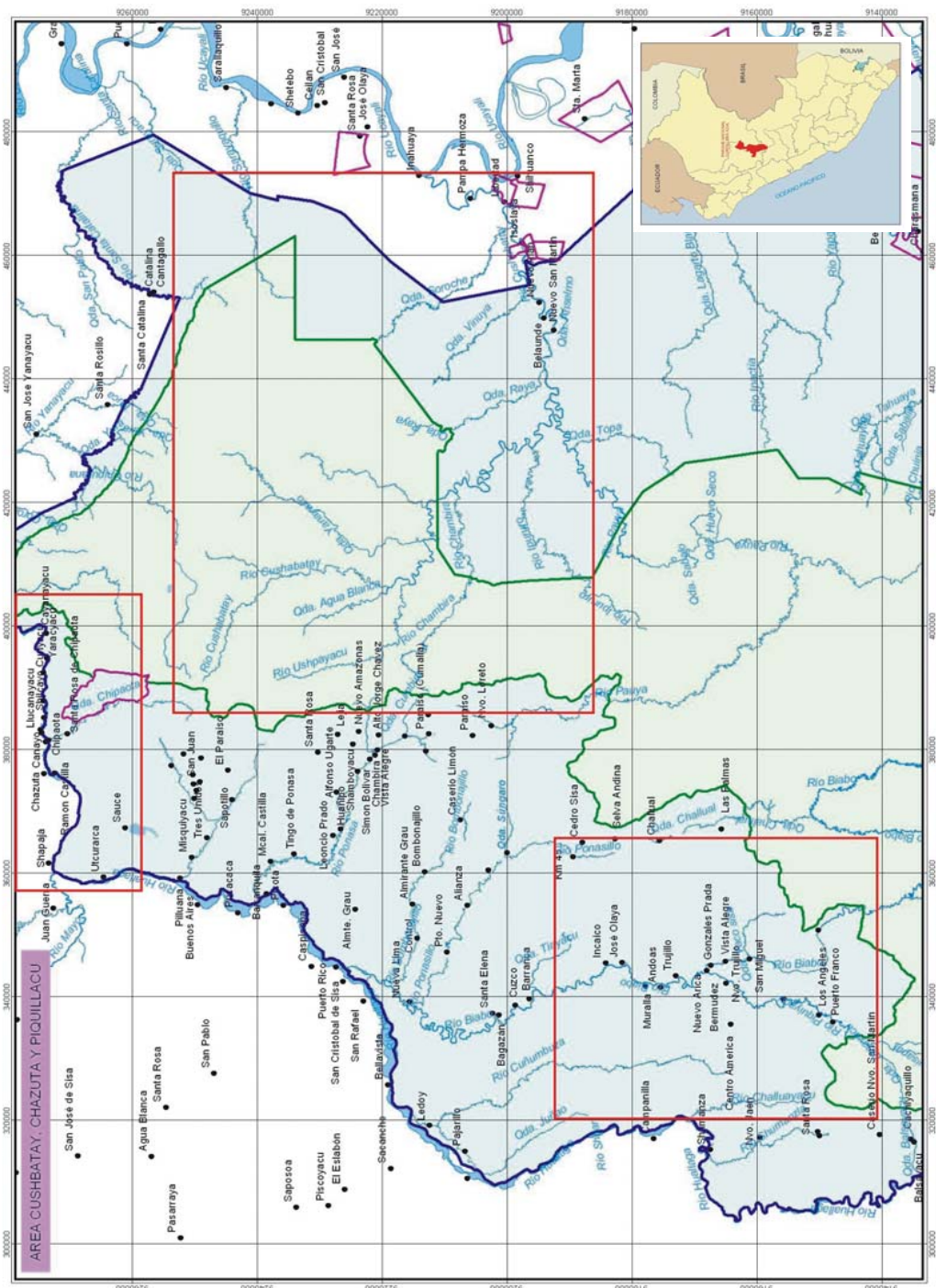


Figura 1. Mapa del Parque Nacional Cordillera Azul mostrando las zonas de trabajo.

La metodología empleada en este plan de manejo comunal de fauna, presenta los siguientes pasos: 1) evaluación, 2) recopilación de información básica, 3) diseño, 4) identificación de usuarios y de áreas de uso, 5) elaboración de las normas de uso, 6) elaboración de la propuesta del manejo comunal, 7) implementación de las actividades de manejo, 8) monitoreo del proceso y, 9) análisis de los resultados.

Para calcular la cuota de extracción sustentable de animales en las áreas de uso, utilizamos el modelo de cosecha sostenible de Robinson y Redford (1991), basado en los conceptos de producción máxima, entendida como la producción (animales por kilómetro cuadrado) generada durante un año por una población silvestre bajo condiciones ambientales y extracción sustentable óptimas, alcanzada únicamente si la producción durante ese año alcanzó niveles máximos (Zapata, 2001).

RESULTADOS

En este artículo presentaremos los datos obtenidos por las comunidades del sector Shamboyacu. Estas comunidades utilizan las áreas de manejo, localizadas en la zona de recuperación del parque, a lo largo de la cuenca del Río Ushpayacu y presenta cinco áreas de uso (caza y pesca), teniendo éstas una extensión de 51 kilómetros cuadrados, las mencionadas áreas son las siguientes: Avejaico-Muquichal (5 km²), Hueco-Gavicho (15 km²), Satalaya-Flores (7 km²), Varadero-Aguanal (10 km²) y Tenazoa-Huascayacu (14 km²).

El manejo comunal de fauna silvestre está siendo desarrollado por los pobladores de las comunidades de Nuevo Amazonas, Lejía, Simón Bolívar, Chambira, Vista Alegre, Alto Jorge Chávez, Paraíso y Alto Ponasa (Watanabe, 2004).

Los pobladores locales cuentan con áreas permitidas para el uso de fauna, áreas de protección (no uso), animales permitidos, cuotas de caza, calendarios de caza y pesca, y formularios de registro. Por otro lado se han elaborado diversos materiales de información, lo cuales fueron

proporcionados a los pobladores locales; entre ellos tenemos, láminas de fauna silvestre, mapas detallados de la zona, poster de las fases del trabajo, entre otros. Los registros de caza indican un estimado anual de 113 animales cazados en las áreas de uso del parque y de 226 animales cazados en la zona de amortiguamiento. Las ocho comunidades del sector involucradas en este proceso cazan con mayor frecuencia en las áreas de uso del parque, los ungulados (66.3%) y las aves (17.7%). Entre los ungulados, la especie más cazada es *Tayassu pecari* con 32 animales/año y entre las aves, la más cazada es *Penelope jacquacu* con 13 animales/año (Tabla 1). En términos de biomasa, fueron extraídos 2123.9 kg/año de las áreas de uso del parque y de 2678.2 kg/año de la zona de amortiguamiento. Siendo la especie que contribuyó con la mayor biomasa el *Tayassu pecari* con 937.6 kg/año en las áreas de uso del parque y 1230 kg/año en la zona de amortiguamiento (Tabla 1).

Del total de especies cazadas, seis (mamíferos) se tomaron en cuenta con el modelo de cosecha de Robinson y Redford (1991), las cuales son especies permitidas para la caza dentro de las áreas de uso del parque. En todos los casos la cuota de cosecha potencial sostenible es menor que la tasa de extracción real, lo que sugiere que la caza de estas especies es sustentable (Tabla 2).

En cuanto a la pesca, este manejo de fauna dio resultados positivos, en cuanto a la eliminación de tóxicos y explosivos como herramientas de uso. Los usuarios utilizaron como artes de pesca, anzuelos, tarrafas y redes de diámetros adecuados. Los peces mayormente extraídos fueron, carachamas, boquichicos, mojaras, añashuas, yulillas y bagres.

Los usuarios se registraron en el Puesto de Control, antes de ingresar a las áreas de uso del parque. De la misma forma a su salida proporcionaron información de su cosecha a los Guardaparques. Los facilitadores fueron los responsables de registrar la información de cosecha de caza y pesca en sus respectivas comunidades.

En otros sectores, las comunidades del sector Pikiyacu, utilizan el área de manejo, localizado en la zona de recuperación del parque, abarcando parte de la cuenca del río Pikiyacu y presenta una zona de uso (caza y pesca), teniendo esta una extensión de 10 km².

El manejo comunal de fauna silvestre en este sector se desarrolla por las comunidades de Los Ángeles, Nuevo Trujillo y Puerto Franco. Además, se tiene avances significativos en los sectores de Chazuta (noroeste del parque), Pucayacu (suroeste del parque) y Cushabatay (noreste del parque). En Chazuta, se ubican las comunidades de Ramón Castilla, Santa Rosa de Chipaota, Canayo y Callanayacu. En el sector de Cushabatay se encuentran ubicadas las comunidades nativas de Libertad e Isolaya, así como las comunidades ribereñas de Nuevo Álan, Belaunde y Nuevo San Martín. Por último, en el sector Pucayacu se ubican las comunidades de Maronilla, Consuelo, Nuevo San Martín y Gossen.

DISCUSIÓN

La participación de los pobladores locales y el intercambio de información en el diseño e implementación de las acciones de manejo comunal de fauna, es muy importante para la adecuada consecución de los objetivos trazados.

En términos generales, los cazadores respetaron las normas de uso, esto se reflejó por ejemplo en la disminución de la cosecha en primates, el cual se produjo en dos oportunidades dentro del año de manejo, en comparación de años anteriores, donde la cacería en estas especies era intensiva y notoria.

Mediante las capacitaciones oportunas brindadas a las autoridades y pobladores locales, las actividades de manejo comunal de fauna se desarrollaron adecuadamente. Los pobladores locales siguen interesados y motivados en continuar con este proceso y seguir participando junto al equipo técnico y el Parque, en estas acciones de manejo.

El manejo comunal de fauna es una estrategia que no fue aplicada de la misma manera en las diferentes comunidades que participan actualmente, se consideró que cada comunidad y sector de trabajo, tenía condiciones únicas, las cuales se tuvieron en cuenta al momento de iniciar las actividades de diseño del plan de manejo comunal de fauna.

La inclusión de aspectos biológicos y productivos al programa, sumado al contexto socio-cultural de las comunidades, garantizarán la viabilidad de las actividades de manejo y se mantendrá una relación armoniosa entre los pobladores locales, los ecosistemas y la fauna silvestre.

Los registros de caza y pesca, permitieron recopilar cualitativa y cuantitativamente el nivel de uso y áreas de extracción de los animales de caza y pesca. Basados en esta información, la cual debe ser sistematizada y analiza constantemente, se puede tomar las medidas correctivas del caso, evitando sobre explotación de la fauna silvestre. Por otro lado, la falta de registros de animales cazados y la cacería furtiva aún presente en la zona, permiten sugerir que las poblaciones de las especies mencionadas (Tabla 2), se estarían cazando en mayor cantidad, por lo cual los datos mencionados serían subestimaciones.

El modelo de cosecha de Robinson y Redford (1991) es útil como una herramienta de primera mano para guiar las primeras acciones de manejo comunal en áreas donde es necesario combinar el uso y la conservación de la fauna silvestre. Las imposiciones estatales y externas, no funcionan, el proceso participativo desarrollado en este programa, establece resultados positivos y augura la continuidad de las actividades a largo plazo.

El manejo comunal de fauna silvestre debe ser un proceso continuo, que se debe extender en el tiempo y convertirse en una actividad permanente dentro de las comunidades. Se espera que este modelo de manejo, puesto en marcha inicialmente en 11 comunidades, pueda ser replicado en otras alrededor del parque.

AGRADECIMIENTOS

Nuestra mayor consideración a las autoridades y pobladores de las comunidades del valle del Ponasa y Pikiyacu, por su dedicación, amabilidad y apoyo en este programa. A los pobladores de la comunidad de Canayo por la confianza depositada en el responsable del programa y por la grata experiencia adquirida durante el desarrollo de las acciones de manejo. Agradecemos de igual forma a los Guardaparques que colaboraron en las diferentes actividades del programa. Mi sincero reconocimiento a Miguel Vásquez, compañero e infatigable colaborador de campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CENTRO DE CONSERVACIÓN, INVESTIGACIÓN Y MANEJO DE AREAS NATURALES (CIMA). 2004. Plan Maestro del Parque Nacional Cordillera Azul. Perú. Pp 6.

GAVIN, M. 2002. An Assessment of forest use value in the Northern Peruvian Amazon. Connecticut University. United State American.

NOVARO, A. J., K. H. REDFORD & R. E. BODMER 2000. Effect of Hunting

in Source-Sink Systems in the Neotropics. *Conservation Biology* 14: 713-721.

WALI, A., J. CHIRA & H DEL CAMPO. 2003. Reporte final sobre el mapeo de usos y fortalezas del Parque Nacional Cordillera Azul. Perú. Pp 4.

WEBB, R. & G. FERNÁNDEZ (2001). Perú en Número. Instituto Cuanto. Lima.

WATANABE, J. 2004. Actividades de Manejo Comunal de Fauna Silvestre en el Sector Noroeste del Parque Nacional Cordillera Azul. Centro de Conservación, Investigación y manejo de Areas (CIMA). Perú. Pp. 5.

WATANABE, J. 2005. Diagnóstico del Programa de Manejo Comunal de Fauna Silvestre en el Parque Nacional Cordillera Azul y Zona de Amortiguamiento. Perú. Pp. 2.

ZAPATA, J. 2001. Sustentabilidad de la Cacería de Subsistencia: El Caso de Cuatro Comunidades Quichuas en la Amazonía Nororiental Ecuatoriana. *Journal Neotropical Mammal*, 8 (1) 59-66.

ROBINSON, J. & H. REDFORD. 1991. Uso y Conservación de la Vida Silvestre Neotropical. Chicago. Pp. 485-501.

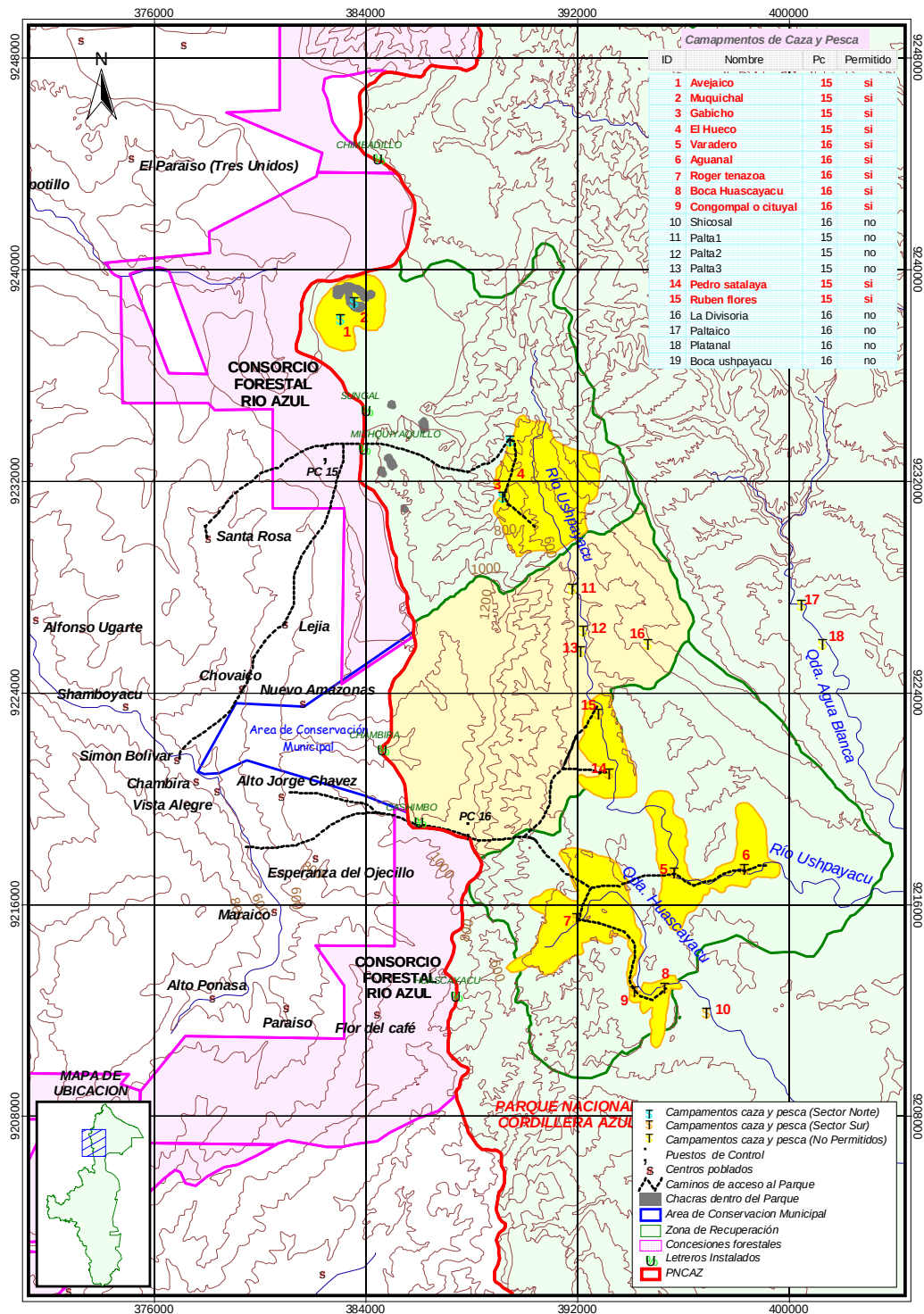


Tabla 1. Especies cazadas en las áreas de uso del parque y en la zona de amortiguamiento, durante los meses de octubre 2004 a setiembre 2005 (Sector Shamboyacu).

Especies	Peso	Cosecha Real		Biomasa	
	(Kilos)	(Número de Individuos)		(Kg)	
		Parque	Z A	Parque	Z A
Ungulados					
Tayassu tajacu	19.7	25	29	492.5	571.3
Tayassu pecari	29.3	32	42	937.6	1230.6
Mazama americana	28	18	16	504.0	448.0
Primates					
Ateles paniscus	17.0	3		51.0	
Roedores					
Cuniculus paca	8.1	3	40	24.3	48.1
Dasyprocta fuliginosa	3.1	6	43	18.6	133.3
Desdentados					
Dasypus novemcinctus	5.0	5	22	25.0	110.0
Carnívoros					
Nasua nasua	3.9	1	1	3.9	3.9
Potos flavus	2.5		6		15.0
Felis pardales	10.5		1		10.5
Edentados					
Myrmecophaga tridáctila	22.0		1		22.0
Aves					
Pipile cumanenses	3.5	1		3.5	
Mitu tuberosa	5.0	2		10.0	
Tinamus sp.	2.0	4	6	8.0	12.0
Penelope jacquacu	3.5	13	16	45.5	56.0
Ortalis guttata	2.5		1		2.5
Ramphastos sp.	3.0		1		3.0
Reptiles					
Geochelone denticulada	12.0		1		12.0

Tabla 2. Cálculo de la cuota de extracción sustentable para los mamíferos permitidos en las áreas de uso del parque, con base en el modelo de Robinson y Redford (1991).

Especies	Pmax (Ind/km²)	PCS (Ind/km²)	PCS en las Areas de Uso (Ind/ km2)					Extracción		S
			A1	A2	A3	A4	A5	Total	Real	
			15 km²	10 km²	14 km²	7 km²	5 km²	51 km²	Ind/51 km²	
Ungulados										
Tayassu tajacu	12.03	2.41	36	24	39	17	12	128	25	SI
Tayassu pecari	4.12	0.83	13	8	12	6	4	43	32	SI
Mazama americana	1.67	0.67	10	7	9	5	3	34	18	SI
Roedores										
Cuniculus paca	6.56	1.31	20	13	18	9	7	67	3	SI
Dasyprocta fuliginosa	22.44	8.98	135	90	126	63	45	459	6	SI
Desdentados										
Dasypus novemcinctus	12.98	5.0	78	60	73	36	26	273	5	SI

Pmax: Producción máxima (Robinson y Redford, 1991)

PCS: Potencial de Cosecha Sostenible (Robinson y Redford, 1991)

S: Sustentabilidad

A1: Area de uso Hueco-Gavicho

A2: Area de uso Varadero-Aguanal

A3: Area de uso Tenazoa-Huascayacu

A4: Area de uso Satalaya-Flores

A5: Area de uso Avejaico-Muquichal

BIOLOGÍA DE *Brachmia convolvuli* Walsingham (Lepidoptera: Gelechiidae)

Menandro S. Ortiz¹

Mario E. Cahuana²

Verónica E. Rubín de Celis³

RESUMEN

Con la finalidad de fijar las bases para el conocimiento de la biología de *Brachmia convolvuli* Walsingham y ser utilizados con posteridad en investigaciones, así como en los diseños de programas de control, se llevó a cabo el presente trabajo en los Laboratorios de Entomología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, bajo condiciones controladas de temperatura ($27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (HR $55\% \pm 5\%$). Las larvas se criaron en hojas de camote var. Maleña. Los adultos fueron alimentados con solución de miel y agua en proporción de 3:1. Para el estudio de la capacidad de oviposición, fecundidad, fertilidad, períodos de pre-oviposición y post-oviposición; las parejas se formaron de la siguiente manera: a) de edades iguales, b) la hembra es mayor y c) la hembra es menor. La pupa que origina machos tiene una duración de 10.2 días, mientras que 9.68 días lo es para la hembra. Los períodos de pre-oviposición, oviposición y post-oviposición son de 5.09, 21.28 y 1.92 días, respectivamente. La fecundidad es de 187.40 huevos de los cuales la mayor parte son ovipuestos durante los 10 primeros días. La fertilidad más alta (96.74%) se obtiene cuando la pareja tiene la misma edad. La longevidad del adulto es de 28.29 días. *Brachmia convolvuli* para completar su ciclo biológico necesita 65 días.

Palabras claves: *Biología de insectos, Brachmia, Gelechiidae, camote.*

SUMMARY

With the objective of establish the bases for the knowledge of the *Brachmia convolvuli* Walsingham biology and it's utilization with posterity on researchs, just as the designs of controled programs, the present work has been realized in the Entomology Laboratory of the Universidad Nacional Agraria La Molina, under controlled temperature conditions ($27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) and relative humidity (HR $55\% \pm 5\%$). The larvae were breed on sweet potatoes leafs (variety Maleña). The adults were feed with a solution of honey and water on proportion 3:1. For capability studies of oviposition, fecundity, fertility, pre-oviposition and post-oviposition, the parteners were conformed as follows: a) same ages, b) the female is the most oldest, c) the females is young. The pupae which origins males last 10,2 days, while the females lasts 9,68 days. The periods of pre-oviposition, oviposition and post-oviposition is of 5,09; 21,28 and 1,92 days, respectively. The fecundity is near to 187,40 eggs, from wich the majority are ovipositioned during the first 10 days. The highest fertility (96,74 %) is obtaiened when the copuple has the same age. The longevity of the adult is of 28,29 days. *Brachmia convolvuli* to completes its biological cycle requires 65 days.

Key Words: *Insects biology, Brachmia, Gelechiidae, sweet potatoes.*

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma; Avenida Benavides 5440, Lima-Perú; e-mail: mop@infonegocio.net.pe

² Universidad Nacional Agraria La Molina, Apartado 456 Lima- Perú.

³ Instituto de Ciencia y Tecnología, Laboratorio de Genómica y Biología Molecular Evolutiva, Universidad Ricardo Palma, Lima-Perú; e-mail: afidi2001@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El camote es un cultivo que representa una gran importancia en el país, debido a su alto valor nutritivo, rusticidad, posibilidad de siembra durante todo el año, facilidad de manejo del cultivo, menor inversión que en otros cultivos, que lo hace más económico.

Sin embargo, como en todo cultivo, existen factores que disminuyen el rendimiento por unidad de área. Dentro de éstos se puede mencionar la disponibilidad de agua, plagas y otros factores.

Las especies de insectos plagas infestan a éste cultivo durante todo su desarrollo causando daños de acuerdo a su incidencia, la misma que está determinada por los factores ambientales, presencia o ausencia de enemigos naturales, aplicación de insecticidas y otras causas.

Entre las especies plaga citadas para el país se menciona a *Euscepes postfasciatus* como la especie de mayor importancia, *Empoasca fabalis*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Microthyris anormalis*, *Brachmia convolvuli* y *Ochyrotica fasciata*.

La información sobre los aspectos biológicos fundamentales de *Brachmia convolvuli* no están bien determinados a excepción de las citadas por Wille (1952). En consecuencia, se precisa realizar trabajos de investigación que permitan conocer la biología de esta especie, para que sirvan de base para el desarrollo de futuros programas de manejo de éste cultivo.

ANTECEDENTES

El camote es un cultivo que tiene gran variabilidad genética, el que viene aprovechándose para seleccionar variedades, tomando en consideración diferentes características de la planta con son el rendimiento, resistencia a plagas y enfermedades, hábitos de crecimiento, así como el valor nutritivo y el color de la pulpa de las raíces a ser utilizadas en la alimentación humana y/o animal.

Dentro de los factores sanitarios en sus diferentes estados de desarrollo, figuran inicialmente los gusanos cortadores, luego una serie de especies de insectos que se alimentan de las hojas y finalmente otros que atacan a las raíces, provocando daños directos o simplemente abriendo puertas de entrada a microorganismos que la descomponen y/o le dan sabores muy desagradables. Estos daños conducen a una reducción de la producción.

Así, Wille (1952) menciona a *Euscepes batatae* como una especie que ataca raíces, concediéndole un sabor similar al de carne podrida. Según Cetraro y Ortiz (1982), las especies plaga de mayor importancia son *Macrosiphum euphorbiae*, *Empoasca fabalis* y *Calycomyza ipomoea*, mientras que los que se presentan en poblaciones relativamente pequeñas e infrecuentes son *Bemisia* sp, tisanópteros, *Brachmia convolvuli*, *Anthicus* sp, *Ochyrotica fasciata*, *Diabrotica decolor* y *Myzus persicae*, entre otras especies.

Sin embargo éstos grupos de menor importancia no debe ser ignorado, ya que la importancia podría ser mayor, al romperse la ruptura del equilibrio biológico; lo que puede ser causado por el uso creciente e indiscriminado de productos agroquímicos. Por otro lado el incremento de superficies sembradas, aumenta la posibilidad de presencia de plagas. Cabe mencionar que con la creación de variedades de alguna manera podría perderse la resistencia natural que puede haber contra algunas plagas.

En nuestro medio se cuenta con poca información en relación a *Brachmia convolvuli*. Sarmiento (1983) señala que la larva de *Brachmia convolvuli*, en su último estadio de desarrollo alcanza una longitud de 8 – 10 mm. García (1984) adiciona que las alas de *Brachmia convolvuli* plegadas sobre el cuerpo, le otorga un aspecto triangular. Agrega que los huevos son muy pequeños, ovalados y blanco amarillentos. Sobre su comportamiento, Wille (1952) menciona que las larvas de ésta especie atacan no solamente a las variedades moradas

(«italianas») de hojas delgadas y trilobada, sino también a las de hojas anchas.

MATERIALES Y MÉTODO

El presente trabajo se realizó en Laboratorios de Entomología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, bajo condiciones controladas de temperatura y humedad relativa ($27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y HR $55\% \pm 5\%$).

Para la biología de *Brachmia convolvuli* se colectó larvas de un sembrío de camote ubicado en un campo de la Universidad Nacional Agraria La Molina, las que se trasladaron al laboratorio, a fin de iniciar la crianza masal. Obtenidas las pupas, se procedió a determinar el sexo de cada una de ellas, así como tomar las mediciones requeridas.

Una vez que emergieron los adultos, se formaron parejas a las que se les confinó en una unidad de apareo y oviposición. Las parejas fueron dispuestas en tres tratamientos. En el primer tratamiento, la hembra y el macho emergieron el mismo día, en el segundo la hembra fue mayor y en el tercer tratamiento la hembra fue menor que el macho. Se alimentó a los adultos con una solución azucarada en proporción de 3:1. Se registró diariamente el número de huevos puestos y eclosionados, lo que sirvió para determinar la fertilidad.

De estas generaciones de laboratorio, se tomaron 25 huevos, los que se observaron diariamente, tomándose datos sobre los cambios que ocurren durante la incubación. A la eclosión de los huevos se registró la fecha de la ocurrencia e inmediatamente las pequeñas larvas fueron confinadas en unidades de crianza individuales, observándose la mudas que ocurren y en donde se les practicó las mediciones pertinentes.

Las pupas y los adultos fueron conducidos y evaluados similarmente a las que se realizaron en la generación de campo. Se condujo y evaluó dos generaciones de laboratorio; y simultáneamente a cada una

de éstas se llevó a cabo crianzas masales, cuya finalidad fue disponer de individuos de edad y sexo requerido cuando fue necesario.

Una vez concluida la parte experimental, se realizó pruebas de Student para determinar el nivel de significancia de la diferencia de promedios para los parámetros de cada uno de los estados inmaduros, así como para los diferentes estadios larvales. Para los adultos se realizó un análisis de variancia, bajo el diseño estadístico completamente randomizado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ciclo de Desarrollo

1. Los huevos son de color blanco cremoso, similar a lo señalado por García (1984). Son elípticos, cuya longitud y ancho son de 0,769 y 0,546, respectivamente. El diseño que presenta es similar a la imbricación de las escamas de un pez. Son puestos en las depresiones de las hojas y en forma aislada o en pequeños grupos de 4 huevos. La mayor cantidad de huevos eclosionan entre el sexto y séptimo día, pero el promedio para los procedentes de los 3 tratamientos es de 7,42 días. El rango de variación de éste período está entre 5 y 10 días. Sin embargo Rázuri y Vargas (1975) determinaron que para *Tuta absoluta* el período de incubación es de sólo 4 días.
2. La larva, al emerger tiene 1,4 mm de longitud, el diámetro transversal de la cápsula cefálica es de 0,191 mm y tiene el cuerpo translucido. Este primer estadio larval dura 3,25 días. El segundo estadio larval presenta el diámetro trasversal 0,298 mm y tiene una duración de 3,04 días. El tercer estadio larval presenta el diámetro transversal de la cápsula cefálica 0,395 mm y con una longevidad de 2,94 días. Entre el mesotórax y metatórax se observa una zona blanquecina. En éste estado de desarrollo empieza a construir cartuchos. En el cuarto estadio larval el diámetro transversal de la cápsula cefálica es de 0,598 mm y dura 2,99 días. En el aspecto

dorsal presenta dos líneas longitudinales de color plomizo. El quinto y último estadio larval dura 3,86 días y el diámetro transversal cefálico mide 0,908 mm; y las líneas longitudinales son más oscuras. La caracterización que efectuó Wille (1952) concuerda sólo con el quinto estadio. La prepupa dura 2,79 días. Esta se ubica dentro de un cartucho que fue construida antes de entrar en ésta fase. Rázuri y Vargas (1975) determinaron que las larvas de *Tuta absoluta* necesitan de 8,41 días para alcanzar el máximo desarrollo, mientras que *Brachmia convolvuli* emplea 19,10 días.

3. La pupa requiere de 10,20 días para los machos, antes de alcanzar el siguiente estado de desarrollo; y de 9,68 días para las hembras. Presentan 1,310 mg de peso, 7,325 de longitud y 2,035 de diámetro transversal máximo. La cubierta pupal es marrón oscuro y las pterotecas llegan al quinto segmento abdominal y son negruzcas momentos antes de que emerge el adulto. Inicialmente es amarillenta, luego se torna marrón. Se observó en ellas los casos de ojos rojos y ojos negros, de manera similar a lo mencionado por Brits (1980) cuando trabajó con *Phthorimaea operculella*. El cremaster está formado por 8 ganchitos. La forma consistente para determinar el sexo, es observando la parte ventral de ápice abdominal. Las hembras presentan un mayor distanciamiento entre el poro genital y el poro anal.
4. Los adultos presentan dimorfismo sexual. Las hembras tienen el flagelo microbipectinado a partir del 39° segmento. El flagelo en ambos sexos tiene 63 segmentos. Los palpos labiales son trisegmentados y curvados; el último segmento es más largo y puntegudo, similar a lo referido por Costa Lima (1945).

Capacidad de Oviposición y Longevidad del Adulto

Los adultos emergen en las primeras horas del día y después de alimentarse buscan refugio. La actividad empieza en las últimas horas de la tarde y en las noches realizan

la cópula, la que es fácilmente interrumpida con el mínimo cambio de intensidad o ruido que se produzca.

El período de pre-oviposición para el primer tratamiento fue de 4,40 días; 5,25 y 5,54 días para el segundo y tercer tratamiento, respectivamente; con un promedio de 5,09 días; pudiendo variar éste período entre 1 y 9 días. Rázuri y Vargas (*op. cit.*) registraron para *Tuta absoluta* una variación entre 1 y 4 días, lo que indica que *Brachmia convolvuli* ovipoista tardíamente. El período de oviposición para los tres tratamientos, respectivamente fue: 21,44; 22,75 y 20,09 días; con un promedio de 21,2 días. El período de post-oviposición, resultó de la siguiente manera: 2,66; 1,75 y 1,45 días, respectivamente, para cada uno de los tratamientos y el promedio es de 1,92 días.

La longevidad fue de 28,50; 29,75 y 27,08 días, respectivamente, para cada uno de los tratamientos y el promedio fue de 28,29 días. Estos resultados inducen a pensar que cuando la hembra empieza a ovipositar lo antes posible, sufre un desgaste acelerado que cuando empieza más madura (cronológicamente). Una vez cumplida su función, muere.

La fecundidad en el primer tratamiento, la hembra ovipositó un total de 175,70 huevos, con un promedio de 6,16 huevos diarios; mientras que en el segundo tratamiento ovipositó 212 huevos, con un promedio diario de 7,12 huevos; y en el tercer tratamiento ovipositaron 179,09 huevos con un promedio diario de 6,61 huevos. El promedio para los tres tratamientos es de 187,40 huevos puestos y un promedio de 6,61 huevos diarios.

Se aprecia una variación de 65 a 367 huevos por hembra, pero Rázuri y Vargas (*op. cit.*) determinaron para *Tuta absoluta* una variación entre 100 a 300, lo que indica que *Brachmia convolvuli* es más variable en cuanto a fecundidad.

La mayor cantidad de huevos son puestos durante los primeros 10 días. Este resultado tiene relación con lo señalado por Brits (1979) debido a que los machos

probablemente descarguen la mayor cantidad de espermatozoides entre el quinto y décimo día después de la emergencia, puesto que durante este período se obtuvo el mayor número de huevos.

En relación a la fertilidad se señala que al copular los individuos, observados en cada uno de los tres tratamientos, se obtiene 91,63%; 87,02% y 87,76 % de huevos fértiles, respectivamente. El promedio es de 88,79 % de huevos fértiles.

Estos resultados indican que cuando los individuos son de la misma edad, existe una mejor sincronización para dar origen a mayor cantidad de huevos fértiles.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye:

1. Los huevos son blancos cremosos, elípticos, con una longitud de 0,768 mm y un ancho de 0,456 mm. El período de incubación dura 7,42 días.
2. *Brachmia convolvuli* Walsingham presenta cinco estadios larvales, necesitando un promedio de 18,30 días para su total desarrollo.
3. La duración del estado pupal para las hembras fue de 9,68 días, mientras que para los machos fue de 10,2 días. El peso pupal fue de 1,310 mg, el diámetro transversal máximo es de 2,030 mm y el largo es de 7,320 mm.
4. El período de pre-oviposición tuvo un promedio de 5,09 días. El período de oviposición, de 21,28 días y el de post-oviposición, de 1,92 días. La longevidad fue de 28,29 días.
5. La hembra de *Brachmia convolvuli* ovipuso en promedio 187,70 huevos con un promedio diario de 6,61 huevos. La fertilidad de los huevos varió entre

96,74% y 68,75% con una promedio de 88,8%.

LITERATURA CITADA

- BRITS, J.A. 1979. The influence of age of the adult male reproductive system of the potato tuber moth *Phthorimaea operculella*. J. Ent.Soc.South Africa 42(2): 395-400.
- BRITS, J.A. 1980. The effect of sublethal high T on *Phthorimaea operculella*. J. Ent. South Africa 43(1). 89-106.
- CETRARO, L.; M.S. ORTIZ. 1982. Ocurrencia Estacional de Insectos del Camote (*Ipomoea batatas*, en la Costa Central del Perú. Rev. Per. Ent. 25(1): 17- 32.
- COSTA LIMA, A. 1945. Insetos do Brasil. Tomo V. Primera Parte. Escola Nacional de Agronomia, p. 272.
- GARCÍA, U. 1984, Apuntes de Laboratorio de Entomología. Mim, UNALM, 1 p.
- RÁZURI, V. y E. VARGAS. 1975. Biología y Comportamiento de *Scrobipalpula absoluta* en tomate. Rev. Per. Ent. 18(1): 84.
- SARMIENTO, M. 1983. Las Plagas. Biblioteca Agropecuaria del Perú. P. 67.
- WILLE, J. 1952. Entomología Agrícola del Perú. 2º ed. Revisada y ampliada. Junta de Sanidad Vegetal Ministerio de Agricultura, Lima, p. 409.

AGRADECIMIENTO

A la Mg. Sc. Clorinda Vergara Cobián, Jefa del Departamento de Entomología y Fitopatología; y Jefa del Museo de Entomología, de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por haber facilitado amablemente la actualización de los nombres científicos de *Brachmia convolvuli*, *Tuta absoluta* y *Microthyris anormalis*.

ALIMENTOS TRANSGÉNICOS

Lidia Cruz Neyra¹
Mauro Quiñones Aguilar²

RESUMEN

La estructura del ADN (ácido desoxirribonucleico), llamada molécula de la vida, pues ella contiene la información genética de los seres vivos fue descubierta por James Watson y Francis Crick en 1953, veinte años después, Stanley Cohen y Herbert Boyer, descubrieron que combinando genes, se puede obtener una nueva estructura, a través de la ingeniería genética.

Los avances de la biotecnología e ingeniería genética han permitido la producción de alimentos derivados de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) o transgénicos, los cuales han generado diferentes controversias sobre su uso.

El presente trabajo es una pequeña revisión bibliográfica acerca de lo que es un alimento transgénico con ejemplos que permitan comprender sus ventajas y los riesgos que pudieran existir para la salud y medio ambiente

Palabras Claves: *Alimento transgénico, Organismo Genéticamente Modificado OGM*

SUMMARY

The structure of the DNA (desoxyribonucleic acid), called molecule of the life, because it contains the genetic information of the alive organism was discovered by James Watson and Francis Crick in 1953, twenty years later, Stanley Cohen and Herbert Boyer, discovered that recombinant genes. It can be obtained a new structure, through genetic engineering. The advances of the biotechnology and genetic engineering have allowed to the food production derived from Organisms Genetically Modified (OGM) or transgens, which have generated different controversies on their use. The present work is a small bibliographical review about which it is a transgenic food with examples that allow to /understand their advantages and the risks that could exist for the health and environment

Key words: *Transgenic food, Organism Genetically Modified, OGM*

INTRODUCCIÓN

El Banco mundial estima que durante los próximos veinticinco años, los países en desarrollo deberán duplicar su producción de alimentos para poder alimentar a su población. Sin embargo, la escasez de tierras agrícola con las condiciones de riqueza de fertilizantes, la falta de agua y otras variables pueden agravar la situación. Por ello, es necesario explorar las posibilidades que brinda la biotecnología y la ingeniería genética para ofrecer el uso

de alimentos derivados de organismos genéticamente modificados (OGM) o transgénicos.(Conway et al 1999)

Algunas enzimas y aditivos utilizados en el procesamiento de los alimentos se obtienen desde hace años mediante técnicas de ADN recombinante. La quimosina, por ejemplo, enzima empleada en la fabricación del queso y obtenida originalmente del estómago de terneros, se produce ahora utilizando microorganismos en los que se ha introducido el gen correspondiente. Sin

¹ Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas.

Universidad Ricardo Palma. Av. Benavides 5440 – Lima 33. E-mail: lcruz@mail.urp.edu.pe

² Laboratorio de Biotecnología e Ingeniería Genética - Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Ricardo Palma.

embargo, la era de los denominados alimentos transgénicos para el consumo humano directo se abrió el 18 de mayo de 1994, cuando la Food and Drug Administration de Estados Unidos (FDA, institución oficial que regula los temas de seguridad alimentaria y de medicamentos) autorizó la comercialización del primer alimento con un gen «extraño», el tomate «Flavr-Savr», obtenido por la empresa Calgene, el gen introducido retrasa el ablandamiento característico del tomate. A partir de este momento, se han obtenido cerca del centenar de vegetales con genes ajenos insertados, que se encuentran en distintas etapas de su comercialización, desde los que representan ya un porcentaje importante de la producción total en algunos países hasta los que están pendientes de autorización.

ORGANISMO GENÉTICAMENTE MODIFICADO (OGM)

Un organismo genéticamente modificado (OGM) es el resultado de la introducción de un fragmento de ADN o gen de una especie a otra, obteniéndose el mismo organismo principal, pero con la información añadida de la otra especie. Las técnicas de la ingeniería genética permiten aislar uno o varios genes de un virus, bacteria, vegetal, animal o incluso humano para introducirlo en el patrimonio genético de otro ser vivo, alterando su constitución genética.

Alimentos Transgénicos.

Un alimento transgénico es aquel que contiene uno o más ingredientes derivados de organismos genéticamente modificados mediante ingeniería genética. En Europa existe normas que reglamenta que todo alimento que se comercialice debe ser etiquetado indicando los derivados de los OGM (Reglamento EC 1139/98) y el 10 de enero del 2000 se publicó el Reglamento EC 49/2000 que especifica un umbral del 1%, por debajo del cual la presencia de material transgénico se considera contaminación accidental y el Reglamento EC 50/2000 extiende la norma de etiquetado de los aditivos derivados de los OGM.

Antes de poner en el mercado un cultivo transgénico, las empresas deben demostrar

que la variedad transgénica es sustancialmente equivalente a la variedad no transgénica comparable en términos de la cantidad y disponibilidad de nutrientes. Desde 1996 la FAO/OMS ha recomendado que se apliquen evaluaciones basadas en el concepto de equivalencia sustancial para establecer la seguridad de alimentos y componentes alimentarios derivados de los organismos biotecnológicos.

La equivalencia sustancial incluye demostrar las propiedades agronómicas, la velocidad del crecimiento, el rendimiento, la susceptibilidad a las enfermedades, el tamaño de fruto y la composición bioquímica: minerales, proteínas y fibra. Las investigaciones han demostrado que no hay alteraciones del contenido nutricional de las variedades transgénicas (Padgett et al., 1996, Hammond et al., 1996)

MODIFICACIÓN GENÉTICA

Existen diferentes posibilidades de mejora vegetales mediante la utilización de la ingeniería genética. En el caso de los vegetales con genes antisentido, el gen insertado produce un mRNA que es complementario del mRNA del enzima cuya síntesis se quiere inhibir. Al hibridarse ambos, el mRNA de la enzima no puede traducirse y por tanto no hay síntesis proteica. Es el caso de los tomates «Flavr - Savr», donde la síntesis de una enzima se inhibe, así la poligalacturonasa, responsable del ablandamiento y senescencia del fruto maduro, que al no ser activa, este proceso es muy lento, y los tomates pueden recogerse ya maduros y comercializarse directamente.

Los tomates normales se recogen verdes y se maduran artificialmente antes de su venta con etileno, por lo que su aroma y sabor son inferiores a los madurados de forma natural. En este caso, el alimento no contiene ninguna proteína nueva. La misma técnica se ha utilizado para conseguir una soya con un aceite con alto contenido en ácido oleico (80 % o más, frente al 24% de la soja normal), inhibiendo la síntesis de la enzima oleato desaturasa. Esta enzima es responsable de introducir dobles enlaces en los ácidos grasos, resultando en polinsaturados. Los ácidos grasos

polinsaturados tienen menor punto de fusión y son más líquidos.

La soya resistente al herbicida glifosato, conocida con el nombre de «Roundup Ready» y producida por la empresa Monsanto contiene un gen bacteriano que codifica la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetasa. Esta enzima participa en la síntesis de los aminoácidos aromáticos, por lo que la soya transgénica tiene tolerancia al glifosato.

El maíz resistente al ataque de insectos contienen un gen que codifica una proteína de *Bacillus thuringiensis*, que tiene acción insecticida al ser capaz de unirse a receptores específicos en el tubo digestivo de determinados insectos, interfiriendo con su proceso de alimentación y causando su muerte. La toxina no tiene ningún efecto sobre las personas ni sobre otros animales.

La utilización de plantas con genes de resistencia a insectos y herbicidas permite reducir la utilización de plaguicidas y conseguir un mayor rendimiento. También se ha obtenido una colza con un aceite de elevado contenido en ácido láurico, mediante la inserción del gen que codifica una tioesterasa de cierta especie de laurel. Los vegetales resistentes a virus se consiguen haciendo que sintetizen una proteína vírica que interfiere con la propagación normal del agente infeccioso. Estos vegetales contienen proteína vírica, pero menos de la que contienen los normales cuando están severamente infectados.

Los vegetales transgénicos más importantes para la industria alimentaria son, por el momento, la soya resistente al herbicida glifosato y el maíz resistente al «taladro», un insecto. Aunque se utilice en algunos casos la harina, la utilización fundamental del maíz en relación con la alimentación humana es la obtención del almidón, y a partir de este de glucosa y de fructosa. La soya está destinada a la producción de aceite, lecitina y proteína.

Puesto que la harina de maíz, la proteína de soja y los productos elaborados con ellas contienen ADN y proteínas diferentes a la de las otras variedades de maíz, en la Unión

Europea existe la obligación de mencionar su presencia en el etiquetado de los alimentos. Aunque no se ha detectado ningún caso, sería concebible la existencia de personas alérgicas a las nuevas proteínas. No obstante, en el caso de la proteína de *B. thuringiensis*, su amplio uso como plaguicida en agricultura ecológica permite asegurar su falta de alergenicidad.

El aceite de soya transgénica y la glucosa y la fructosa obtenidas del almidón de maíz transgénico no contienen ningún material distinto a los que contienen cuando se obtienen a partir de los vegetales convencionales.

En el caso de los alimentos completos, o de partes que incluyan la proteína extraña, como podría ser la proteína de soya o la harina de maíz, hay que considerar el riesgo de la aparición de alergias a la nueva proteína. Este es el caso de la soya a la que se le había introducido el gen de una proteína de la nuez del Brasil para aumentar el contenido de aminoácidos azufrados de sus proteínas y por ende su valor nutricional. La nueva proteína resultó ser alergénica, y esta soya no ha llegado a salir al mercado. Sin embargo, esto es absolutamente excepcional, y no existe ninguna evidencia de que las proteínas introducidas por medio de la ingeniería genética sean más alergénicas que las naturales.

En el caso de la utilización de materiales procesados exentos de proteínas, como el aceite de soya o la glucosa obtenida a partir del almidón del maíz, no existe ningún material que no se encuentre en el producto convencional, y consecuentemente no existe ningún riesgo, ni siquiera hipotético, atribuible a la manipulación genética. Incluso en los casos en que existe alergia a una proteína de la semilla oleaginosa (convencional o transgénica), un aceite procesado no produce respuesta.

La ingeniería genética permite ahora llevar a cabo, en pocos años y de forma controlada, lo que antes podía costar décadas o siglos, o conseguir efectos que sólo estaban en los sueños de los agricultores, pero que eran imposibles con las viejas técnicas de cruce y selección.

VENTAJAS DE LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS

Las ventajas de los cultivos transgénicos son enormes: resistencia a plagas, aumento del rendimiento, tolerancia al estrés biótico y abiótico, uso de tierras marginales, beneficio nutricional, entre otras.

El reporte de la U.S. National Research Council 2000 demostró que la siembra de algodón transgénico con resistencia a insectos, logró reducir el uso de insecticidas químicos en un millón de kilogramos en comparación al año 1998.

Se ha evidenciado las ventajas de la tolerancia al estrés del ambiente, así Souza 1999 ha obtenido plantas transgénicas modificadas para combatir el virus de la mancha anular de la papaya, Torres et al, 1999 reportó papas resistentes al tizón y De la Fuente et al 1997 obtuvo plantas modificadas para producir un exceso de ácido cítrico en las raíces y de este modo tolerar mejor el aluminio presente en suelos ácido.

También es un hito importante la incorporación de genes que producen beta caroteno , precursor de la vitamina A. Ye et al 2000 han introducido tres nuevos genes en el arroz, dos de ellos proceden del narciso y uno de cierto microorganismos, obteniéndose un arroz con mayor producción de beta caroteno, siendo las semillas de color amarillo. Igualmente se ha introducido genes que codifican proteínas fijadoras de hierro y una enzima que facilita la absorción de hierro en el arroz, de manera que se obtiene una planta con dos o cuatro veces más hierro que el arroz no transgénico, pero queda pendiente su investigación sobre su biodisponibilidad y asimilación.

SEGURIDAD DE ALIMENTOS TRANSGÉNICOS

La existencia de alimentos transgénicos, que representa nuevas estructuras genéticas hace necesario el cuestionamiento de la seguridad en su consumo y la posibilidad que el transgen salga del cultivo transgénico o un producto alimentario derivado del

cultivo. La Organización Mundial de la Salud (OMS), la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (FDA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) después de largos debates con las respectivas evidencias han concluido que no existen riesgos inherentes en el consumo de ADN, incluido el derivado de los cultivos transgénicos (FDA, 1992; FAO, 2004). El fundamento principal es que tanto alimento no transgénico y transgénico al ser consumido siguen la misma ruta metabólica y no es posible que un gen sea introducido a nuestras células de manera natural, esto ha sido demostrado por innumerables investigaciones.

La preocupación más relevante es con el medio ambiente, que están relacionadas con la posibilidad de un flujo genético hacia los parientes cercanos de las plantas transgénicas (Ellstrand et al. 1999). Además de los posibles efectos indeseables de los genes o caracteres foráneos (resistencia a insectos o tolerancia a herbicidas), y al efecto en otros organismos. Asimismo se corre el riesgo de que las poblaciones de plagas y organismos fitopatógenos se adapten rápidamente y se vuelvan resistentes a las plantas transgénicas.

Las investigaciones para la obtención de plantas y/o animales transgénicos es un campo muy prometedor, sin embargo, es necesario evaluar minuciosamente su impacto en la salud y en el medio ambiente. En el caso particular de Perú tendrá que establecer normas internas que regulen el uso, detección y comercialización de alimentos transgénicos.

LITERATURA CITADA.

- CONWAY, G y TOENNIESSEN, G. 1999. Feeding the world in the twenty first century. *Nature* 402, n. 6761, suppl. C55-58.
- DE LA FUENTE, J.; RAMIREZ, R. V., CABRERA, P. Y HERRERA, E. L. 1997. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science* 276: 1566-1568.

- ELLSTRANS, N.C.; PRENTICE, H.C. y HANCOCK, J.F. 1999. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30: 539-63.
- FAO/ONU. 2004. Estado de alimentación y la agricultura.
- FAO/WHO. 1996. Biotechnology and food safety. Report of a joint FAO/WHO Consultation, Rome.
- FDA/USA. 1992. Statement of policy: Foods derived from new plant varieties: notice, *Federal Register* 57: 104, 22984-23005
- HAMMOND, B; VICINI, J.; HARTNELL G., NAYLOR, M.W.; KNIGHT, C.D.; ROBINSON, E.; FUNCH, R.L.; PADGETTE S.R. 1996. The feeding value of soybean fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J. Nutr.* 126: 717-727.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2000. Genetically modified pest-protected plant. Science and Regulation. Washington, DC. National Academy Press.
- PADGETTE, S.R.; TAYLOR, N.B.; NIDA, D.L.; BAILEY, M.R.; MAC DONALD, J.; HOLDEN, L.R.; y FUCHS, R.L. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seed is equivalent to that of conventional soybeans. *Journal of Nutrition* 126 (3): 702-716.
- PECINA, V. 2004. Alimentos transgénicos. *Memorias del Congreso Internacional de Seguridad Alimentaria*. P.146-158. México.
- PETERS, A.; BUSO, J.A.; CASTRO, D. 1999. Transgenic plants of achat potato resistant to the mosaic virus (PVY). *Bioteecnología. Ciencia y Desarrollo*. Nro.7.
- SOUZA, M.T.; Jr. 1999. Analysis of the resistance in genetically engineered papaya against papaya ringspot potyvirus, partial characterization of the PRSV. Brazil. Bahia isolate and development of transgenic papaya for Brazil. Cornell University.
- TORRES, A.C.; FERREIRA, A.T.; MELO, P.E.; ROMANO, E.; CAMPOS, A.
- WATSON, J.D. y CRICK, E. H. 1953. Molecular structure of nucleic acids: A structure for desoxyribonucleic acid. *Nature*, p.737.
- YE, X.; BABILI, A., KLOTT, S.; ZHANG, A.; LUCCA, J.; BEYER, P.; POTRYKUS, I. 2000. Engineering the provitamin a (b-caroteno) biosynthetic pathway into (carotenoid free) rice endosperm. *Science* 287:303-305.

OBTENCIÓN DE RATONES ALBINOS EN UN CAMPO MAGNÉTICO PULSANTE DE 5 mT, 60 HZ Y DESARROLLO DE SU MASA CORPORAL

Ivan Ramirez Jiménez¹

Oscar Barces

Sabina Gutiérrez

Rocío Coca M.

RESUMEN

El trabajo ha consistido en obtener crías de ratones albinos dentro de un campo magnético, de padres sometidos a un campo magnético semicontinuo de 5 mT con pulsos positivos de 60 Hz orientados en la misma dirección que el campo magnético terrestre, y realizar el seguimiento del desarrollo de dos camadas de ratones. La primera camada de tres ratones durante 65 días y la segunda camada con de 10 ratones, durante un periodo de 55 días.

Se construyo un campo magnético con una bobina de 22 cm de diámetro, y de ocho cm de ancho, por la cual se hacia circular una corriente eléctrica de 5 amperios (rms), con la que se obtenía una valor de inducción magnética de 50 gauss.

El desarrollo de la masa corporal de los ratones fueron registrados periódicamente, comparándose los resultados con los datos de ratones del grupo control a tres condiciones de 5, 10 y 15°C superiores a la temperatura de ambiente y con un mismo programa alimentario, pero con una ligera diferencia de edades por el numero de días de nacidos, que eran de 18 días para el grupo experimental, y 22 días para los ratones del grupo control.

El trabajo experimental ha mostrado que las crías nacidas dentro del campo magnético de 50 gauss tiene una masa ligeramente inferior que las crías nacidas en condiciones naturales.

Palabras claves: *Campo magnético. Ratones albinos. miliTesla (mT) . Hz*

SUMMARY

The work has consisted of obtaining young of mice albinos within a magnetic field, of parents submissive a magnetic field semi - continuing of 5 mT with positive pulses of 60 Hertz oriented in the same direction that the earth's magnetic field, and to make the pursuit of the development of two groups of mice. The first groups of three mice during 65 days and the second group with 10 mice, during a period of 55 days.

The development of the corporal mass of the mice was registered periodically, comparing the results with the data of mice of the group control to three conditions of 5, 10 and 15°C superior to the temperature of atmosphere and with a same nourishing program, but with a slight difference of ages by the number of days of been born, that were of 18 days for the experimental group, and 22 days for the control group The experimental work has shown that the young born within the magnetic field of 50 Gaussian slightly has an inferior mass that the young born in natural conditions

Key words: *Magnetic field, albino mice, miliTesla (mT). Hz*

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma. Av. Benavides 5440.
e-mail: iramirez@mail.urp.edu.pe

INTRODUCCIÓN

Repacholi et al, 1987 **han reportado que** los campos magnéticos varían en el tiempo generan corrientes eléctricas internas. Por ejemplo, 3 T/s puede inducir densidades de corrientes cerca de 30 mA/m² alrededor del perímetro de la cabeza humana.

Las densidades de las corrientes eléctricas inducidas pueden usarse como un parámetro firme en la valoración de los efectos biológicos al nivel celular. En lo que se refiere a una valoración del riesgo de salud, es difícil poder correlacionar las densidades de las corrientes en los tejidos, con la intensidad del campo magnético externo.

Sin embargo, es posible calcular, por lo menos dentro de una orden de magnitud, la densidad de flujo magnético que produciría densidades de corrientes potencialmente, peligrosas para los tejidos.

Es factible establecer correlaciones, entre las densidades de los flujos magnéticos producidos por campos sinusoidales homogéneos y los efectos biológicos que producen sobre los cuerpos totalmente expuestos:

a) Entre 1 y 10 mA/m² (inducidos por campos magnéticos entre 0.5 - 5 mT a 50/60 Hz, o entre 10 - 100 mT a 3 Hz), han sido reportados efectos biológicos menores.

b) Entre 10 y 100 mA/m² (de 5 - 50 mT a 50/60 Hz o de 100 - 1000 mT a 3 Hz), se han establecido bien los efectos, sobre el sistema visual y nervioso, y ha sido reportado la facilidad de fractura de huesos. En esta misma información en lo referente a campos magnéticos pulsantes en sus conclusiones manifiestan que: «En el caso de los humanos el umbral de la inducción de los magnetofosfenos, esta entre 2 y 10 mT. y en el rango de frecuencias de 10 - 100 Hz. Muchas investigaciones realizadas con campos magnéticos de ondas, sinusoidales, cuadradas y pulsantes, han reportado alteraciones, en las células, en los

tejidos, y en el sistema animal, cuando la densidad de corriente inducida supera aproximadamente los 10 mA/m². Estos efectos reportados incluyen alteraciones en el metabolismo celular en la expresión genética, en las funciones endocrinas y de inmunidad celular, cambio del metabolismo, de las propiedades de crecimiento, y efectos sobre el desarrollo. Sin embargo muchos de estos estudios no han sido reproducidos con éxito.»

A partir de los años 80 se encuentra una enorme variedad de trabajos de investigación sobre la influencia de los campos magnéticos, en los que se experimentan con ratones, haciendo las mas variadas pruebas como por ejemplo; sobre procesos cancerigenos, comportamiento de la sangre, formación de tumores, cicatrización de la piel y muchos otros.

En este contexto, Forgacs 2003 reportó que el campo variable de 50 Hz y 100 μ T ha influido en la producción de cadherina, y de microtubulos, habiendo estos aumentado a lo largo de las superficies de contacto de las células, y un cambio de la forma típica de las células. Madeca 2003 ha reportado que: «la hipótesis de resonancia ciclotrónica propuesta por Liboff sobre la oscilación del calcio nunca se ha verificado independientemente a pesar de varios esfuerzos». Es conocido que el calcio es importante en la formación de microtubulos.

En la literatura citada no hemos encontrado trabajos que confirmen el trabajo de Margineda 2000 que señalaron un efecto claro a campos de 200 microteslas de 50 Hz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las casas experimentales fueron construidas con tubos de policloruro de vinilo, PVC, y acrílico. Fuente de poder INELPESA DC CONTROLADA 8 A, input 220 V. AC, output 0-15 V. DC, 0-25 A y para la construcción de la bobina se utilizó alambre de cobre N° 14, bobina. Una

computadora Laptop 220-240 V, Interfase USB para 4 puertos, sensor de campo magnético (60 gauss máx.). Vernier

Se construyó una bobina suficientemente grande para albergar en su interior una jaula de fierro o madera. Esta bobina tiene un diametro interior de 22 cm, un ancho de 8 cm construido con alambre de cobre N °14. (Fotografía 1)

Por la bobina se hizo circular una corriente eléctrica de media onda de 5 amperios, la cual genera inducción de campo magnético de 5.mT. (Fotografía 2). El calor producido por la bobina, aumentó la temperatura de la jaula en 4° C. sobre la temperatura ambiente. El campo ha sido medido con un sensor magnético de efecto Hall unida a un computador mediante una interfase. El computador dispone de un software Logger Pro de la compañía Vernier.

Se trabajo con 5 grupos de ratones albinos *Mus musculus* 3 grupos de control, y dos grupos experimentales dentro del campo magnético. En todos los casos primero se obtuvieron las crías a fin de que las condiciones iniciales del control de masa sean homogéneas. Todos deberían tener la misma cantidad de días de nacidos (la misma edad en días).

Los grupos control fueron tres, un grupo de 5 ratones en condiciones ambientales, otro grupo de 3 ratones a 10 °C mas alto que la temperatura de ambiente, y el tercer grupo de tres ratones a 15 °C por encima de la temperatura de ambiente.

La toma de datos se hicieron entre los meses de setiembre y diciembre del 2005, en la que la temperatura se mantenía casi constante en 22° C. Todos los grupos fueron alimentados con el mismo programa que consistía de una dieta de maíz y conejita que se les suministraba dos o tres veces por semana.

Los dos camadas de ratones dentro del campo magnético se trabajaron con un desfase de 43 días.

La primera camada estuvo formado por dos crías, cuyos padres ya habían nacido y vivido dentro de un campo magnético por más de un año. En este grupo se añadió un tercero, nacido de padres en condiciones normales.

El grupo de la segunda camada estuvo constituida de 10 crías, nacidas también de padres provenientes de haberse procreado y vivido dentro de campo magnético de menor intensidad cerca de un año. Estas crías se dividió en dos grupos de 5 ratones. Las crías se obtuvieron en la jaula de madera y para el control del desarrollo corporal a cada grupo se les habilito unos habitáculos de tubos de plástico en forma de U.

A todos los grupos se les hacia una limpieza total se sus casas cada 3 días o semanal. Al mismo tiempo que se hacia la medición de sus masas con una balanza de 0.1 gramo de precisión.

RESULTADOS

Se han obtenido dos camadas de crías de ratones, una constituida por dos crías, y otra conformada por diez. Estas crías han sido obtenidas de padres que se han desarrollado en un campo magnético prolongado de 60 Hz , $5 \pm 4\%$ mT. Los resultados del desarrollo de la masa corporal se muestran en las tablas del 1- 3

DISCUSIÓN

Las tablas del control del desarrollo corporal de los ratones, no muestran una tendencia uniforme de ganancia o pérdida de masa corporal. Esto posiblemente se deba al programa de suministro de alimentos que no ha sido estrictamente respetado.

Sin embargo, se ha observado un desarrollo sostenido en el aumento de masa de cada ratón, lo que ha permitido analizar estadísticamente, recurriendo a las regresiones lineales.

Estas regresiones nos han permitido cuantificar el desarrollo corporal de cada

ratón mediante la velocidades de crecimientos para evaluar el grado de influencia del campo, en el desarrollo corporal.

El grupo de ratones control con temperaturas de 15 grados encima de la temperatura ambiente han sobrevivido dos semanas, pero en el corto tiempo de vida muestran una velocidad de desarrollo de $0.147 \pm 0.96\%$ g/día y en el drupo control de ratones sometidos a temperatura mayor de 15 °C que la temperatura ambiente también solo vivieron 21 días, llegando a alcanzar una velocidad promedio de $0.304 \pm 22\%$ g/día.

La colonia de ratones control, a temperatura ambiente, durante las tres primeras semanas llegaron a tener una velocidad de crecimiento 0.10 g/día (tabla 1) Sin embargo es de notar que en esta colonia hay un ratón que alcanza una velocidad de 0.29g/día y otro muy bajo de de 0.0036 g/día.

Los ratones control, con temperaturas más altas a la del ambiente, se realizó con la intención de descartar la influencia del aumento de temperatura en la casa experimental debido al calentamiento de la bobina producida por la resistencia ohmica del enrollamiento de la bobina.

La casa se mantuvo aproximadamente a 5 grados por encima de la temperatura de ambiente. La velocidad promedio de crecimiento de la primera camada fue de $0.257 \pm 14\%$ g/día (tabla 2).

Un valor muy alto, que es necesario seguir analizando con otros experimentos similares para llegar a una conjetura.

La velocidad del desarrollo corporal de la segunda camada en las dos casa experimentales fue de $0.145 \pm 13\%$ g/día siendo en esta camada, la velocidad de desarrollo más alta, de 0.171g/día, y la más baja de 0.08 g/día. (tabla 3)

La velocidad de desarrollo de los ratones dentro del campo magnético desde el punto vista del análisis estadístico, muestra que es ligeramente superior a la velocidad de

desarrollo de los ratones control en condiciones de ambiente. Los ratones de la primera camada han crecido 2.7 veces más rápido, y las de la segunda 1.15 veces más rápido.

Sin embargo comparando con los ratones control a las dos diferentes temperatura ya no se puede aseverar lo mismo, mas bien se diría que la rapidez de crecimiento esta influenciado por la temperatura y no por el campo magnético, ya que en ambos casos a las temperaturas de 10 y 15 grados sobre la temperatura de ambiente la tasa de desarrollo de las ratones es mayor con respecto a los de campo que están a una diferencia de temperaturas de 5 y 10 respectivamente.

CONCLUSIONES

De los resultados se puede concluir que los ratones nacidos en un campo magnético y sometidos en él a los 18 días presentan masas ligeramente menores que las crías nacidas en las condiciones de control. Lo que podría significar una ligera influencia de este campo magnético, sin embargo es necesario realizar mayores estudios.

LITERATURA CITADA

- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY 1987. Geneva, environmental health criteria 69. Magnetic fields. Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization.
- FORGÁCS, Z.. 2003. Effect of 50 Hz magnetic field exposure on the adherent cell contacts of primary mouse Leydig cells in culture. Volume 47(1-4):27-30. Acta Biologica
- NAKASONO, S. 2003 Effects of 50hz, 300 mT sinusoidal magnetic fields on mice behavior and wide-scale gene expression in the whole brain .Tokyo.
- MADECA, F. .. 2003. Effects of ELF and static magnetic fields on calcium oscillations in islets of langerhans. University of Bordeaux .France.

MARGINEDA, J. 2000. Departameno de Fisica. Departamento de Radiologia y Medicina Física. Universidad de Murcia. España,

RAMIREZ, I. et al. 2005. Desarrollo de la masa corporal de ratones albinos *Mus musculus* sometidos a un campo magnético en un rango de 2 - 25 Gauss. Revista de Ciencias. Volumen II. pp.50-

69. U.R.P. Dpto. de Académico de Ciencias

LEVIN, M. y ERNST S. G 2000. Applied dc magnetic fields cause alterations in the time of cell divisions and developmental abnormalities in early seaurchin embryos. Dept. of biology. Tufts. university.medford.



Fotografía 1 Casa campo salón y casa reproducción



Fotografía 2: Bobina de 22 cm. de radio albergando la casa de madera de reproducción

Tabla 1: Desarrollo de la masa corporal de ratones del grupo control a temperatura ambiente

Días de Nacidos	Masa (g)
23	8,6 $\pm$ 1,06
28	9,1 $\pm$ 0,60
30	7,8 $\pm$ 0,50
32	8,8 $\pm$ 0,78
34	8,5 $\pm$ 1,08
35	8,5 $\pm$ 1,48
37	8,7 $\pm$ 1,30
39	9,3 $\pm$ 1,31
41	9,7 $\pm$ 1,51
44	9,7 $\pm$ 2,29

Tabla 2: Masa Corporal de ratones nacidos en campo magnético primera camada

Días de Nacidos	Masa (g)
25	9,75 $\pm$ 1.06
30	8,45 $\pm$ 0.78
32	7,9 $\pm$ 0.85
34	7,1 $\pm$ 0.28
37	9,55 $\pm$ 1.06
39	10,05 $\pm$ 0.35
41	9,95 $\pm$ 0.78
46	9,75 $\pm$ 0,78
48	11,25 $\pm$ 0,49
51	11,50 $\pm$ 0.57
53	13,50 $\pm$ 0,57
55	14,40 $\pm$ 0,14
58	14,70 $\pm$ 0,71
60	15,80 $\pm$ 1,41
62	17,20 $\pm$ 0,85
65	16,85 $\pm$ 0,92

Tabla 3: Ratones procreados, nacidos y desarrollados en campo magnético de 50 G. 60 Hz

Días de nacidos	Grupo Experimental 1 Masa (g)	Grupo Experimental 2 Masa (g)
0	6,02 $\pm$ 0,59	6,20 $\pm$ 0,10
3	5,42 $\pm$ 0,43	5,08 $\pm$ 0,50
5	6,54 $\pm$ 0,69	5,42 $\pm$ 0,08
7	6,10 $\pm$ 0,85	5,38 $\pm$ 0,51
10	6,42 $\pm$ 0,96	6,32 $\pm$ 0,73
13	6,86 $\pm$ 1,04	7,36 $\pm$ 0,74
17	7,06 $\pm$ 1,39	7,06 $\pm$ 1,39
20	7,85 $\pm$ 1,33	8,18 $\pm$ 0,98
23	8,95 $\pm$ 1,32	9,44 $\pm$ 0,99
27	8,43 $\pm$ 1,52	10,22 $\pm$ 1,09
29	11,08 $\pm$ 2,12	10,3 $\pm$ 1,22
34	10,03 $\pm$ 1,53	11,48 $\pm$ 0,50
41	10,28 $\pm$ 2,20	10,10 $\pm$ 1,22
47	11,83 $\pm$ 0,61	9,35 $\pm$ 1,08
55		11,38 $\pm$ 1,49

ESTADO ACTUAL DEL PATRIMONIO PALEONTOLÓGICO DEL PERÚ

Vera Alleman¹
Sofía Benavente²

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el examinar la situación actual de los sitios fosilíferos y las colecciones de fósiles desde una visión global sobre la protección de este legado patrimonial. Los materiales fundamentales para el estudio, la investigación y la enseñanza de la paleontología están en las colecciones de fósiles y sus localidades. Hay colecciones privadas de aficionados interesados en la belleza de los fósiles o en el valor comercial de los mismos. Hay colecciones privadas científicas de investigadores activos que guardan su material de trabajo en su domicilio o en su centro de trabajo. Generalmente, las colecciones «tipo» están guardadas en un museo o un laboratorio universitario.

La situación actual de la que partimos, es que, no tenemos una legislación de los bienes paleontológicos. Se propone definir los restos paleontológicos y sus localidades como Patrimonio Natural Paleontológico y en consecuencia establecer un régimen tutelar particular; al igual que disfrutaban otras entidades patrimoniales como el Arqueológico, el de Recursos Naturales y el Cultural.

Así mismo se muestran vistas de las colecciones de paleontología de las Universidades Ricardo Palma, la Universidad Nacional de San Agustín y la Universidad Nacional del Altiplano como un avance del trabajo paleontológico en las Universidades del Perú.

Palabras Clave: Colecciones, Patrimonios Naturales y Culturales, Universidad Ricardo Palma, Universidad Nacional de San Agustín, Universidad Nacional del Altiplano.

SUMMARY.

The objective of this work was to examine of the present situation of the fossil sites and a global vision the fossil collections on the protection of this patrimonial legacy. The fundamental materials for any paleontological study, the research and the paleontology education are in the collection of fossils and their localities. There are private collections that they are interested for fossil samples because it is beautiful or it has a commercial value. There are private scientific collections of active investigators who keep their material in home or its work center. Generally, the «type» collections are kept in a museum or a university laboratory. The present situation that we started off is that, we do not have a good paleontological legislation. We propose to define the paleontological samples and the localities as a like Paleontological Natural Patrimony and consequently to establish a particular regime tutelary; as enjoy other patrimonial organizations as like the Archaeological, the Natural Resources and the Cultural. Also we show pictures of the paleontology collections of the Ricardo Palm University, the San Agustín National University and the Altiplano National University as an advance of the paleontological work in the Universities of Peru.

Key Words: Collections, Natural and Cultural Patrimony , Universidad Ricardo Palma, Universidad Nacional de San Agustín, Universidad Nacional del Altiplano.

¹ Universidad Ricardo Palma, Museo de Historia Natural. Apartado Postal 18-0131;
e-mail: valleman@mail.urp.edu.pe

² Facultad de Geología y Metalurgia – Laboratorio de Paleontología y Medio ambiente, Universidad del Altiplano e-mail: lube20@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Los materiales fundamentales para el estudio, la investigación y la enseñanza de la paleontología, están en las colecciones fósiles y sus localidades fosilíferas. Hay colecciones privadas de investigadores activos que guardan su material de trabajo en su domicilio o en su centro de trabajo, que es, generalmente un museo o una universidad.

Existen varias universidades donde se imparten las carreras de geología y de biología, en la perspectiva de la formación académica del profesional que desea especializarse en paleontología.

En la Universidad Ricardo Palma, Facultad de Ciencias Biológicas, en la sección de Paleontología y con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC), a través de su Programa de Apoyo al Investigador, viene funcionando el Museo de Historia Natural, en el cual existen restos bien conservados de animales y de plantas, producto de las investigaciones realizadas desde 1985 por eminentes paleontólogos, biólogos y geólogos peruanos y extranjeros, acompañados por los estudiantes de la carrera de Biología. Esta colección cuenta con numerosos ejemplares de tipos, géneros nuevos y especies nuevas.

En la Universidad Nacional de San Agustín, Facultad de Geología, Geofísica y Minas, el Laboratorio de Paleontología, se cuenta con restos fósiles desde corales, braquiópodos, trilobites, briozoarios, lamelibranquios, equinodermos, hasta restos de vertebrados, producto de las investigaciones realizadas por egresados, paleontólogos y geólogos de esta universidad.

La Universidad Nacional del Altiplano, la Facultad de Geología y Metalurgia cuenta con el Gabinete de Paleontología, Micropaleontología y Medio Ambiente donde se guardan restos fósiles de trilobites, bivalvos, conularios, braquiópodos, gasterópodos y restos de plantas.

Es necesario tener una legislación de los bienes paleontológicos y de sus localidades. A la fecha solo se cuenta con la ley número 24047, Ley General de Amparo al Patrimonio Cultural y el D. L. número 22680 del 19.11.1979 donde se aprueba la Convención sobre las medidas que deben adoptarse para prohibir e impedir la importación, la exportación y la transferencia de propiedad ilícita de bienes culturales de la UNESCO, considerando el Art. 1 inc. a) Las colecciones y ejemplares raros de zoología, botánica, mineralogía, anatomía y los objetos de interés paleontológicos.

OBJETIVOS

- 1.- Evaluar la situación que presentan en la actualidad los sitios fosilíferos y las colecciones de las Universidades enmarcada dentro de un Patrimonio Natural Paleontológico.
- 2.- Dar a conocer el estado actual de los museos de la Universidades San Agustín de Arequipa, Ricardo Palma y la Nacional del Altiplano.

ANTECEDENTES

En el año 1995, a raíz del Seminario « Cien Años de Paleontología en el Perú », realizado por la Academia Nacional de Ciencia y Tecnología del Perú (ANCYT), se concluye la necesidad de que las universidades peruanas deben estar actualizadas en la formación profesional con especialización en paleontología, consistente en:

- a) Constituir un cuerpo organizado a nivel nacional donde estén registradas las instituciones que poseen colecciones científicas de fósiles.
- b) Cada una de las instituciones deberá hacer un registro de los ejemplares que están en sus colecciones y elaborar un banco de datos con clasificación por taxonomía, localidad, edad y otras observaciones pertinentes.
- c) Elaborar una red informática y publicar catálogos.

A comienzos de septiembre de 1997, más de 100 paleontólogos que representaban a 30 países, se reunieron en el Museo

Senckenberg, Frankfurt, Alemania, para participar en la Conferencia Mundial sobre « Paleontología en el Siglo 21 ». La reunión representó un foro para identificar y discutir diferentes aspectos que conciernen a la Paleontología y a sus diversas ramas. Como objetivo final se aceptó la necesidad de iniciar y nutrir un diálogo que concierne al futuro de la Paleontología con una llamada a una acción meditada de todos los paleontólogos del mundo acerca de las colecciones y sus inventarios.

A la fecha ¿ Cuanto se ha avanzado, en legislación ?. Si atendemos al origen y naturaleza de los restos paleontológicos fósiles y yacimientos, su protección debería enmarcarse dentro de un Patrimonio Natural Paleontológico, ya que se trata de objetos naturales, no creados por la acción del hombre. Sin embargo, se debe considerar que es constitutivo de estos objetos, y de la propia ciencia que los estudia, su dimensión histórica y su pertenencia a un periodo determinado de la historia de la tierra.

CONCEPCIÓN DE PATRIMONIO PALEONTOLÓGICO

De acuerdo a Barrera Rodríguez (1990), todo aquel bien, mueble o inmueble, que posee un interés paleontológico, será considerado integrante del Patrimonio Paleontológico. Según Morales (1996), quién distingue entre objetos paleontológicos, los que integren un inventario o catálogo, y patrimonio paleontológico, que se seleccionarían, según criterios objetivos por el determinados, de los que componen ese inventario o catálogo.

También hay que tener en cuenta la coincidencia de valores paleontológicos con otros valores naturales (Formaciones geológicas, ecosistemas, etc.). La gestión de los yacimientos paleontológicos englobados en Formaciones o Zonas con otros valores naturales de importancia, no es un problema de índole conceptual sino competencial y administrativo.

En la actualidad, en el ámbito de Canarias, los bienes paleontológicos son regulados por la ley 16/1985 de 25 de Junio, del Patrimonio Histórico Español y contemplados en la ley 12/1994 de 19 de Diciembre.

En España, se cuenta con la ley de Patrimonio Histórico Español (1985) y la ley de Espacios Naturales Protegidos (1989).

En el Perú, se cuenta con la Ley número 24047 Ley General de Amparo al Patrimonio Cultural y el Decreto Legislativo número 22680 del 19.11.1979, donde se aprueba la Convención sobre las medidas que deben adoptarse para prohibir e impedir la importación, la exportación y la transferencia de propiedad ilícita de bienes culturales de la UNESCO, en el Art. 1 inc. A). Las colecciones y ejemplares raros de zoología, botánica, mineralogía, anatomía y los objetos de interés paleontológicos.

ESTADO ACTUAL DE LAS COLECCIONES DE FÓSILES PERUANOS.

Primero y ante todo, tenemos que estar conscientes que ninguna institución podrá jamás tener una colección completamente suficiente para la formación académica de sus alumnos, y esto tampoco es necesario. De estos dos hechos resulta que es preciso organizar la colaboración entre instituciones. Lo que es indispensable, y está a nuestro alcance hacerlo, es que se organice una eficiente coordinación en la documentación, en la infraestructura, en la accesibilidad a las muestras y en el apoyo mutuo entre las diferentes instituciones educativas y empresariales. Esta coordinación debería realizarse a nivel nacional.

Es de prioridad uno: La documentación referente a las colecciones. La primera pregunta que el estudiante se hace es «¿Dónde están las colecciones de consulta?», seguida inmediatamente de esta pregunta»¿Qué hay en esas colecciones?». Para responder a esas preguntas, se necesita elaborar un registro de las instituciones que disponen de colecciones

científicas de fósiles, con el contenido de las colecciones. Se aconseja elaborar un banco de datos a nivel nacional, computarizado e interconectado, en una especie de red consultiva, de tal manera que el usuario disponga de un máximo de información referente al fósil, de su ubicación y del estado de conservación en que se encuentra.

Esta organización podría también ser muy útil para la consulta empresarial. Imagínese un paleontólogo en función en una empresa o un geólogo de campo que desea confirmar su diagnóstico de una amonita descrita por Carlos Lissón. Con la computadora, en el campo mismo, en conexión con el registro, este profesional podría inmediatamente saber donde comparar su ejemplar y, tal vez, si estamos bien organizados, recibir una imagen por scanner y otros datos necesarios al diagnóstico referente a los ejemplares que están a su alcance en un determinado centro. Entonces, el interesado decidirá si vale o no la pena desplazarse para una consulta personal.

Por supuesto para llevar a cabo este tipo de proyecto de gran eficiencia y calidad se necesitará el concurso de varios especialistas paleontólogos y de diversas orientaciones dentro de esta ciencia.

Eso, a su vez, implica la existencia de universidades peruanas actualizadas en la formación profesional con especialización en paleontología.

En resumen, realizar esta primera etapa de un programa de desarrollo de Paleontología es un proceso bastante realizable:

- a) Se constituye un cuerpo organizado a nivel nacional en el que quedan registradas las instituciones que poseen colecciones científicas de fósiles.
- b) Cada una de las instituciones hace un registro de los ejemplares que están en sus colecciones y elabora un banco de datos con clasificaciones por taxonomía, localidad, edad y otras observaciones útiles como, fauna y flora asociadas, etc...
- c) Se elabora una red informativa.
- d) Paralelamente se publican los catálogos.

Una vez ordenada de este modo la colección nacional, es necesario el mantenimiento de las colecciones en buenas condiciones de conservación.

Para eso se requiere adquirir una infraestructura adaptada, en un ambiente adecuado. Por ejemplo, la humedad de Lima destroza el material fosilífero. La manipulación de los fósiles frágiles también debe evitarse. En el caso de fósiles comunes hay que prever el reemplazo, y si se trata de material difícil de conseguir, es mejor proporcionar moldes de yeso o de plástico a los estudiantes.

Mantener las colecciones implica también un compromiso de complementarlas en forma planificada, armoniosa y paralelamente, con los nuevos trabajos de exploración, de estudio y de investigación por parte de las empresas y universidades. En esta etapa también se necesitará una buena cantidad de profesionales paleontólogos.

Una vez que están ordenadas, la documentación fosilífera, la infraestructura y los ambientes para la conservación, se puede pasar a la etapa de desarrollo de la accesibilidad de consulta y de estudio de las colecciones.

Es necesario de adecuar un ambiente de estudio y el apoyo y dedicación de una persona que atienda a los estudiantes. Puede tratarse, provisionalmente, de un estudiante avanzado, que realice esta tarea como práctica preprofesional bajo la supervisión de un paleontólogo experimentado.

La última tarea, la más importante y la más especializada a cumplir para estar al día con nuestras colecciones, es la actualización en cronología y en taxonomía. ¿Cuántos están registrados con edades incorrectas? ¿Cuántos fósiles tienen una identificación inadecuada, fuente de errores y malentendidos? ¿Cuántos fósiles deben ser estudiados en forma complementaria y figuren «mientras tanto» con un «cf.» o un «aff.», cuando en realidad se trata de nuevos taxones?. En esta etapa es recomendable iniciar el trabajo con los

fósiles tipos y los fósiles guías. Muchos de estos están en peligro de desaparecer con su nombre peruano, absorbidos e incorporados en modernos estudios de bioestadística y población en países vecinos. Necesitan ser descritos de nuevo, en una forma actualizada, y sus especies conocidas más profundamente por estudios bioestadísticos. En la mayoría de los casos se necesita hacer colecciones complementarias en localidades típicas, haciendo columnas estratigráficas y observaciones de campo en sedimentología y paleoecología.

Todos estos trabajos, tan necesarios, se están realizando en los países vecinos, desde décadas y requieren personal de formación universitaria altamente calificada.

La Universidad Ricardo Palma dispone de una sección de Paleobiología en su Museo de Historia Natural. En aquella sección están depositadas varias colecciones de tipos, colecciones de tesis de título de licenciatura de Biología, colecciones privadas, colecciones de intercambio internacionales, colecciones extranjeras y colecciones de investigación. Dentro de las colecciones de investigación se cuentan las muestras de los doctores Víctor Benavides, Hermann Pfefferkorn, Thomas De Vries, Luc Ortlieb, y de los biólogos Aldo Indacochea, Nelly Vargas, Carmen Castro, Pedro Tapia y la suscrita. Por supuesto tiene también sus colecciones de enseñanza, de didáctica que desde que se inició el dictado del curso de Paleontología, en 1969, fueron parcialmente en forma generosa proporcionadas por la profesora de Paleontología de la Universidad Nacional de Ingeniería, la doctora Rosalvina Rivera, y por el entonces profesor de Paleontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Ingeniero Guillermo Morales. Y por terminar, además, dispone de una original colección de etnopaleontología.

También tiene colecciones únicas de fichas de tipos de fósiles peruanos ilustradas, con las descripciones del francés, inglés, latín y neerlandés, traducidas al castellano.

La Universidad Nacional de San Agustín cuenta con su laboratorio de Paleontología donde se guardan restos fósiles desde corales, braquiópodos, trilobites, briozoarios, lamelibranquios, equinodermos hasta restos de vertebrados, producto de las investigaciones realizadas por el doctor Juan Ortiz, la Ing. Vilma Garcia y geólogos egresados.

Así mismo la Universidad Nacional del Altiplano cuenta con el Gabinete de Paleontología, Micropaleontología y Medio Ambiente, donde se encuentran restos fósiles de trilobites, bivalvos, conularios, braquiópodos, gasterópodos y restos de plantas, como resultado de las investigaciones iniciadas en la década del 80 por el Dr. Kurt Grove Froverg, el ingeniero Newton Machaca, algunas tesis de los egresados y la suscrita.

CONCLUSIONES

- 1.- Es necesario establecer un régimen tutelar particular al igual del que disfrutaban otras entidades patrimoniales, como por ejemplo el Patrimonio Arqueológico, Patrimonio Natural y el Patrimonio Cultural..
- 2.- La firma de Convenios entre Universidades nacionales y extranjeras es de vital importancia.
- 3.- Dar inicio a trabajos interdisciplinarios y orientados al análisis entre la vida y la tierra a través del tiempo geológico.
- 4.- Siendo los paleontólogos los custodios de la vida y que nutren nuestro conocimiento sobre el valor que la misma tuvo en la historia de la tierra es necesario propiciar una ley enmarcada dentro del Patrimonio Paleontológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEMAN, V. (1985) Paleontología de los Carbones Paleozoicos Peruanos. Primer Symposium Nacional del Carbón, Lima 1985, Fasc. 5: 12 pp. Universidad Nacional de Ingeniería, Lima.

- ALLEMAN, V. (1994) Los Trigoniidae de la Colección Víctor Benavides, depositados en la URP. Biotempo, 1, URP: 27 – 29. Universidad Ricardo Palma, Lima.
- ALLEMAN, V. (1995) El Estado de la Taxonomía y de las Colecciones de Fósiles Peruanos en Seminario «Cien Años de Paleontología en el Perú. Actas ANCYT, 3 (2): 1 – 5. Academia Nacional de Ciencia y Tecnología, Lima.
- ARCHANGELSKY, S. (1997) Paleontología en el Siglo 21. Noticias, 5 (1-2). Asociación Latinoamericana de Paleobotánica y Palinología, Lima.
- BARRERA, R. (1990) La Ordenación jurídica del Patrimonio histórico. 735 pp. Ed. Cevita, Madrid.
- BENAVENTE, S. (1978) Reconocimiento paleontológico de las Calizas Arcurquina en el Paraje Canihuayo – Cerro Pajonal. Tesis Bachiller en Geología. Universidad Nacional San Agustín, Arequipa.
- BENAVENTE, S. (1986) Fósiles del Devoniano Cabanillas. Resúmenes Campo de Acción de la Ingeniería geológica. Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- BENAVENTE, S. y C. ALVAREZ (2000) Aportes de la Paleobotánica en la Reconstrucción paleoclimática: 199. X Congreso Peruano de Geología. Resúmenes. Sociedad geológica del Perú, Lima.
- CASTILLO, C. y cols. (1999) La Tutelar del Patrimonio Paleontológico en Canarias. Coloquios de Paleontología, 50: 9 – 21. Universidad Complutense, Madrid.
- MELÉNDEZ, G. y cols. (1999) La Comisión de Patrimonio de la Sociedad Española de Paleontología (SEP): antecedentes, constitución y objetivos. Coloquios de Paleontología, 50: 9 – 21. Universidad Complutense, Madrid.
- MORALES, J. y cols. (1999) El Patrimonio Paleontológico Español. Coloquios de Paleontología, 50: 53 - 62. Universidad Complutense, Madrid.
- UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO (1996) Diagnóstico de Funcionamiento de los Laboratorios y Gabinetes. Informe Memoria.
- Velez, A. (1996) Estudio Bioestratigráfico del Potencial petrolífero de la Cuenca del Titicaca. Tesis de Bachiller. Universidad Nacional del Altiplano, Puno.



Fotografía 1: Museo de Historia Natural: La sala de la exposición didáctica de Paleontología, presentada por la autora.



Fotografía 2: Alumnos del curso de Paleontología y la profesora Vera Alleman, realizando las prácticas en la formación Salto de Fraile, Moro Solar – Chorrillos, Lima.

SEMBLANZA DEL D R. SANTIAGO ERIK ANTÚNEZ DE MAYOLO

Antonio Brack Egg¹

Estimadas amigas y estimados amigos.
Autoridades de la Universidad Ricardo Palma.
Familiares del Dr. Santiago Antúnez de Mayolo Rynning.

Hacer la semblanza del Dr. Santiago Erik Antúnez de Mayolo Rynning es hacer la semblanza de un peruano muy destacado, quien durante 93 años ha realizado estudios en el Perú, en Estados Unidos de Norteamérica y en Brasil; ha formado una familia como esposo, padre, abuelo y bisabuelo; ha servido a la Nación como diputado durante 9 años; ha sido docente universitario; ha contribuido con numerosas publicaciones a la ciencia ya la cultura; y ha dedicado su vida entera a investigar los alimentos y las tecnologías del Perú prehispánico. Se trata de un peruano, que en su larga vida ha un gran amor por la Patria y un afán constante para construir un país mejor.

Santiago nace en Aija, Ancash, en la Cordillera Negra, un 4 de abril de 1913. Su padre fue el sabio y visionario Santiago Antúnez de Mayolo Gomero, promotor de las hidroeléctricas en nuestro país, e incansable maestro en enseñar a los peruanos que la energía hidroeléctrica era una energía limpia y de enorme futuro. Hoy, en el siglo XXI y en un mundo agobiado por las emisiones de gases de efecto invernadero, los peruanos recién comenzamos a entender sus visionarias recomendaciones para hacer uso de la energía limpia.

Su madre, Lucie Rynning, noruega, fue nutricionista y creadora de la Sociedad del Bien del Hogar en Lima, que durante 60 años contribuyó a la formación de las mujeres peruanas en la gestión del hogar y en una alimentación sana con base en los productos peruanos. Esta Sociedad fue la semilla del Instituto Pedagógico Femenino.

Estudió la primaria en Lima en el Colegio de los Sagrados Corazones de Belén y en el Colegio La Inmaculada, y la Secundaria en el Colegio de los Maristas en Lima y la concluyó en el Colegio La Libertad de Huaraz.

Terminada la Secundaria, Santiago Erik quería ser ingeniero agrónomo, pero su madre le recomendó estudiar abogacía. Se graduó de abogado y doctor en Historia en 1938 en la Universidad Nacional

Mayor de San Marcos; en 1941 concluye sus estudios en la Chapell Hill University de Carolina del Norte en Estados Unidos de Norteamérica en Administración de Gobierno; en 1961 se gradúa en Administración de Empresas y Gerencia en la Universidad Getulio Vargas de Brasil; y en 1969 termina sus estudios de Economía en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se casa con Susana Maurer Carriquirry, limeña y de ascendencia suiza, vasca y francesa, una persona tan buena que en el libro *Budismo: Unidad y Diversidad*, publicado por la Fundación

¹ En ocasión de la Distinción Académica de Doctor Honoris Causa, otorgada al Dr. Santiago Erik Antúnez de Mayolo; el 16 de Octubre del 2006, por la Universidad Ricardo Palma.

de Estudios Budistas de Argentina, los doctores Fernando Tola y Carmen Dragonetti le pusieron la dedicatoria «*A la querida memoria de Susana. Antúnez de Mayolo, el ser más bueno que hemos conocido*». En este hogar nacieron María Lucie, psicóloga; Erik Jorge, constructor; Francisco Javier, empresario; y Susana, maestra de inicial y terapeuta de lenguaje. Hoy, Santiago Erik está rodeado del cariño de doce nietos y de siete bisnietos.

DIPUTADO DE LA NACIÓN

En 1939 fue elegido como diputado por Ancash a los 25 años, y fue el más joven de la Cámara, cargo que desempeñó desde 1939 hasta 1948. Esta fue la ocasión de su vida para preocuparse por su tierra Aija y por su departamento Ancash, demostrando visión, creatividad y servicio inigualables.

Promovió la Ley de creación de la Corporación del Santa, de la Siderúrgica de Chimbote y de la Central Hidroeléctrica del Cañón del Pato.

Fomentó los estudios para las hidroeléctricas de Machupicchu y el Mantaro, que hoy lleva el nombre de su ilustre padre.

Fomenta el represamiento del río Santa para las irrigaciones de Chao y de Virú.

Crea el Instituto Pedagógico Superior Agropecuario de Monserrate con los mejores adelantos de la época; los Colegios Industriales de Varones y de Mujeres; y el Taller de Industrias Manuales, donde se hilaba y se hacían telas y ropas para los centros mineros.

Fomenta el establecimiento de escuelas en todos los caseríos y lleva profesores capacitados desde Lima, Cusco y Arequipa.

Con una enorme visión de futuro, establece un laboratorio de investigación química para obtener los principios activos de la flora andina y permitir a los pobladores generar riqueza.

Fomenta el establecimiento de dos comisiones en el Congreso: una para establecer la carrera pública, y otra para la codificación y compilación de todas las leyes vigentes.

Los frutos a favor de su provincia no se hicieron esperar: el analfabetismo descendió y el distrito tenía el índice más bajo de todo el departamento.

DOCENTE, INVESTIGADOR Y ESCRITOR

Durante sus largos años se dedicó a la docencia, porque quien tiene ideas innovadoras siente el enorme deseo de transmitir las a los demás. Fue Profesor de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Dedicó su vida entera a investigar los alimentos y las tecnologías del legado milenario de las culturas ancestrales de nuestro país, y el fruto son diversos libros, entre los que destacan: *Nutrición en el Antiguo Perú*, *Regeneración de Agua y Suelo y su Efectos en la Alimentación*; *Sistema Precolombino de Previsión del Clima*; y *Guía para la Planificación Familiar*.

En su permanente afán de contribuir a la cultura y al desarrollo del país, ha editado 43 volúmenes sobre el Perú y su Geografía, y 57 volúmenes para la formación de padres y maestros en la educación, formación y desarrollo del niño. .

Trabajó como empresario en la industria de metal mecánica, de porcelana, de cemento y de madera. Incursionó en la Banca y fue Gerente del Banco Minero y Apoderado General del Banco Central de Reserva.

DISTINCIONES

Tantos años dedicados al país le merecieron diversos reconocimientos: en el 2006 fue distinguido con la Medalla de Maestro Universitario por la Asamblea Nacional de Rectores; en el 2000 se le otorgó el premio

internacional La Kiwicha de Oro; en 1995 recibió la Medalla de

Maestro; ha sido declarado Hijo Ilustre de Aija, su tierra natal. Es Miembro Honorario del Colegio de Nutricionistas del Perú. Fue Asesor del Proyecto Especial Alto Mayo. Fue Miembro Fundador del Consejo Nacional de Investigación, hoy Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Es Presidente Honorario de la Sociedad Geográfica de Lima.

EL TESTIMONIO DE SUS HIJOS

Sin embargo, el testimonio de sus hijos, es el más profundo y grato. Escribe una de sus hijas:

Mi papá es un hombre enamorado del Perú, de su historia y de su destino. Su pasión es el desarrollo de la inteligencia del niño peruano. Su vida y su esfuerzo han sido una lucha constante, muchas veces contra la corriente para lograrlo. Su motor ha sido el amor al Perú y su anhelo el poder contribuir al desarrollo de los niños peruanos, y su visión de un Perú próspero e inteligente, líder en América y en el mundo.

Cuando crecimos vimos a mi papá volcarse de lleno a su verdadera vocación, el estudio de la nutrición en

el antiguo Perú y la educación de padres y maestros, para que los niños peruanos logren su potencial Para nosotros, sus hijos y todas las personas que lo conocen, mi papá es una constante fuente de inspiración.

¿Quién puede darse por vencido cuando has visto a tu papá levantarse y volver a empezar una y otra vez, con más fuerza e ilusión que antes?

En su afán de defender y ser una voz a favor de aquellos que no la tienen, mi papá ha escrito centenares de cartas a las autoridades y ha publicado artículos en los periódicos, exponiendo problemas y proponiendo soluciones.

Es por estas razones que hoy, cuando la Universidad Ricardo Palma distingue al Dr. Santiago Antúnez de Mayolo Rynning con el título de *Doctor Honoris Causa*, en nombre de todos los peruanos y en un sentimiento unísono le decimos:

Muchas gracias por lo que ha hecho por nuestro país; su vida es un ejemplo para todos, en especial para los jóvenes; es usted uno de esos peruanos que han demostrado un perfil de coraje por su lucha constante en favor de la inteligencia de los niños, y, aunque los años

REVISTA BIOTEMPO, VOL 6

Se terminó de imprimir
en el mes de noviembre del 2006,
en los talleres gráficos de Garden Graf,
Cel. 9732 5176 gardengraf@yahoo.com

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

BIOTEMPO

REVISTA DE INVESTIGACIÓN

Contenido

INDUCCIÓN DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN «PAPAYO» (*Carica papaya* Linnaeus)

Antonietta Gutiérrez-Rosati, Consuelo Jiménez y Jean Yépez Maravi.

MECANISMOS ENDÓGENOS IMPLICADOS EN LA EMBRIOGÉNESIS CIGÓTICA Y EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA: GENERALIDADES Y ÚLTIMOS DESCUBRIMIENTOS

Antonietta Gutiérrez Rosati, Sandy Espinoza, Danilo, Arias y Víctor Caro

INFLUENCIA DEL ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA MADURACIÓN *in vitro* DE OVOCITOS DE PORCINO

Hugo Mauricio Gonzáles

DESARROLLO EMBRIONARIO DE *Tetrapygus niger* (Molina, 1782) «Erizo Negro» EN DIFERENTES TEMPERATURAS

Pamela Olaechea, Juan José Panéz y Hugo Gonzáles-Figueroa.

CARACTERIZACIÓN LEUCOCITARIA DEL PEZ AMAZÓNICO *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823) (PERCIFORMES: CICHLIDAE) DE PERÚ

José Iannacone, Cinthya Bello, Nancy Hernández y María Díaz

MANEJO COMUNAL DE FAUNA SILVESTRE EN EL PARQUE NACIONAL CORDILLERA AZUL, SAN MARTÍN - PERÚ

Jorge Watanabe Sato

BIOLOGÍA DE *Brachmia convolvuli* Walsingham (Lepidoptera: Gelechiidae)

Menandro S. Ortiz, Mario E. Aguana, Verónica E. Rubí de Celis.

ALIMENTOS TRANSGÉNICOS

Lidia Cruz Neyra

OBTENCIÓN DE RATONES ALBINOS EN UN CAMPO MAGNÉTICO PULSANTE DE 5 mT, 60 HZ Y DESARROLLO DE SU MASA CORPORAL

Ivan Ramírez Jiménez, Oscar Barces, Sabina Gutiérrez y Rocío Coca M.

ESTADO ACTUAL DEL PATRIMONIO PALEONTOLÓGICO DEL PERÚ

Vera Alleman

SEMBLANZA DEL Dr. SANTIAGO ERIK ANTÚNEZ DE MAYOLO

Antonio Brack Egg

