

Naturalia

ISSN 0327 - 8050
ISSN 0327 - 5272

patagónica

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PATAGONIA SAN JUAN BOSCO

Volumen 4 (1) - mayo 2008



Sede Trelew – U.N.P.S.J.B.

NATURALIA PATAGONICA

Volumen 4 (1) - Mayo 2008

**Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco**

Director

Dr. Miguel A. Bertolami

Secretaria de Redacción

Dra. María Luján Flores

Editor

Dra. Mónica L. Freile

Tesorero

Dra. Sandra M. Feijóo

Comité Editor

Dra. Mónica Casarosa

Dr. Osvaldo L. Córdoba

Dra. Adriana M. Nillni

Lic. María R. Carballo

Evaluadores

Dr. Lorenzen Sievert

Dra. Estela Lopretto

Dra. Marta Collantes

Dr. Fernando Novas

Dr. Néstor J. Cazzaniga

Dra Susana I. Bezzi

Dr. Juan C. Mallo

Dr. Carlos Passera

Dr. Gabriel Oliva

Dr. Juan M. Sayago

Ing. Antonio D. Dalmasso

Dr. Eduardo Vallarino

Dr. Leonardo Salgado

Dra. Graciela Ferraro

Dra. Mirta Arriaga

Dra. Claudia Anesini

Dra. Martha Gattuso

Dra. Susana Gattuso

Dra. Cristina de Villalobos

Dr. Carlos A. Stortz

Dr. Diego Pol

Dr. Daniel Delamo

Dra. Ana M. Giuliatti

Dra. Isabel Moreno Castillo

Dra. Ana Salazar

Dra. Laura B. López

Dra. Mirta E. Valencia

Dra. Milka Brodtkorb

Dr. Arturo Tabeada

Lic. Gabriel M. Martin

Dr. Marcelo F. Tejedor

Dra. Alicia Boraso

EDITORIAL

Con este ejemplar, se realiza la entrega de un nuevo número de Naturalia patagónica, el cual corresponde al cuarto volumen desde el relanzamiento realizado en el año 2002, donde se definió la diversidad temática en la misma, para los temas vinculados a la Facultad de Ciencias Naturales.

Para el presente se ha considerado como en los anteriores, la inclusión de los resúmenes expandidos a partir de posgrados obtenidos, durante el período 2007-2008 por los docentes-investigadores de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia, que con esfuerzo realizan estas actividades, a pesar de las dificultades propias de un contexto económico no totalmente favorable y con la intención además de otorgarles una difusión mayor.

Es de destacar que nuevamente se realiza la presente edición con un gran esfuerzo económico y personal tratando de mantener la calidad de la producción, enviando los manuscritos correspondientes a dos árbitros nacionales o internacionales y con la intención de sostener nuestra presencia en forma continua.

Agradecemos nuevamente el apoyo económico de ADU (gremio docente universitario) por su constante apoyo, como así también a la Facultad de Ciencias Naturales y la Secretaría de Extensión de la UNPSJB.

Confiamos en la buena receptividad de Naturalia Patagónica entre nuestros lectores habituales y entre los lectores en general, que se interesen por la problemática de las ciencias naturales en el ámbito de la región, invitando además a otros autores al envío de su producción para ser publicada en nuestra revista y de esta forma contribuir al crecimiento de la misma.

Dr. Miguel Ángel Bertolami
Director

ING. QCO. Y AGRIM. ALDO RAUL LOPEZ GUIDI

1941 – 2007

Q.E.P.D.

Nació en San Antonio Oeste, Río Negro, el 28 de mayo de 1941. Cursó estudios primarios en Comodoro Rivadavia. También vivió en Puerto Deseado (Santa Cruz) y en otras localidades patagónicas. Sus estudios universitarios los realizó en la Universidad Nacional de La Plata, donde recibió en 1965 el título de Ingeniero Químico y en 1975 el título de Agrimensor. Comenzó sus actividades en política universitaria siendo estudiante y fue presidente de la FULP (Federación Universitaria de La Plata) en épocas democráticas. Una vez recibido de Ingeniero, se desempeñó como técnico en la producción de papel celofán en la empresa Ducilo.

Participó y defendió fuertemente desde los inicios, la creación de la Sede Esquel de la entonces Universidad Nacional de la Patagonia, que empezó a funcionar el 14 de abril de 1975. En conjunto con el Ing. Juan Enricci, planificaron la creación de un Centro de Investigaciones Forestales (CIF) en Esquel, concretándolo en septiembre de 1981, dependiente de la Facultad de Ciencias Naturales (UNPSJB), siendo López Guidi su primer Director hasta diciembre de 1983, en que el entonces Presidente Alfonsín, lo nombró Rector Normalizador de la Universidad.

Sus actividades como Rector Normalizador abarcaron desde 1983 hasta 1986, período durante el cual promovió la creación de nuevas carreras de interés regional (como la Licenciatura en Ciencias Biológicas), potenció la Secretaría de Ciencia y Técnica y creó las Sedes de Puerto Madryn y Ushuaia, a la vez que consolidó la situación académica de las sedes de Comodoro Rivadavia, Trelew y Esquel. Con la Universidad normalizada y democratizada, las Cátedras concursadas y un Estatuto propio, entregó el cargo en mayo de 1986 al primer Rector elegido por los claustros, Profesor Pinelli. Entre 1986 y 1992 fue Delegado Zonal de la Sede Puerto Madryn. Entre 1992 y 1995 volvió a residir en Comodoro Rivadavia pues fue elegido Vicerrector de la UNPSJB, siendo Rector el Lic. Arturo Canero. Durante esta gestión creó los PAIDER (Programas de Apoyo a la Investigación y Desarrollo Regional), destacándose el de Aceites Esenciales, Forestales, y UATA. En abril de 1995 volvió a su querida ciudad de Esquel como Delegado Zonal, cargo que ejerció por un año, etapa en que consolidó la actividad académica de la Sede, mejoró la estructura edilicia y continuó dictando clases en la Cátedra de Industrias Forestales II. Además se desempeñaba como primer Presidente de la Fundación Bosques de la Patagonia (cargo que tuvo hasta noviembre de 1999) y participaba como miembro del Consejo Directivo del CIEFAP.

Falleció el 7 de abril luego de una larga enfermedad.

Su amigo y colega académico, Ing. Juan Enricci, quien presentó una reseña

Naturalia patagónica

ISSN 0327 - 8050

ISSN 0327 – 5272

de su vida en la Editorial de *Patagonia Forestal*, finalizó con una frase que me permito transcribir para concluir este recordatorio “*descansa en paz querido “hermano”, tus ideas y tu gestión seguirán en marcha y dando sus frutos*”...

Dra. María Luján Flores
Sec. de Redacción

CONTENIDO

Artículo de Revisión

Musacchio Eduardo A. LOS CONOCIMIENTOS EN GEOCIENCIAS: CASOS, REFERENTES Y ACREDITACIÓN.....1-22

Artículos Científicos

Acosta Néstor. ANÁLISIS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PARA LA CARACTERIZACIÓN DE RESERVORIOS CLÁSTICOS DE AMBIENTE CONTINENTAL. CUENCA DEL GOLFO SAN JORGE. ARGENTINA.....23-36

Alcalde Sandra M., Taira Carlos A., Córdoba Osvaldo L., Flores María L. CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO FARMACOGNÓSTICO DE *CHILIOTRICHUM DIFFUSUM* (ASTEREACEAE).37-45

Becerra Mónica B., Pinto Vitorino Graciela, Uhrich Analía V., Ponce Nora M.A., Córdoba Osvaldo L., Stortz Carlos A., Flores María L. ESTUDIOS QUÍMICOS Y BIOACTIVIDAD DE *SCYTOSIPHON LOMENTARIA* (SCYTOSIPHONACEAE), UN ALGA PARDA DE LAS COSTAS PATAGÓNICAS ARGENTINAS.....46-62

Belchior Estevao Silvia, Alvarez Laura, Jodor Nadia. CONTROLES MICROBIOLÓGICOS EN ÁREAS DE PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS DE SERVICIOS DE COMIDAS A EMPRESAS..... 63-73

Bertolami, M. A.; Mendos. M. G., Gonzalez, L. V. DEGRADACIÓN DE UNIDADES DE PAISAJE EN EL ÁREA DEL GOLFO SAN JORGE (Chubut-Argentina)74-92

Córdoba Osvaldo L., Mrla Clarisa J., Rico Alicia, Flores María L. ASPECTOS QUÍMICOS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *STICTOSIPHONIA HOOKERI* (RHODOMELACEAE, RHODOPHYTA).....93-102

Genini, A., Nillni, A. y Bernhardt, H-J. SULFOSALES DE PLATA DEL YACIMIENTO MINA MARTHA, MACIZO DEL DESEADO, PROVINCIA DE SANTA CRUZ, ARGENTINA103-110

Giménez Olga, Salgado Leonardo, Cerda Ignacio A. OSTEOHISTOLOGÍA DE LA VIGA SUPRANEURAL DEL SACRO DEL TITANOSAURIO *EPACHTHOSAURUS SCIUTTOI* (CRETÁCICO TARDÍO DEL CHUBUT)....
.....111-117

Góngora, H. G. y Ruiz, A. E. EXPERIENCIA PILOTO DE ALIMENTACIÓN PORCINA CON ENSILADO QUÍMICO DE PESCADO EN EL VALLE INFERIOR DEL RÍO CHUBUT.....118-126

Tesis de Doctorado de Docentes e Investigadores de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (2007).

Feijóo Mabel S. ESTUDIO ANATOMICO COMPARADO DE ESPECIES PATAGONICAS DEL GENERO *ELEOCHARIS* (CYPERACEAE). EVALUACION PRIMARIA DE SU CALIDAD FORRAJERA.....127-131

Fernández Sara E. LAS ESPECIES DEL GÉNERO *SCHINUS* L. (ANACARDIACEAE) EN PATAGONIA. UN ESTUDIO ANATÓMICO APLICADO AL DISEÑO DE ESTRATEGIAS DE MONITOREO FITOSANITARIO Y AMBIENTAL.....132-137

Herrera Olga S. ESTUDIO DE REACCIONES DEL TIOFENO Y DERIVADOS CON RADICALES EN FASE GASEOSA Y EN SOLUCIÓN.....138-141

Ortiz Susana R. ULTRASONOMETRÍA EN ADULTOS JÓVENES DE TRES ÁREAS GEOGRÁFICAS DE ARGENTINA: SU RELACIÓN CON MARCADORES ÓSEOS EN ORINA BASAL Y CON LA INGESTA DE CALCIO.....142-145

Pinto Vitorino Graciela. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS QUINOLONAS ANTIBACTERIANAS.....146-149

Ponce Nora M. A. ESTUDIO DEL SISTEMA DE POLISACÁRIDOS DE *ADENOCYSTIS UTRICULARIS*, UN ALGA PARDA DE LAS COSTAS PATAGÓNICAS ARGENTINAS DE POSIBLE UTILIZACIÓN FARMACOLÓGICA Y/O INDUSTRIAL.....150-153

Tesis de Maestría de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (2007).

Zalazar Hilda del Valle. ASOCIACIONES DE CIANOFÍCEAS MARINAS BENTÓNICAS EN PUNTA MAQUEDA (SANTA CRUZ).....154-157

Volumen 4 (1) - Mayo 2008

CONTENTS

Review

Musacchio Eduardo A. The Geosciences knowledge: cases, referents and the accreditation.....1-22

Research articles

Acosta Néstor. Analysis of Nuclear Magnetic Resonance for Characterization of Continental Clastic Reservoirs. San Jorge Gulf Basin – Argentina.....23-36

Alcalde Sandra M., Taira Carlos A., Córdoba Osvaldo L., Flores María L. Contribution at pharmacognostic knowledge of the *Chilotrimum diffusum* (Astereaceae).37-45

Becerra Mónica B., Pinto Vitorino Graciela, Uhrich Analía V., Ponce Nora M.A., Córdoba Osvaldo L., Stortz Carlos A., Flores María L. Chemical studies and bioactivity of *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonaceae), a brown seaweed of the argentinean patagonic shores.46-62

Belchior Estevao Silvia, Alvarez Laura, Jodor Nadia. Microbiological control of the surfaces in food-services establishments.....63-73

Bertolami M. A.; Mendos M. G., Gonzalez, L. V. Landscape Units degradation in the Golfo San Jorge Area (Chubut-Argentina).....74-92

Córdoba Osvaldo L., Mrla Clarisa J., Rico Alicia, Flores María L. Chemistry aspects and Biological Activity of Extracts from *Stictosiphonia hookeri* (Rhodomelaceae, Rhodophyta).....93-102

Genini A., Nillni A. y Bernhardt H-J. Ag sulfosalts of Mina Martha deposit, Deseado Massif, Santa Cruz province, Argentina Province.....103-110

Giménez Olga, Salgado Leonardo, Cerda Ignacio A. Osteohistology of the Supraneural Stripe of the Sacrum of *Epachthosaurus sciuttoi* (Late Cretaceous of Chubut).....111-117

Góngora H. G. y Ruiz A. E Pilot experience of porcine feeding with Chemical Fish Silage in Down Valley of Chubut River118-126

Thesis (Doctor degree) of researches of the Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (2007).

Feijóo Mabel S. ESTUDIO ANATOMICO COMPARADO DE ESPECIES PATAGONICAS DEL GENERO *ELEOCHARIS* (CYPERACEAE). EVALUACION PRIMARIA DE SU CALIDAD FORRAJERA.....127-131

Fernández Sara E. LAS ESPECIES DEL GÉNERO *SCHINUS* L. (ANACARDIACEAE) EN PATAGONIA. UN ESTUDIO ANATÓMICO APLICADO AL DISEÑO DE ESTRATEGIAS DE MONITOREO FITOSANITARIO Y AMBIENTAL.....132-137

Herrera Olga S. ESTUDIO DE REACCIONES DEL TIOFENO Y DERIVADOS CON RADICALES EN FASE GASEOSA Y EN SOLUCIÓN.....138-141

Ortiz Susana R. ULTRASONOMETRÍA EN ADULTOS JÓVENES DE TRES ÁREAS GEOGRÁFICAS DE ARGENTINA: SU RELACIÓN CON MARCADORES ÓSEOS EN ORINA BASAL Y CON LA INGESTA DE CALCIO.....142-145

Pinto Vitorino Graciela. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS QUINOLONAS ANTIBACTERIANAS.....146-149

Ponce Nora M. A. ESTUDIO DEL SISTEMA DE POLISACÁRIDOS DE *ADENOCYSTIS UTRICULARIS*, UN ALGA PARDA DE LAS COSTAS PATAGÓNICAS ARGENTINAS DE POSIBLE UTILIZACIÓN FARMACOLÓGICA Y/O INDUSTRIAL.....150-153

Thesis (Master degree) of researches of the Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (2007).

Zalazar Hilda del Valle. ASOCIACIONES DE CIANOFÍCEAS MARINAS BENTÓNICAS EN PUNTA MAQUEDA (SANTA CRUZ).....154-157

Naturalia patagónica, 4(1): 1-22 (2008)

Artículo de revisión

**LOS CONOCIMIENTOS EN GEOCIENCIAS:
CASOS, REFERENTES Y ACREDITACIÓN.**

The Geosciences knowledge: cases, referents and the accreditation

Musacchio Eduardo A.

Laboratorio de Bioestratigrafía - FCN - UNPSJB, Ciudad Universitaria. (9000) Comodoro Rivadavia, Argentina. E-mail: emusacchio@yahoo.com

RESUMEN

La revisión de la Carta Estratigráfica Internacional que lleva a cabo la Comisión Estratigráfica Internacional es tratada en el marco de la Filosofía de las ciencias. Los procesos recurrentes parecen necesarios para precisar el deslinde de los estratos-tipo. Los procesos irreversibles permiten, en cambio, dar identidad a las entidades cronoestratigráficas. En la segunda parte del trabajo se discute la construcción de la Carta Estratigráfica Internacional desde la perspectiva de la Sociología de la Ciencia. El caso *La curva de Vail*, propuesta durante la pasada década de los años 80 para establecer correspondencias en el tiempo geológico, permite testar cuatro perspectivas sociológicas dedicadas al análisis de teorías científicas y a la producción de conocimientos. Las nociones de validación y de acreditación son discutidas con el apoyo de la experiencia dejada por el caso mencionado.

Palabras clave: Estratigrafía, Tiempo geológico, Filosofía de las geociencias, validación, acreditación.

ABSTRACT

The stable core of the Theory of Geological Evolution and the Uniformitarianism are presented as *explanans* reasoning particular cases from the disciplinary field of stratigraphy. Dealing with the praxis adopted by geologists and palaeontologists, the qualities of the terms object, referent, and case are distinguished. Epistemological topics concerning some of the notions underlying the construction of the International Stratigraphic Chart and the geochronologic units are dealt. The physical recurrent-processes (cyclicality, magnetic reversions and orbital regularities) sustain strategies providing precisions between strato-types boundaries. However, irreversible processes deserve priority to characterize the chronostratigraphic units. The Stratigraphic Guide (SG), published by the International Commission on Stratigraphy (ICS), is a clear example of scientific knowledge construction integrated by the scientific community. Differences between validation and accreditation of the knowledge in geosciences are assumed. The validation of theories and explanations is guided by the inner consistency in the frame of accepted *explanans*. However, social statements (the scientific community and the society in a broader sense) guide the accreditation. The Vail-Curve's case allows depicting four sociological theories devoted to the scientific knowledge. First, the so-called Strong Program (SP) of the Edinburgh School is considered. This sociological perspective accounts for the role played by the geosciences community: the ICS leads the systematic, the language and the praxis of stratigraphers. In this frame the attribute of *finitism*, which characterizes the Stratigraphic Guide (SG) as example of human construction, is recognized. The agenda of EPOR, devoted to scientific theories, together with statements of sociologists about research practices carried by scientists, are analysed in the context of the Vail's case. At the end, the evolution of the work of Latour, providing a perspective to watch Uniformitarianism as a seated-Theory in Geosciences, is mentioned.

Key words: Stratigraphy, Geologic Time, Philosophy of Geosciences, Constructivism.

INTRODUCCIÓN

Los casos que se tratan en esta contribución provienen del área de la Estratigrafía, disciplina que se ocupa de las rocas sedimentarias en la corteza terrestre y sus relaciones espacio-temporales. La Estratigrafía es cultivada tanto por científicos que hacen públicos sus trabajos, como así también por investigadores quienes -ocupados en emprendimientos dedicados a la

producción- sólo ocasionalmente pueden dar a conocer algunos de sus resultados dentro del circuito de la ciencia pública. Este campo del conocimiento geológico resulta de interés no solamente para los que desean "dialogar con la Tierra" sino también para los filósofos y los sociólogos que se preguntan por la validación y la acreditación de los conocimientos en diferentes campos de las ciencias. Un análisis somero de la producción dentro de la disciplina anotada, la que cuenta

solamente con dos siglos de trabajo intenso, muestra un panorama muy atractivo para el epistemólogo y para el estudioso del análisis estructural de teorías. Además, las geociencias cuentan con una comunidad científica organizada en el marco de la Unión Geológica Internacional (*IUGS* por *International Union of the Geological Sciences*) y, en particular la Estratigrafía con la Comisión Estratigráfica Internacional (*ICS* por *International Commission on Stratigraphy*), hacia donde los sociólogos pueden orientar sus "miradores".

Por la riqueza de sus implicancias multidisciplinares y la vigencia de su problemática, este trabajo incluye una parte dedicada al Tiempo Geológico. La *ICS* está revisando, o re-elaborando, una *Carta Estratigráfica Internacional* (Cuadro I). Por esta razón, la presente contribución analiza algunos criterios adoptados para la "medición" del tiempo global. En particular, será de interés el caso histórico de *La curva de Vail* elaborada por geólogos y geofísicos de la Empresa Exxon como instrumento para calibrar el tiempo geológico. Hacia fines del siglo pasado, dicha propuesta tuvo un fuerte impacto en la comunidad científica tras su primera presentación pública (Vail et al., 1977). Rápidamente, esta propuesta fue adoptada en textos y numerosos trabajos estratigráficos, tanto "académicos" como "aplicados", incluyendo también contribuciones elaboradas por geólogos de la misma empresa Exxon después que gran parte de la comunidad internacional de estratígrafos la acreditara. En poco tiempo, se advirtió que los datos que sustentaban la propuesta eran frágiles o espurios debidos a su obtención en comarcas donde la influencia de la tectónica local era evidente al sumar o restar los efectos del ascenso relativo del

nivel del mar. Con respecto a las precisiones cronológicas que *La Curva de Vail* supuestamente aportaba, cambiando las estrategias de correlacionar en el tiempo geológico, resultaron sin embargo opacadas por la sospecha sobre el carácter diacrónico de los horizontes de reflexión en que se sustentaban.

Entre los objetivos de la presente contribución se destaca el de aclarar la diferencia entre lo que las geociencias "*dicen que hay*" en un momento determinado de la construcción de sus conocimientos y "*lo que hay*" en la naturaleza. Esto último distingue al análisis epistemológico desde la perspectiva de la Geología Histórica cuando se la compara con otras disciplinas, también históricas. "*Lo que hay*" en el campo de las geociencias incluye un registro de referentes fácticos, u objetos, que son independientes de los investigadores y su imaginario. La parte final de la contribución está dedicada al Caso de *La curva de Vail* desde la perspectiva de las ciencias sociales. Este Caso será usado para testar algunas teorías sociológicas sobre el conocimiento científico; en particular en lo atinente al rol que juegan los acuerdos en la adopción y acreditación colectiva de teorías. Así, los objetivos centrales del trabajo se pueden listar como sigue:

a. Presentar el núcleo estable de la Teoría de la Evolución Cortical en su rol de explicantes (*explanans*) para los casos que plantea el registro geológico.

b. Reconocer y analizar las fuentes y la naturaleza de las nociones que fundamentan la construcción de la Carta Estratigráfica Internacional y las entidades geocronológicas.

c. Distinguir entre validación y acreditación de los conocimientos en geociencias.

d. Considerar las propuestas de algunas teorías sociológicas desde la perspectiva que ofrece el caso *La curva de Vail* en geociencias.

Finalmente, se listan las hipótesis que este trabajo pretende poner a prueba:

1. Los testimonios del registro estratigráfico son tangibles (o corpóreos) y se desligan del contexto del descubrimiento a medida que las teorías se estabilizan. En tal sentido, permanecen como referentes, a los que puede acudir para testar diferentes enunciados observacionales.

2. El lenguaje, las pautas y, en sentido amplio, la acreditación de los conocimientos dentro las ciencias de la Tierra están controlados por la comunidad científica y la sociedad a la que dicha comunidad responde. La interacción entre necesidades u objetivos diferentes produce un arreglo jerárquico de interdependencias para dicha acción social, interacción ésta que es multifactorial, estructurada según los casos, y móvil en el tiempo.

3. En el marco de teorías asentadas en el tiempo debido a su coherencia interna, los contextos del descubrimiento y de la acreditación pierden relevancia.

MÉTODO

En el marco de una comunidad científica, el cierre del debate dentro de una teoría vigente, parece un indicador de estabilidad de los conocimientos que la teoría propone. Un buen ejemplo para defender esta aproximación metodológica es la Teoría Heliocéntrica. Aristarco de Samos (-310 aC - 230 aC), sobre la base de observaciones en eclipses lunares, argumentó que los movimientos

periódicos observables en el cielo se podían explicar imaginando que la Tierra rotaba diariamente y se trasladaba alrededor del sol, como así también que la luna se trasladaba alrededor de la Tierra. Poco se sabe del contexto del descubrimiento de esta teoría según la propuso Aristarco. En el presente, el núcleo estable de la Teoría Heliocéntrica parece, sin embargo, fuera de discusión. De un modo similar, la noción de cambio evolutivo controlado por procesos naturales según las teorías de la Evolución Geológica y de la Evolución Biológica parece hoy fuera de discusión en el marco de las comunidades científicas respectivas. La Teoría de la Evolución (tanto la que atiende los cambios corticales como los biológicos) mantiene su núcleo estable desde el Siglo XIX.

En el caso de la Teoría de Evolución de la corteza terrestre, este núcleo incluye: conceptos pre-teóricos, enunciados primarios, un axioma central, enunciados derivados y corolarios. Los conceptos preteóricos son nociones que el hombre adquirió empíricamente en su interacción con la naturaleza: erosión, depositación, estratificación, volcanismo, mudanzas geográficas, etc. Un momento clave para las geociencias resultó de la formulación de los tres enunciados o "leyes" por parte de Steno, 1666 (cf. Vai, 2006) sobre la *horizontalidad inicial* de los estratos, la *superposición estratigráfica* y, finalmente, la *continuidad lateral* de las capas, permitiendo este último enunciado comprender mejor el sesgo causado en los estratos por la erosión. En el caso de las geociencias, el principio rector del *Uniformitarismo* (cf. Lyell, 1830-1833) postula, sin petición de demostración, el rol de los procesos naturales en el desarrollo evolutivo de la corteza

terrestre. Este núcleo básico permitió el rápido avance de diferentes disciplinas geológicas en el Siglo XIX, tales como la estratigrafía y la bioestratigrafía. Las diferentes disciplinas geológicas están muy ligadas a enunciados o regularidades que pueden ser deducidas del axioma central antes anotado. En Estratigrafía, por ejemplo, puede mencionarse la “ley” de Walter según la cual las litofacies distribuidas en el espacio aparecen organizadas en la sucesión estratigráfica vertical correspondiente.

El debate histórico entre *uniformitarismo* vs. *catastrofismo*, o bien, entre *evolución gradual* vs. *evolución discreta* (o *por saltos*) parece hoy fútil en el marco del conocimiento científico de las ciencias fácticas. La estabilidad mencionada, no se verifica en el desarrollo histórico de todos los campos científicos por igual. Así, la noción del tiempo, el espacio y masa como invariantes, nociones éstas que están implícitas en los axiomas de la Mecánica newtoniana ha perdido vigencia. En la Física, el debate instalado por recientes teorías indica que este campo del conocimiento está pasando por una etapa de saludable desarrollo. Quizás en este sentido puede afirmarse, siguiendo a Latour y Woolgar (1987): “*Cuando la naturaleza es considerada como la causa de descripciones precisas en si mismas (los sociólogos) no pueden ser más relativistas que los científicos.*”

En síntesis, este apartado metodológico defiende el punto de vista según el cual en geociencias (y también en Paleobiología y Evolución según el autor, 2006) se dispone de un cuerpo mínimo, aunque estable, de explicantes teóricos.

Este *explanans*, ciertamente ha sido construido por los científicos. Dicho núcleo teórico básico permite escoger observaciones, formular hipótesis de trabajo, guiar las estrategias metodológicas y testar, con la ayuda de modelos, la coherencia de los resultados finales de una investigación.

MATERIALES

a. La Carta Estratigráfica Internacional

El cuadro I muestra el estado actual de la *Internacional Stratigraphic Chart*, 2008, en estado de revisión por la *International Commission on Stratigraphy* la que resulta de un aporte interdisciplinario procedente de campos del conocimiento muy diferentes entre sí. (cf. Gradstein y otros, 2004). En particular, el Eonotema Fanerozoico merece un análisis por separado de los restantes eonotemas precámbricos. El Fanerozoico está constituido por un complejo de estratos-tipo escogidos por sus atributos geológicos y paleontológicos para referir las correlaciones y, en sentido amplio, los cambios ocurridos por evolución cortical a través del tiempo geológico. Los estratos-tipo reconocidos por la *ICS* [ver, principalmente el documento *Overview of Global Boundary Stratotype Sections and Points* (en adelante: *GSSP's*) compilada por Ogg, 2007] aparecen denotados en la *International Stratigraphic Chart*, 2008, por un ícono con forma de clavo amarillo. Esto indica que se ha logrado un acuerdo por parte de las comisiones respectivas en los criterios para establecer el deslinde basal del estrato-tipo correspondiente.

Como ejemplos, se mencionan dos casos representativos de estratos-tipo, ya reconocidos por la ICS. El primero es el que corresponde al Piso Fortuniano (*Fortunian Stage*). Dicho estrato-tipo corresponde a la sección litológica de Fortuna Head, Terranova, Canadá. Su base está allí marcada por la primera aparición conocida en el registro fósil de restos (no sus trazas) de invertebrados marinos correspondientes al invertebrado *Treptichnus (Phycodes) pedum*. Esta sección litológica constituye el referente estratigráfico para todas las rocas correlativas del planeta. A su vez, el "punto global" anotado actúa, también, como deslinde para todas las entidades cronoestratigráficas de rango mayor involucradas: Cámbrico, Paleozoico y Fanerozoico. El segundo ejemplo es el del Piso Aptiano. Aquí la Comisión correspondiente ha establecido como marcador del deslinde basal, no un biohorizonte sino el registro de una reversión paleomagnética. La base del estrato-tipo correspondiente, que aflora en Gorgo Acerbara, centro de Italia, coincide con la base del Chron paleomagnético MOr, cerca pero sin coincidir con la base de la zona bioestratigráfica marcada por el amonite *Paradeshayesites oglanlensis*. Otros criterios han sido empleados para caracterizar estratos-tipo dentro del Fanerozoico. En tal sentido parece de interés destacar que el control astronómico, reflejado por la ciclicidad que exhiben acumulaciones estratigráficas, ha cobrado relevancia en los últimos años con diversas aplicaciones para el Cenozoico (incluyendo el Cuaternario). En cambio, para casi la totalidad de los tiempos precámbricos (aproximadamente las 6/7 parte del tiempo total del registro geológico) los criterios consensuados para establecer deslindes entre los Eones

y sus Eras (ahora entidades cronológicas y no crono-estratigráficas) son límites cronométricos mayores no fraccionados. Por el momento, estos últimos límites son solo informales.

Los diferentes casos mencionados arriba reflejan el carácter politípico o multidisciplinario de las estrategias adoptadas. Expresado de otro modo: esto significa que los criterios epistemológicos que dichas estrategia representan son dispares. La publicación de diferentes trabajos, los que fueron debatidos previamente en Austria, 2006, en la *GSA Penrose Conference on Chronostratigraphy: Beyond the GSSP* (ver: *Stratigraphy*, 2007, IV: 2), permite advertir el creciente interés que despierta la temática epistemológica en los diferentes autores que procuran construir una *International Stratigraphic Chart* y la *Geological Time Scale*. En varios de los trabajos allí publicados se trata y discuten las fuentes, la naturaleza y la consistencia de las clases de entidades estratigráficas reconocidas por la ISG. En particular, las unidades litológicas (las que son convencionales aunque no arbitrarias), las cronoestratigráficas (las que sustentan la *International Stratigraphic Chart*) y las cronológicas (ver principalmente Aubry, 2007a, 2007b, Hinnov y Ogg, 2007).

En un trabajo reciente (Musacchio, 2008) fueron analizadas las estrategias antes anotadas en la construcción de la Carta Estratigráfica Internacional en el marco de los procesos recurrentes y procesos irreversibles que las mismas representan en la Geología Histórica. Un intento para asignar roles en la tarea de "medir" del tiempo geológico puede anotarse como sigue:

Los procesos recurrentes, tales como la ciclicidad de orden menor, regula-

da por factores externos a la Tierra y calibrados astronómicamente, las reversiones en la polaridad magnética, juntamente con las dataciones radiométricas son considerados necesarios para precisar los deslindes en el tiempo de las divisiones cronoestratigráficas, previamente caracterizadas por sus peculiaridades históricas.

Los procesos irreversibles, tales como los ciclos endógenos mayores, el cambio evolutivo de la corteza terrestre y la sucesión de floras y faunas son, a su vez, considerados necesarios para caracterizar (dar identidad) las divisiones de la Escala del Tiempo Global.

Esta dualidad se refleja en los dos tipos básicos de correlaciones estratigráficas. En las correlaciones de la primera clase, las correspondencias se sustentan en atributos corpóreos compartidos (minerales y tipos litológicos, referentes de propiedades físicas, fósiles). Las correlaciones en tiempo se apoyan, en cambio, en interdependencias necesarias entre entidades que pertenecen a "mundos" conceptuales diferentes: la superposición estratigráfica y la sucesión en el tiempo. Los atributos que se correlacionan en esta segunda clase son irreducibles entre sí. Por un lado, los atributos corpóreos que corresponden a entidades estratigráficas. De estas "emergen", o más correctamente *supervienen*, las entidades cronológicas que son en cambio nominales. Está fuera del objeto de la presente contribución desarrollar la propuesta según la cual este segundo tipo de correlación corresponde a un caso de *superveniencia* (cf. Musacchio, 2008b). Sólo parece apropiado mencionar que esta estrategia de la *superveniencia* ha sido usada para dar un carácter formal a aquellas interdependencias necesarias

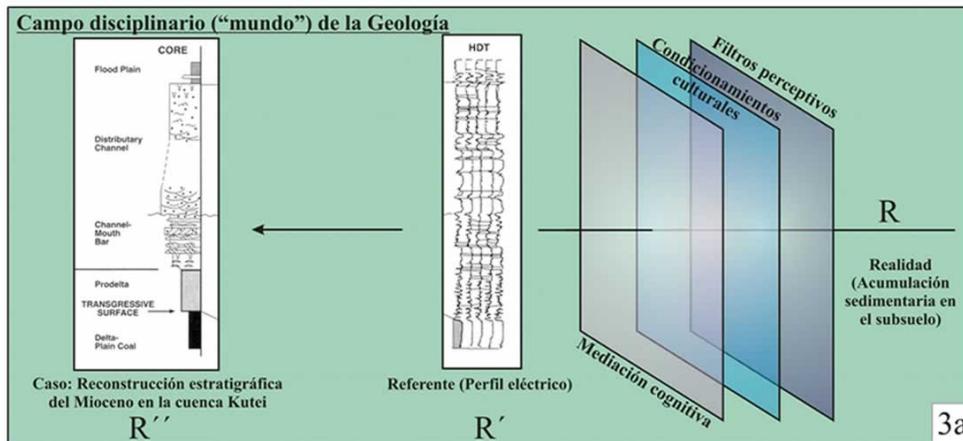
que se postulan entre "mundos" diferentes. Por ejemplo: estados mentales / atributos neurofisiológicos, o bien: atributos morales / atributos éticos (cf. Davidson, 1970; Kim, 1993).

b. "Lo que hay" / "Lo que dice la ciencia que hay"

Lo que hay (realidad) es independiente de los científicos, de la comunidad científica y de la transitoria red de intereses sociales. Los científicos escogen referentes de esta realidad con los cuales construyen "casos" (cf. Figura 1: "R"). Estos referentes deben tener algún tipo de correspondencia con los objetos reales que dejaron su testimonio geológico o paleontológico. A diferencia de los testimonios históricos que se tratan en ciencias sociales, aquellos escogidos por los naturalistas son tangibles e independientes del contexto del descubrimiento, contexto éste que parece irrelevante en el marco de teorías asentadas. El "mundo" de las ciencias de la Tierra incluye la totalidad de los "casos" que estudian los científicos de este campo (lo que podría considerarse un ejemplo ilustrativo de diferentes enunciados en 1 y 2 del *Tractatus* de Wittgenstein, 1921).

Adicionalmente, el esquema mostrado en la Figura 1 puede hacer algún aporte epistemológico a la construcción de la *International Stratigraphic Chart*. Entre otros procesos, la denominada *mediación cognitiva* es un factor que facilita la conexión de percepciones aisladas (cf. Kant; en: *Prolegómenos*: 18: *Juicios de Experiencia*. Ver también, Kant, 1787: 171, en donde el mismo autor, siguiendo a Hume, 1748, acepta que la experiencia es el punto de partida del proceso cognitivo).

Figura 1. (según Musacchio & Foix, 2007) Los casos (R'') que estudian los geólogos se basan en testimonios (R') sobre cosas del pasado (R), ajenas al empeño de los científicos que intentan reconstruirlas (R'' tomado de Posmentier & Allen, 1999).



La reconstrucción de percepciones aisladas permite articular una "sucesión temporal". De este modo, la conexión entre los instantes es precedida por la arquitectura de lo espacial. Esto permite comprender el nexa, o conexión, entre aquello que "emerge" (lo temporal, las entidades cronológicas) y la entidad espacial, tangible, subyacente (el sustrato litológico). Esta reflexión contribuye al debate "estratómeros" vs. "cronómeros" mencionado por Aubry, 2007a.

La Unión Geológica Internacional puede ser considerada como una entidad representativa de *comunidad científica*, en este caso para las geociencias. A pesar del medio siglo transcurrido, la definición dada por Sorokin (1959) sobre *Grupo Social* parece ajustarse a las

expectativas que podrían esperarse de la IUGS en su rol de referente social organizado para las Ciencias de la Tierra:

- "Un grupo social, como totalidad de individuos en interacción, se halla efectivamente organizado cuando su conjunto central de significaciones y valores, en su calidad de motivos de interacción, es algo consecuente consigo mismo y reviste la forma de normas jurídicas que definen con precisión todas las acciones y reacciones de importancia de los individuos, en sus relaciones recíprocas y con respecto a los extraños y al mundo en general."

La IUGS establece pautas que guían el lenguaje geológico y los procedimientos de acreditación. Un buen

ejemplo de esta supervisión es la Guía Estratigráfica Internacional. Otro ejemplo es la construcción de la Carta Estratigráfica Internacional analizada arriba. No obstante, debe admitirse que en la etapa actual de discusión sobre los criterios para "medir" el tiempo geológico parece haberse instalado un debate sobre los criterios y la instrumentación que deberán escogerse para esta tarea. Tópicos en debate son:

- a. La diferencia de criterios adoptados para deslindar estratos-tipo entre aquellos acreditados hace algunos años y otros, en cambio, de acreditación muy reciente.
- b. La disparidad de criterios para sustentar divisiones dentro del Fanerozoico y, en cambio, los empleados para los tiempos precámbricos.
- c. El rol, hoy incierto, de las entidades geocronológicas.
- d. Los problemas epistemológicos no resueltos ante un empleo conjunto de procesos recurrentes y otros irreversibles.

La noción de *finitismo* (cf. Barnes et al., 1996) arroja luz sobre la necesidad de adoptar una perspectiva que admita los cambios históricos. El estado transitorio, o inacabado, de la Carta Estratigráfica Internacional puede ser un buen ejemplo.

Corresponde entonces en este apartado confrontar si los términos validación y acreditación de los conocimientos son equivalentes. En caso contrario, cuáles son los atributos diferenciales? y si así fuera, qué relevancia tiene esta distinción en la búsqueda de núcleos relativamente estables dentro de las teorías científicas?.

Una ventaja en geociencias respecto de otros campos disciplinarios que tratan testimonios históricos es que aquellos escogidos por los naturalistas de

las ciencias de la Tierra son tangibles e independientes del contexto del descubrimiento.

c. El Caso *La curva de Vail*

A fines del siglo pasado, los trabajos de Vail y sus colaboradores dentro de la empresa petrolera Exxon (EE.UU), principalmente dedicados al análisis sísmico del subsuelo con el objeto de procurar nuevas áreas de interés para la exploración petrolera (Vail et al., 1977), avanzaron en un tema de investigación no previsto en los planes iniciales. La construcción de una curva de ascenso y descenso relativo del nivel del mar en el pasado resultaba, súbitamente, de gran interés para la comunidad geológica externa a la empresa (ver una versión posterior de esta curva en Haq et al., 1989). Con la aplicación de esa curva / oscilograma, elaborada sobre la base de datos sísmicos, se proponía calibrar la antigüedad de las rocas sedimentarias en afloramientos y en el subsuelo. La supuesta ventaja sobre las limitaciones de las estrategias tradicionales para "medir" el tiempo geológico estaba sustentada en el carácter global de los cambios del nivel del mar y la exactitud de los resultados así obtenidos para datar y correlacionar en el tiempo geológico. Inclusive, numerosos autores defendían su aplicación en sucesiones sedimentarias exclusivamente lacustres.

En poco tiempo se advirtió que los datos que sustentaban la teoría eran frágiles, o inexistentes o espurios por su obtención en comarcas en donde la influencia de la tectónica local era evidente, sumando o restando los efectos del ascenso relativo del nivel del mar. Rápidamente la teoría envejeció (cf. Miall, 1992; Miall & Miall, 2004a) *La curva de Vail* no aparece más en los cuadros

estándar recientes del tiempo geológico (cf. *International Stratigraphic Chart*) y tampoco es adoptada por la *International Commission on Stratigraphy*.

Miall y Miall, 2004b, reconocen las siguientes etapas de reacción dentro de la comunidad científica frente a la nueva teoría denominada *Estratigrafía de Secuencias* de los mencionados autores de la Exxon

a. Antes de ser publicados en el sistema de información académica tradicional, los trabajos de Vail y colaboradores no habían obtenido mayor reconocimiento dentro de la Empresa Exxon.

b. La publicación en una revista internacional obtuvo, en cambio, un inmediato interés y aceptación por parte de la comunidad académica. En esta aceptación, el "Factor Exxon" jugaba un rol destacado.

c. La nueva visión propuesta por Vail et al. (op. cit.) resultó un verdadero "paradigma" durante los 80, facilitando un modelo que aportaba reglas y criterios explícitos para guiar la resolución de conflictos en el análisis de cuencas sedimentarias. En muchas compañías petroleras se produjeron recambios de profesionales poco receptivos a la nueva concepción (principalmente en lo que hace al lenguaje y usos de dichos términos en sus aplicaciones).

d. Muchos geólogos de la propia Empresa Exxon, luego de advertir el éxito alcanzado por la teoría fuera de la empresa, aprendieron a respetar y a aplicar la estrategia de datar las secuencias de rocas sedimentarias basadas en la aplicación de la mencionada curva.

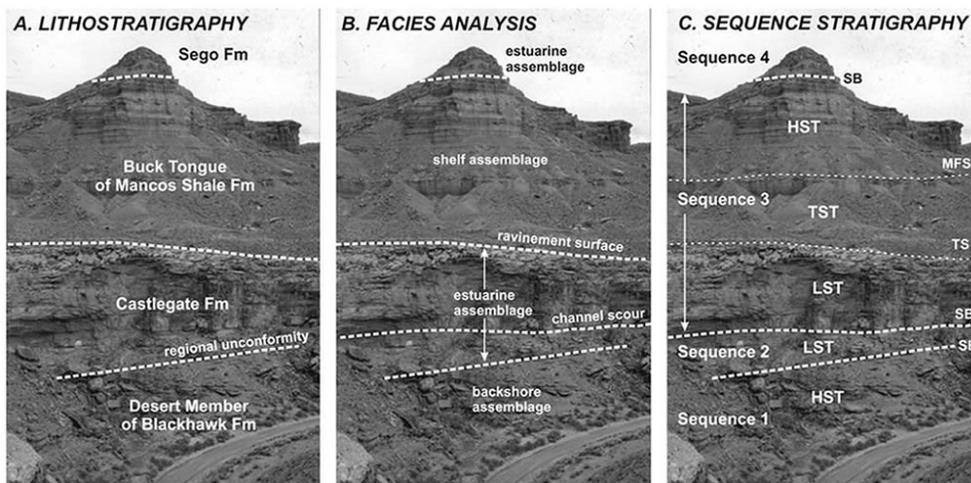
Este caso, junto a otros considerados también relevantes en el marco de la sociología de las ciencias geológicas,

ha sido previamente discutido por Musacchio y Foix, 2007. En el trabajo recién citado se reconocen tres contextos diferentes: el de la validación y el de la acreditación y el de la aplicación. También son de interés los acuerdos efímeros que adoptan las comunidades científicas o *subculturas* (en el sentido de Barnes et al., 1996). Estos acuerdos, normalmente logrados en el marco de "*campos gestálticos*" de influencias transitorias son diagnósticos de situaciones ajenas a los contenidos del conocimiento, como así también irrelevantes en el momento de establecer correspondencias entre construcciones (o casos), referentes y las entidades reales que los sustentan. El reconocimiento de esta problemática (cf. Fig. 3) parece indispensable cuando se analizan teorías desde el mirador de la sociología de las ciencias fácticas. En particular, para aquellos campos del conocimiento cuyo objeto de estudio permite el reconocimiento de testimonios que pueden ser consultados por diferentes generaciones de investigadores. La Figura 2 muestra de qué modo los diferentes modelos de pensamiento re-construyen los objetos que estudian. Si bien la geología que estudia la evolución de corteza terrestre y la paleobiología son disciplinas históricas (cf. Frodeman, 1995) ambas exhiben diferencias con otras disciplinas histórico-culturales. Ambos grupos poseen marcos epistemológicos diferentes (cf. Casirer, 1983). Los objetos contenidos en el registro estratigráfico son independientes del imaginario de los investigadores. Los estratígrafos no pueden, por ejemplo, modificar el arreglo estratigráfico que exhibe el sitio Book Cliffs mostrado en la Fig. 2, lugar este último, que cambiará apenas su fisonomía a lo largo de generaciones de geólogos que desfilarán por sus afloramientos en la

tarea de testar diferentes modelos conceptuales. Un caso diferente, por ejemplo, es el de la Batalla de las Termópilas, cuya ocurrencia cierta como suceso fáctico en el pasado está fuera de discusión. Se dispone de los relatos de

Heródoto y de otros intérpretes sobre sus consecuencias. No obstante, no es posible "revisarla" o "revivirla" como es el caso de la estratigrafía de Book Cliffs, mostrado en la Fig. 2.

Figura 2 (según Miall y Miall, 2004a): Afloramientos en Book Cliffs, Utah (EE.EE). Tres interpretaciones formuladas en el marco de teorías estratigráficas "acreditadas" en diferentes períodos históricos, permiten advertir la diferencia entre "lo que hay" y aquello que "la ciencia dice que hay"



El Caso *La curva de Vail* permite algunas reflexiones.

1. "Lo que hay" (realidad) es independiente de los científicos, de la comunidad científica y de la transitoria red de intereses sociales.

2. En función del tiempo, los rastros del contexto del descubrimiento son borrados.

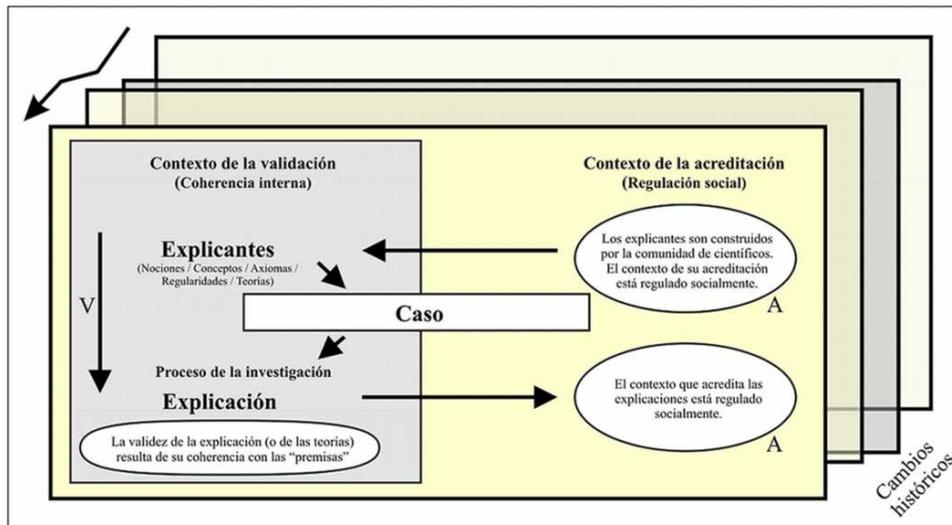
3. Las teorías científicas no son falsas o verdaderas. Sólo sobreviven cuando dan cuenta de los datos de campo.

4. En función del tiempo, la acreditación otorgada por los acuerdos mayoritarios pierde vigencia

5. Para que el proceso de acreditación tenga confiabilidad se necesita un peritaje llevado a cabo por idóneos independientes. Arbitrar debería significar, al menos en parte, confrontar el caso con explicantes estables (*explanans* o marco teórico) en el marco de las comunidades científicas respectivas.

Estos aportes, así ordenados (1-5) serán usados como atributos (o caracteres) en el Cuadro II del apartado siguiente.

Figura 3 (según Musacchio & Foix, 2007): Validación y acreditación de los conocimientos.



ALGUNAS TEORÍAS SOCIOLÓGICAS Y EL CASO LA CURVA DE VAIL

En los párrafos previos se han usado algunos términos tales como: acreditación, comunidad científica, aplicación de los conocimientos, perspectiva histórica, entre otros. Parece entonces redundante afirmar que el conocimiento científico, en este caso el geológico, no queda al margen de los determinantes sociales. Este apartado final abordará algunos tópicos cercanos al análisis sociológico de la producción científica. No obstante, es necesario anticipar que permanece fuera de los límites de la presente contribución, la que está centrada en el campo de las Geociencias, el examen de teorías sociológicas sobre la ciencia. Este apartado intenta confrontar algunas apreciaciones formuladas por cuatro teorías sociológicas que describen y caracterizan la producción dentro de las ciencias fácticas, con la experiencia dejada por el caso *La curva de Vail*. Se trata de un *test* formulado a las cuatro teorías por su comportamiento ante el caso Vail, sin la pretensión de falsarlas o tampoco acreditarlas. Quizás la pregunta pertinente que orienta la búsqueda que se intenta en el apartado pueda ser formulada en los siguientes términos: ¿Validación y acreditación son la misma cosa? En otros términos: ¿El acuerdo logrado en el marco de la comunidad científica sobre los méritos de una teoría y los enunciados que permiten ponerla a prueba, garantizan su validez o su coherencia?

a. El Programa Fuerte (SP) de la Escuela de Edimburgo

El denominado *SP* (por *Strong Program*) se afianza en Escocia hacia la

pasada década de los 80 proponiéndose, entre otras metas, analizar las teorías y la producción científica como objetos de estudio, tal como lo haría un científico con los casos que investiga dentro de su campo disciplinar. Está fuera del alcance de la presente contribución el análisis estructural de la teoría del *SP* como posible metateoría científica. No obstante, se puede advertir que la noción de *finitismo* (*finitism* cf. Barnes y otros, 1996: 55-59) adoptada por el *SP* se parece a un enunciado deducible del cuerpo axiomático en que la teoría se sustenta. El *finitismo* puede entenderse como una forma de escepticismo que admite las limitaciones de los diferentes intentos de construcción humana del saber, limitaciones que lo hacen inacabado e inacabable. La raigambre de esta renuncia, o incapacidad para el logro de conocimientos definitivos, puede rastrearse en el empirismo de Hume y su crítica a la inducción como un medio para obtener conocimientos verdaderos o definitivos (ver, por ejemplo, Hume, 1748). Por su parte, la noción de elaboración de los conocimientos tiene un fuerte contacto con la de mediación cognitiva y con el conexionismo de las percepciones, previamente demostrado por Kant (1783, 1789; ver también: Strawson, 1997). Además, la presente teoría otorga un rol relevante a la comunidad científica ("*subcultura*") y, en sentido amplio, la sociedad para la construcción de los conocimientos. Este criterio era familiar en Mannheim, quien tuvo alguna participación en la germinación del *SP* (cf. Barnes et al. 1996; Martin, 2003).

Aunque procedente de una tradición filosófica muy diferente, la noción de *perspectivismo* según Max

Scheler, 1981 parece encontrar algún contacto con esta teoría, haciendo las veces de un mirador que intenta desembarazarse de un relativismo extremo. El *SP* admite la posibilidad, y se adhiere a la necesidad de superar el efecto de filtrado y acomodación de las percepciones impuestas por los módulos cognitivos internos en el sentido de Fodor (cf. Barnes et al., 1996: 6-11), cerrando de este modo las puertas a un internalismo extremo.

En el marco de esta visión de la Sociología de las Ciencias, el lenguaje que construyen los naturalistas debe estar en correspondencia con los referentes. Barnes et al., 1996, (en particular, Capítulo 3: *Words and the World*) analizan los atributos de la sistemática con que los naturalistas organizan la experiencia fáctica. La agrupación de particulares por semejanzas y la distinción de grupos por diferencias es una estrategia clásica usada por los naturalistas para clasificar sus objetos de estudio. Este criterio de organizar los particulares dentro de sistemas, los que se construyen muchas veces con un diseño jerárquico-encapsulante, responde a la visión aristotélica adelantada por ese autor en *Categorías*. Está fuera del alcance de esta contribución comparar las diferentes sistemáticas propuestas en Mineralogía, Estratigrafía y Paleobiología. Cada disciplina trata entidades de naturaleza muy diferente: algunas evolucionan otras son estables. Curiosamente, los naturalistas establecen categorías que comparten el sistema jerárquico, tales como especímenes, especies, familias, etc. En los ensayos tradicionales, los diferentes sistemas intentan establecer una correspondencia con el orden natural de entidades externas, orden

éste que supuestamente existiría con independencia de la actividad taxonómica misma. La búsqueda del orden externo que debe ser descubierto (“el paleontólogo *descubre* una nueva especie”) contrasta con el carácter “*finitista*” o transitorio que caracteriza los ensayos recientes. En tal sentido, se advierte que los sistemas de clasificación en las Ciencias Naturales aceptan ahora su carácter, inacabado e inacabable o perfectible. Los diseños resultantes se corresponden con las estrategias de aproximación instrumental para la toma de datos de campo. En consecuencia, son las comunidades científicas respectivas las que proponen las reglas para construir y acreditar las entidades taxonómicas correspondientes en el marco de las teorías vigentes.

La teoría sociológica ahora bajo análisis da cuenta satisfactoriamente del estado de permanente revisión del lenguaje empleado por los estratígrafos, lenguaje que es reglado por la Guía Estratigráfica (SG) para las geociencias. La evolución de la clasificación de entidades estratigráficas para las rocas sedimentarias de la corteza puede seguirse en la historiografía de los diferentes códigos de nomenclatura estratigráfica. La SG, adoptada en el presente por *la International Commission on Stratigraphy*, exhibe atributos que se corresponden con aquello que el *SP* define como “finitismo”. Esto se debe a que los criterios usados por la comunidad de estratígrafos podrían ser calificados como de “*aquí y ahora*”. Un buen ejemplo lo exhibe la evolución que ha sufrido la definición de Formación (entidad básica en la clasificación del registro estratigráfico). La presente SG permite reconocer el carácter instru-

mental que guía su adopción. La escala gráfica escogida para el carteo geológico es el criterio que regula la necesidad de su reconocimiento (ver *Stratigraphic Guide* de la ICS):

- "No formation is considered justifiable and useful that cannot be delineated at the scale of geologic mapping practiced in the region. The thickness of formations may range from less than a meter to several thousand meters".

Finalmente, la construcción de la Carta Estratigráfica Internacional puede ser considerada como un exponente representativo de lo que la teoría del *SP* dice. Como se anotó arriba, los estratos-tipo están actualmente en revisión por las diferentes comisiones de especialistas acreditados, aunque no quedarán firmemente establecidos. La *ICS* establece los criterios para la adopción y reemplazo en el futuro, de posibles estratos-tipo más adecuados o representativos.

b. El Programa Empírico del Relativismo (EPOR, Collins y otros)

El caso de *La Curva de Vail* parece apropiado para analizar el comportamiento del *EPOR*, programa éste desarrollado principalmente por los sociólogos Collins y Pinch de la Universidad de Barth (cf. Collins, 1981). El *EPOR* se propone, como en el caso del *SP* analizar la producción científica, aunque usando una estrategia metodológica más acotada que el mencionado *SP*. El ejemplo escogido en este trabajo satisface a las teorías que el *EPOR* prefiere tratar. Éste caso responde a los atributos de actualidad,

al impacto socio-económico que produjo y a la presencia de prácticas en la gestación, publicación y aceptación por parte de la comunidad científica respectiva que resultaron conocidas. Los datos que sustentan al "caso Exxon", en particular la documentación pertinente sobre la existencia de horizontes isócronos globales, corresponde al área de los "saberes tácitos" a los que alude el *EPOR*. Estos saberes son información de las empresas que deciden mantener en sigilo.

El *EPOR* propone un tratamiento amplio de los experimentos y propuestas. La flexibilidad interpretativa se resuelve en la "mesa de negociaciones" de los científicos. La repetición de los experimentos no necesariamente es concluyente y las réplicas pueden dar lugar a diferentes interpretaciones. En tal caso, ¿es posible responder afirmativamente que los horizontes de reflexión sísmica son globales y representan instancias isócronas cuya aplicación permitirá reconstruir la carta del tiempo global? Si esto es así, ¿por qué esta parte de la Teoría de la Estratigrafía de Secuencias ha perdido la acreditación de la que gozaba? La respuesta de esta pregunta nos conducirá, indirectamente, a revisar las estrategias metodológicas escogidas por el *EPOR*. La acreditación social que una subcultura otorga a una teoría en un momento histórico determinado ¿es relevante para la filosofía de la ciencia? o bien, es un dato para la historiografía de la ciencia?

c. La construcción de conocimientos científicos como "fabricación"

La obra de Knorr-Cetina, socióloga de habla alemana, puede

considerarse representativa de la denominada etnometodología, escuela surgida a fines del siglo pasado dentro de la Sociología de la Ciencia. Esta orientación evita adoptar preconceptos teóricos dentro del marco de la disciplina sociológica tradicional, tales como el reconocimiento y el tratamiento de grupos sociales o "subculturas" (Knorr-Cetina, 2005). Al igual que en otras orientaciones de la denominada *etnometodología*, no se abre aquí juicio sobre los contenidos de los proyectos de investigación o sobre sus resultados. El interés está centrado, en cambio, en los procedimientos habituales desarrollados por los investigadores en sus medios de trabajo. La autora presta atención a la vida que se desarrolla en los laboratorios, dejando hablar a los actores. Procura reconocer el imaginario de los investigadores, sus intereses y los compromisos que adoptan, el relativismo metodológico que los caracteriza y la toma de decisiones en el momento de escoger datos, destacando asimismo la cuota de racionalidad que disponen, o no, para acometer estas tareas. Representativo del pensamiento de la autora es el desarrollo dedicado a los contextos de validación y acreditación (Knorr-Cetina, 2005: I, 4). La diferencia entre ambos le resulta borrosa; al menos para el investigador social "que se vería en aprietos para separarlas". Según la misma autora, los investigadores seleccionan sus datos y procuran sus descubrimientos "con un ojo puesto en la potencial crítica o aceptación y en los potenciales aliados y / o enemigos!" (Knorr-Cetina, 2005: 66). El cuadro descripto sobre el contexto de la "fabricación" que realizan los actores donde la investigadora realizó sus trabajos de campo merece

una detallada reflexión, antes que un rechazo ofuscado por parte de los investigadores que pudiesen verse así reflejados.

Pero hay un aspecto importante que la autora, y la etnometodología, no abordan. Se trata de la consistencia de los resultados. Los proyectos de investigación que se analizan en la etnometodología no son selectivos. Los mismos podrían tratar, hipotéticamente, la posibilidad de vuelo de los artiodáctilos durante el Pleistoceno o el diseño plano de la Tierra o el movimiento del Sol orbitando alrededor de la Tierra o la teoría sobre la "energía" que percibe el rabadomante en su vara de olivo al caminar sobre un acuífero subterráneo. Estas cuestiones, los contenidos de las teorías, no son de incumbencia en estas investigaciones sociológicas. Las mismas están preocupadas, en cambio, por las estrategias adoptadas por los científicos para "fabricar" *papers*.

d. Latour y la Teoría del Actor-Red

Una aproximación a la producción de Bruno Latour (cf: <http://www.bruno-latour.fr/>), en parte dedicada a la sociología de ciencia, permite advertir la evolución de sus ideas hacia la *Res Publica*. Parafraseando algunos de sus enunciados, sus propuestas parecen conformar un diseño en forma de red en el tiempo, la que se traducirá hacia el espacio de campos disciplinarios diferentes. Su primer interés fue estudiar la vida en los laboratorios (Latour y Woolgar, 1995) incluyendo los imaginarios germinales, el contexto de la construcción de hechos científicos y los discursos de los investigadores.

En años recientes, sus ideas tomarán cuerpo en la "*Teoría del Actor-*

Red' (ANT o *Actor-Network Theory*). En esta teoría (cf. Latour, 2005) se destaca el papel jugado por todos los actores; incluso los no humanos. En efecto, Latour no admite el dualismo sujeto / objeto y habla de una "simetría generalizada" en donde, tanto la sociedad como la naturaleza, deben por igual ser explicadas. La red está caracterizada por las implicancias que genera el proceso de investigación. Aquí viene el término *traducción* para indicar, según Latour, el traslado de los intereses de los actores durante el proceso de la investigación a otros actores. La traducción (*translation*) de los intereses originales debe ser previsible y por ello la necesidad de su adecuada canalización (*mediation*); algo así como una búsqueda de la racionalidad por el modo de hacer las cosas. En su "Enunciado de la Purificación" (Latour, 1993: 152) "Se borran los rastros de la cadena de traducciones dejando un inicio y un final al término del proceso") el autor da importancia al cierre de los debates que se vislumbra hacia el término de cadena / red. Este es el momento en que las teorías se consolidan (o dejan de ser tomadas en cuenta). Es de interés citar una de sus conclusiones (cf. García Díaz, 2006; Martin, 2003: 112):

"Cuando la naturaleza es considerada como la causa de descripciones precisas en sí mismas (los sociólogos) no pueden ser mas relativistas que los científicos", pues no

pueden "continuar negando la evidencia allí donde nadie mas lo hace"

¿Será esto algo parecido al ocaso de las controversias cuando se admite la correspondencia entre *lo que hay* y *lo que dice la ciencia que hay?* (Léase por ejemplo: la teoría heliocéntrica; o la Tierra considerada como una casi-esfera; o los cambios en la posición de los continentes a través del tiempo geológico). De este modo el relativismo sería solamente una forma de escepticismo metodológico y la posibilidad de explicaciones surge cuando se rompe la dicotomía naturaleza / sociedad. Es difícil para el lector de Latour conciliar posiciones tan "conservadoras" con otras, en cambio, "modernamente modernizadas" (parafraseando al mismo Latour), como la del *Principio de Simetría* arriba anotado. Según el autor mencionado, este principio es la puerta de entrada a la verdadera modernidad, la que resulta abierta gracias a la adopción de una epistemología no dualista. Sus últimas obras contactan con la denominada *transdisciplinariedad* y la tecnociencia (cf. abajo con el Modo 2) en el marco de la "Res publica" y la política. Esta temática es afín al de la *gubernamentalidad* (Foucault, 2006: 146), la que ocupa buena parte del interés en filósofos y sociólogos europeos a partir de la década de los 80. La Figura 5 incluye algunos interrogantes sobre el alcance de las propuestas de Latour hipotéticamente confrontadas con el caso *La curva de Vail*.

Cuadro II: Comportamiento de las cuatro teorías consideradas en este trabajo ante al caso: "La curva de Vail". En blanco: sin respuesta explícita.

Teorías sociológicas analizadas en el trabajo

 Respuesta inadecuada de la teoría  Respuesta adecuada de la teoría d "Depuración" según Latour	Programa Fuerte	EPOR	Knorr-Cetina: La fábrica de conocimientos	Teoría del Actor - Red
1. "Lo que hay" (realidad) es independiente de los científicos, de la comunidad científica y de la transitoria red de intereses sociales.				
2. En función del tiempo, los rastros del contexto del descubrimiento son borrados.	s.r			 d
3. Las teorías científicas no son falsas o verdaderas. Solo sobreviven cuando dan cuenta de los datos de campo.				
4. En función del tiempo, la acreditación de los acuerdos mayoritarios pierde vigencia.	s.r			 d
5. Para que el proceso de acreditación tenga confiabilidad se necesita un peritaje llevado a cabo por idóneos independientes.	s.r			

El Modo 2

Concebida como una nueva manera de producir conocimientos, el denominado Modo 2 (cf. Gibbons et al., 1997) pertenece a un "mundo" diferente de aquel que quedaría nominado, por defecto, "Modo 1". Está fuera del objetivo de la presente contribución el análisis de la *transdisciplinariedad*, atributo éste que es el que mejor define al Modo 2. Este último no pretende conformar una metateoría para analizar las teorías científicas. Ante todo, parece un modo de acción de la *Res Publica* para atender el desarrollo de proyectos pluridisciplinarios,

aplicados para resolver aspectos que son de interés social o económico. Estos proyectos se desentienden del origen, la coherencia interna y la naturaleza de los conocimientos en el marco de la Teoría del Conocimiento. Constituyen, por lo tanto, un campo de estudio más ligado a la *Biopolítica* antes que a la Filosofía de la Ciencia.

CONCLUSIONES

1. En geociencias, las disciplinas históricas como la Estratigrafía y la Paleontología disponen de referentes

corpóreos a los que se puede acudir para testar teorías y modelos.

2. Como otras ciencias fácticas, las geociencias disponen de un *explanans* teórico, ciertamente construido por los geólogos, que permite testar la coherencia interna de los casos particulares y sus modelos sometidos a investigación.

3. La ciencia es una construcción humana y como tal limitada. La noción de verdad forma parte de diferentes visiones fundamentalistas antes que de la científica, la que por naturaleza es escéptica aún de sus propios resultados.

4. Lo que el científico de las ciencias fácticas no puede construir es *lo que hay*. En este sentido, se diferencia del paracientífico que trata, en cambio, imaginarios amparados en un conocimiento que no es tal.

5. La sociología de la ciencia, disciplina en expansión a partir del siglo XX, es renovadora al “desacralizar” la actividad científica.

6. Analizar los resultados y las teorías científicos sobre la base única de las prácticas de campo y de laboratorio de sus actores limita las posibilidades del análisis sociológico. El conocimiento acerca de lo que una teoría científica cualquiera dice sería necesario para lograr explicaciones sociológicas atendibles.

7. La relevancia otorgada a la acreditación social de los resultados científicos, queda descalificada cuando se introduce la perspectiva histórica que aporta la historia de las ciencias.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a la Dra. Patricia Vallati y a la Dra. Margarita Simeoni (Laboratorio de Bioestratigrafía de la FCN, UNPSJB) la lectura del original y a la Dra. Mónica

Freile (Departamento de Farmacia de la UNPSJB) por su ayuda en la edición del MS.

BIBLIOGRAFÍA

- Aubry, M-P. 2007a. Chronostratigraphic terminology. *Stratigraphy*, 4: 28-37.
- Aubry, M-P. 2007b. Chronostratigraphy beyond the GSSP, *Stratigraphy*, 4: 46-56.
- Barnes, B., Bloor, D., & Henry, J. 1996. Scientific Knowledge: A Sociological Analysis. The University of Chicago Press. 244 p.
- Cassirer, E. 1983. Antropología filosófica. Introducción a una Filosofía de la Cultura. Traducción precedente al inglés de: Filosofía de las formas simbólicas (1944) y posterior al castellano) Fondo de Cultura Económica, México, 196 pp.
- Collins, P. 1981. Stages in the Empirical Program of the Relativism. In: Social Studies of Science, 11 (1): 3-10. Sage Public. (disponible en: <http://www.jstor.org/sici>).
- Davidson, D.1970. Experience and Theory, In: Foster, L.; Swanson J. (eds.) Humanities Res. Mental events. New-edited on: Essays on Action and Events Oxford University Press, 1980.
- Dunbar, C.O. & Rodgers, J. 1957. Principles of Stratigraphy. J. Willey & Sons. N.Y. 356 pp.
- Foucault, M. 2006. Seguridad Territorio y Población (1977-79) Traducción. Fondo de Cultura Económica, México., 484 pp.
- Frodeman, R. 1995. Geological reasoning: geology as an interpretative and

- historical science. *Geol. Soc Am. Bull.*, **107**: 960-968.
- García Díaz, 2006 P. Bruno Latour y los Límites de la Descripción en el Estudio de la Ciencia. Tesis Doctoral (disponible en: <http://hera.ugr.es/tesisugr/17241285.pdf>). Universidad de Granada
- Gibbons, M., Limoges, C., Nowotny, H., Schwartzman, S., Scott., P & Trow, M. 1997. La nueva producción del conocimiento. Ed. Pomares-Corredor. Barcelona, 335 pp.
- Gradstein, F.M., Ogg, J.G y Smith, A.G. 2004. *A Geologic Time Scale*, Cambridge, 589 pp.
- Haq, B.U., Hardenbol, J. & Vail, P. 1989. Mesozoic and Cenozoic chronostratigraphy and cycles of sea-level change. En: Wilgus, Ch., et al.: *Sea-Level Changes: an integrated approach*. Society of Economics Paleontologists and Mineralogists..Special Publication **42**: pp. 71-108. Tulsa.
- Hinnov, L.A. y Ogg, J.G. 2007. Cyclostratigraphy and the Astronomical Time Scale. *Stratigraphy*, **IV** (2): 153-165.
- Hume, D. 1748. *Investigação acerca do entendimento Humano* (traducción al portugués por A. Aiex). Nova Cultural, São Paulo, 352 pp
- Internacional Comisión on Stratigraphy, 2008. Disponible en: <http://www.stratigraphy.org/>
- Internacional Stratigraphic Chart, 2008. Disponible en: <http://www.stratigraphy.org/cheu.pdf>
- International Union of the Geological Sciences, 2008. Disponible en: <http://www.iugs.org/>
- Kant, I. 1783. *Prolegómenos*. (traducción del alemán por J. Besteiro). Aguilar: 234 pp.
- Kant, I. 1789. *Crítica de la razón Pura*; Segunda edición original (traducción del alemán por J. del Perojo). Losada: 792 pp.
- Kim, J. 1993. *Supervenience and Mind* (Selected Philosophical Essays). Cambridge: Cambridge University Press.
- Koort-Cetina, K. 2005. *La Fabricación del Conocimiento: Un ensayo sobre el carácter constructivista y la contextualidad de la Ciencia*. Editorial de la UNQ (traducción), Buenos Aires, 368 pp.
- Latour, B. & Woolgar S. 1987. *La vida en el Laboratorio. La construcción de los hechos científicos*. Editorial Alianza, Madrid . (1995): 328 pp.
- Latour, B. 1993. *Nunca hemos sido modernos. Ensayo de antropología simétrica* (obra de Latour disponible en: <http://www.bruno-latour.fr/>).
- Latour, B. 2005. *Re-assembling the social. An introduction to Actor-Network Theory*. Oxford University Press (obra de Latour disponible en: <http://www.bruno-latour.fr/>).
- Lyell, Ch. 1830-3. *Principles of Geology*. The University of Chicago Press, 1990, 511 pp.).
- Martin, O. 2003. *Sociología de las Ciencias*. Traducción de Heber Cardoso. Nueva Visión Buenos Aires, 139 pp.
- Max Scheler. 1935. *El Saber y la Cultura* . Traducción de Editorial Universitaria 1981, Santiago de Chile, 87 pp.
- Miall, A. 1992. The Exxon cycle chart: en event for every occasion?, *Geology* **20**: 787-790.

- Miall, A. & Miall, Ch. 2001. Sequence stratigraphy as a scientific enterprise: the evolution and persistence of conflicting paradigms. *Earth-Sciences Review*, **54**: 321-348.
- Miall, A. 2004a. Empiricism and model building in stratigraphy: Around the hermeneutic circle in the pursuit of stratigraphic correlation. *Stratigraphy*, **1**: 27-46.
- Miall, Ch. & Miall, A. 2004b. The Exxon Factor: The roles of Corporate and Academic Science in the emergence and legitimation of a New Global Model of Sequence Stratigraphy. *The Sociological Quat.*, **47** (2): 307-334.
- Musacchio, E.A., 2006. El Darwinismo a mediados del Siglo XX y las relaciones entre la Filosofía y la Biología. En: Ciencias de la Vida: Estudios Filosóficos e Históricos. (editor: Lorenzano, P. et al). *AFHIC*, **2**: 113-152. Campinas.
- Musacchio, E.A. 2008a. Procesos recurrentes y procesos irreversibles en Geología Histórica. En: Martins, R. A. et al., *Filosofia e História da Ciência no Cono Sul. 3º Encontro 2da. Edição.* Editorial Lulú. <http://www.ifi.unicamp.br/~ghic/AFHIC-2002-livro.htm>
- Musacchio, E.A. 2008b. Tiempo Geológico y correlaciones estratigráficas (en arbitraje).
- Musacchio, E.A. y Foix, N. 2007. Validación y acreditación de los conocimientos desde la perspectiva de las geociencias. *Primer Congreso Argentino de Estudios Sociales de la Técnica y la Tecnología*, **8**: 1.23, UNQI, Quilmes, Argentina.
- Ogg, J. 2007. Global Stratotype Sections and Points. Status on 2007, Disponible en: www.stratigraphy.org/gssp.htm
- Posamentier, H.W. y Allen, G. P. 1999. *Siliciclastic Sequence Stratigraphy - Concepts and Applications*, 210 pp. Oklahoma: SEPM.
- Sorokin, P. 1959. *Social and Cultural Mobility*. New York: The Free Press.
- Steno, Nicolaus. 1669. *De solido intra solidum naturaliter contento dissertationis prodromus: Uber Gesteine, Minerale und Kristalle, Fossilien, Schichten und Berge*. Firenze, 1669. Translation by John G. Winter. The McMillan Company 1916 (no disponible por el autor).
- Strawson, P. 1997. *Análisis y Metafísica*. Paidós, 206 pp.
- Vai, G.B. 2007. A history of chronostratigraphy. *Stratigraphy*, **4**: 83-97.
- Vail, P.R., Mitchum, R.M. (Jr.) & Thompson, S. 1977. Seismic stratigraphy and global changes of sea level. En: Payton, C.E. (editor) *Seismic stratigraphy - applications to hydrocarbon exploration*. *Am. Assoc. Petr. Geol.*, *Memoir*, **26**: 83-99.
- Wittgenstein, L. 1921. *Tractatus Logico-Philosophicus*. Hypertext of the Ogden bilingual edition. Disponible en: Hypertext of the Ogden bilingual edition. In: <http://www.kfs.org/~jonathan/witt/tlph.html>

Naturalia patagónica, 4(1): 23-36 (2008)

**ANÁLISIS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PARA LA CARACTERIZACIÓN
DE RESERVORIOS CLÁSTICOS DE AMBIENTE CONTINENTAL. CUENCA DEL
GOLFO SAN JORGE. ARGENTINA.**

**Analysis of Nuclear Magnetic Resonance for Characterization of Continental
Clastic Reservoirs. San Jorge Gulf Basin – Argentina.**

Acosta Néstor

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Departamento de Geología -
Facultad de Ciencias Naturales. Ciudad Universitaria. Km 4. Comodoro Rivadavia
(9005). E-mail: acostanest@hotmail.com

RESUMEN

En los últimos diez años los registros de Resonancia Magnética Nuclear en pozo tuvieron una amplia utilización en la Cuenca del Golfo San Jorge. La cantidad de perfiles RMN en la cuenca, en proporción a la cantidad de pozos perforados, supera a las experiencias realizadas en otros yacimientos en el mundo entero. Dada la escasa bibliografía respecto de los usos particulares en esta cuenca, se presenta una actualización de los principios de medición y los procedimientos de interpretación que se aplican a la fecha. Se incluyen conceptos teóricos básicos y necesarios para que el lector pueda formar criterios propios acerca del uso y aplicaciones utilizadas sin entrar en detalles que puedan complicar innecesariamente la lectura e interpretación de los mismos. No obstante, el propósito es que la lectura de esta descripción sea suficiente para poder comprender la mayoría de los fenómenos que rodean a estos registros. En forma resumida se enfocan los procedimientos, el análisis y las interpretaciones en la experiencia con datos de RMN obtenida en la Cuenca del Golfo San Jorge.

Palabras clave: Resonancia Magnética Nuclear, Cuenca del Golfo San Jorge, perfiles, yacimientos, Geología del petróleo, principios, procesamientos.

ABSTRACT

Since Darwin's time, the Earth scientists have focused their attention on the Patagonia. Its distinctive geologic characteristics continue being object of various works related to different geologic disciplines. The San Jorge Basin reservoirs are not the exception. The present contribution is the result of the several author's experiences in RMN analysis on reservoirs of sandstone with argillaceous-tuffaceous matrix belonging to geological formations of Cretaceous age. They are located in one of the main hydrocarbon producing basins of Argentina. The singularities of these reservoirs in connection to its lithologic complexity and hydrocarbon characteristics make the high technology use necessary in order to recognize more accurately the quality of these reservoirs. The principle of measure of RMN tool provides the perfect application for clastic sedimentary deposits formed by clastic materials of pyroclastic and volcanic provenance, variable proportion matrix, cement and different size pores. On the other hand, the characteristics of the multi-layer reservoir with hydrocarbons of different API densities and viscosities in each of them make these reservoir evaluations more difficult. As being the San Jorge Gulf Basin (SJGB) the part of the world with most nuclear magnetic resonance logs, it was possible to analyze various types of interpretations. These methodologies were improved over time from the first visual spectra analyses to current diffusion maps for fluids liquids detection and from the partial porosity analysis of correlation between termination flows and porosity values for quality rock recognition. It is intended to highlight the advantages and synthetically showed the main aspects of the use of NMR tools for characterization of continental clastic reservoirs of South America. This work summarizes the uses of these interpretations in order to improve the liquid hydrocarbon recovery in these reservoirs.

Keywords: Patagonia, nuclear magnetic resonance, characterization, diffusion, tuffaceous sandstones.

INTRODUCCION

El principio físico de las mediciones de Resonancia Magnética Nuclear en pozo (RMN) esta basado en excitar magnéticamente núcleos de hidrógeno presentes en los poros de las areniscas y analizar las señales que éstos emiten. La amplitud de estas señales será proporcional a la cantidad de núcleos de hidrógeno presentes en la zona de medida. Este fundamento de medición resulta aplicable a las rocas sedimentarias clásticas de la Cuenca del Golfo San

Jorge. Todas las mediciones de RMN implican el uso de un campo magnético y de ondas electromagnéticas de amplitud, frecuencia y duración controladas (pulsos). Estas ondas son emitidas por la antena de una herramienta de perfilaje. En condiciones muy particulares los núcleos de hidrógeno también emiten ondas electromagnéticas de la misma frecuencia que la antena emisora, las que se denominan ecos, ondas estas que son detectadas por la misma antena emisora.

Acosta N.: Análisis de Resonancia Magnética Nuclear para la caracterización de Reservorios Clásticos de Ambiente Continental.

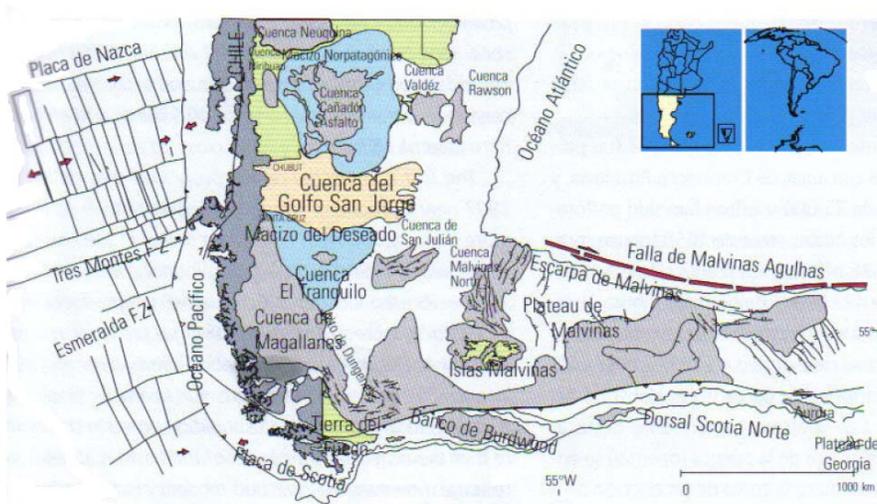
Los datos primarios obtenidos en cada ciclo de medida son trenes de ecos los cuales están caracterizados por su amplitud y por la variación de ésta con el tiempo. Estos dos factores son muy importantes dado que la variación de la amplitud nos da una idea de la proveniencia de la señal (material fino de la matriz o fluido neto en los poros); el valor de la amplitud a su vez depende del número de núcleos que pudo ser excitado en la zona de medida.

Marco Geológico

La Cuenca del Golfo San Jorge se encuentra ubicada en la parte central de Patagonia abarcando una importante

porción de la provincia de Chubut y el norte de Santa Cruz en Argentina. Presenta forma irregular y una marcada elongación en dirección este-oeste. Se ubica entre dos altos positivos que son, respectivamente, el Macizo del Deseado y el Macizo Norpatagónico, los cuales controlan su flanco sur en la provincia de Santa Cruz y su flanco norte en Chubut respectivamente (Figura 1). Dentro de los niveles del denominado Grupo Chubut o Chubutiano (Hechem et al., 1990). Se incluyen la formación Pozo D-129 principal roca generadora, como así también los principales reservorios agrupados en las formaciones Mina El Carmen, Castillo y Bajo Barreal (Lesta P., 1966).

Figura 1: Marco Geológico y ubicación de la Cuenca del Golfo San Jorge (modificado de Figari et al., 1999).



Características de los reservorios

Los principales reservorios de la cuenca pertenecen a la Formación Bajo Barreal y a sus equivalentes, los cuales, de acuerdo a la distribución areal en la misma, cambian de nombre (Comodoro Rivadavia y Yacimiento El Trébol para el Flanco Norte y Cañadón Seco y Meseta Espinosa para el Flanco Sur, respectivamente).

Estos depósitos sedimentarios pertenecen a ambientes fluviales continentales muy variados (sistemas colectores de tipo entrelazado, barreales someros, sistemas efímeros y de alta sinuosidad). La mayoría de estos depósitos arenosos con alta potencialidad para constituir reservorios de hidrocarburos se encuentran depositados en forma de depósitos canalizados, lóbulos y en menor proporción lentes.

Desde la óptica litológica y mineralógica de las rocas reservorio, se trata principalmente de areniscas volcanoclásticas de matriz arcillo-tobácea. Las cuales, en algunos casos, ven reducida su porosidad primaria por procesos diagenéticos de compactación mecánica, disolución de granos por contactos intergranulares y cementación de los poros (Acosta et al., 2007).

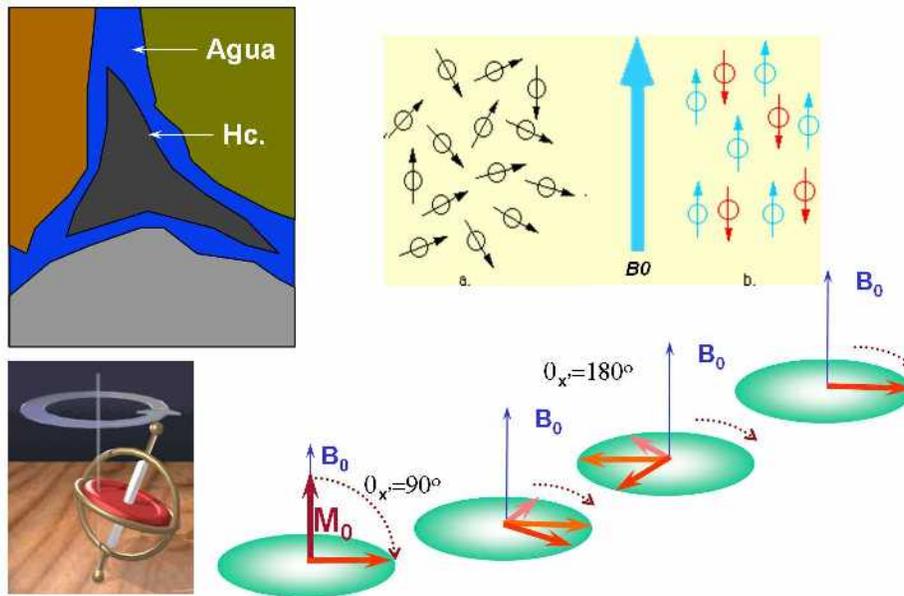
En lo que se refiere a la evaluación y caracterización de estos reservorios con registros de pozos, estas resultan a veces sumamente complejas dadas la complejidad litológica que presentan. Sin embargo existen importantes recopilaciones de datos obtenidos de muestras de subsuelo que se comparan con registros convencionales y de resonancia magnética nuclear pueden encontrarse en traba-

jos de reciente publicación (Breda et al., 2005).

Principios físicos básicos de las mediciones de RMN en reservorios clásticos

En los fluidos contenidos en los reservorios los momentos magnéticos de los núcleos de hidrogeno se ordenan de una manera aleatoria, tal que la suma de todos ellos es nula. La forma de detectar los fenómenos magnéticos asociados a los mismos es ordenándolos de forma tal que sus momentos magnéticos se sumen en alguna dirección preferencial (ver Figura 2). Este ordenamiento se obtiene aplicando un campo magnético exterior. En este estado de magnetización estable se aplican los pulsos en una frecuencia (en realidad una banda de frecuencias) igual a la frecuencia de Larmor que es la única frecuencia a la cual es posible comunicar energía a los protones. Este fenómeno es denominado resonancia magnética nuclear (RMN). El efecto de estos pulsos es un giro del momento magnético proporcional a la energía del pulso. Por lo tanto una vez finalizado este primer pulso (denominado de 90°), los momentos magnéticos se encuentran en el plano transversal girando a la frecuencia de Larmor. En el volumen investigado existe una banda de frecuencias de Larmor en lugar de una única y esto hace que rápidamente los más veloces tomen distancias de los más lerdos y se pierda la coherencia que permite detectarlos. En este punto se aplica un pulso con el doble de energía que el anterior (de 180°) provocando un giro también de 180° en el plano transversal alrededor de un eje (ver Figura 2).

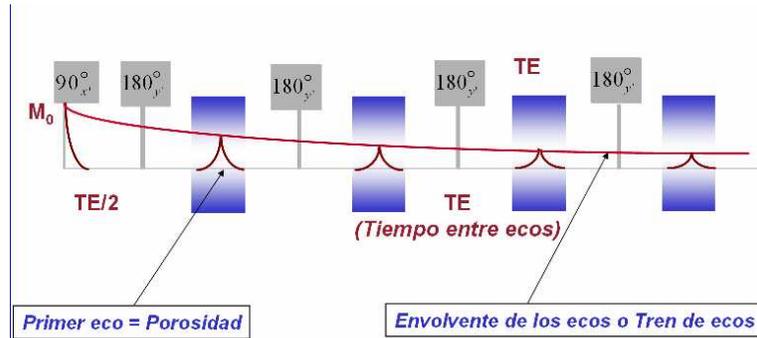
Figura 2: Spines de hidrogeno expuestos a campo magnético exterior y a pulsos de radiofrecuencia



Esto provocará que al cabo de cierto tiempo los más rápidos alcancen a los más lentos y en un instante todos los vectores pasen por el mismo lugar al mismo instante emitiendo una señal electromagnética que es detectada por la antena de la herramienta (*primer eco*). Este primer eco tiene la información de la cantidad de protones que participaron en el experimento de RMN y como éstos están contenidos en los fluidos la amplitud de este eco es proporcional a la porosidad del medio que estamos midiendo.

Las herramientas de perfilaje utilizan una secuencia de pulsos, la cual permite analizar la magnetización en el plano transversal, fundamentalmente cómo vuelve la magnetización a su estado de equilibrio inicial. Este proceso de recuperación que sigue leyes exponenciales, en el mismo la magnetización en el plano transversal comienza en un valor inicial M_0 y tiende a cero con una constante de tiempo de relajación denominada T2 (ver figura 3).

Figura 3: Secuencia de adquisición de datos de resonancia magnética nuclear.



La secuencia comienza con un pulso de 90° que ubica a los protones en el plano transversal seguido de una secuencia de pulsos de 180° obteniendo después de cada uno de ellos un eco (momentos magnéticos en fase). Estos ecos son proporcionales a la magnetización total que va quedando en el plano transversal, por lo que su amplitud va decayendo según una exponencial con constante de tiempo de relajación T_2 . La envolvente de los ecos se denomina *tren de ecos* y representa a los datos de RMN en el dominio del tiempo (ver figura 3). Los trenes de ecos adquiridos, contienen toda la información de cada uno de los experimentos realizados durante el registro. De esta información solamente es posible extraer visualmente alguna información en los casos en que los registros se realicen en medios homogéneos y con un solo tipo de fluido llenando el espacio poral. En los registros reales, cada uno de los trenes de ecos adquiridos, contiene información proveniente de las distintas partes del

reservorio que contienen hidrógeno. Distintos tamaños porales y distintos tipos de fluidos con distintos decaimientos, caracterizados por las distintas constantes de tiempo T_2 . En esta situación los trenes de ecos, no responden a exponenciales simples, sino que están compuestos por una infinidad de exponenciales con distinto T_2 , de acuerdo al aporte de señal de cada una de las distintas situaciones y tipos de fluidos que se encuentran en la formación. Los espectros representan la concentración de señal que corresponde a cada T_2 . En los mismos, la variable independiente x , representa la constante de tiempo T_2 , que a pesar de tener unidades de tiempo, no tiene el significado físico del tiempo. La amplitud de los ecos de cada experimento, puede ser expresada en función de la concentración de señal de la siguiente manera $P(T_2)$

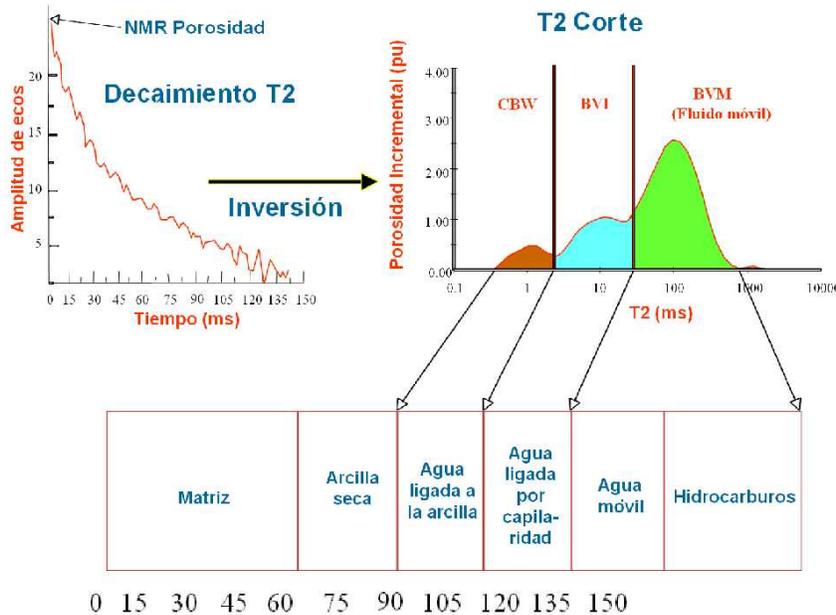
$$M_{(n \cdot T_E)} = \int_0^{\infty} P_{(T_2)} \cdot e^{-\frac{n \cdot T_E}{T_2}} \cdot dT_2$$

$P(T_2)$: distribución verdadera de T_2
 T : tiempo
 n : eco número
 $(n.TE)$: variable tiempo acotada
 $M(n.TE)$: Magnetización inicial
 e : base de los logaritmos naturales
 T_2 : variable constante de tiempo que caracteriza fenómenos RMN
 TE : tiempo entre ecos

El proceso matemático de hallar la función $p(T_2)$, a partir de un tren de ecos es conocido como *proceso de inversión*. Estas funciones son representadas para cada profundidad como espectros de T_2 .

Estos espectros son datos en el dominio de T_2 , es decir que mediante este proceso se pasa de variables de tiempo a variables de T_2 . Dicho en otras palabras, del dominio del tiempo al dominio de T_2 . Es posible fijar límites en este espectro de T_2 de manera de dividir a la porosidad, que es el área del espectro de T_2 , en porciones que representen muy aproximadamente a las porosidades efectiva, irreducible y móvil. Esto dependerá de una correcta elección del método de adquisición y de los valores T_2 límite o de corte elegido (ver figura 4).

Figura 4: Espectros de RMN y su relación con la distribución de la porosidad en rocas sedimentarias clásticas.



Evaluación de la calidad de las rocas reservorio

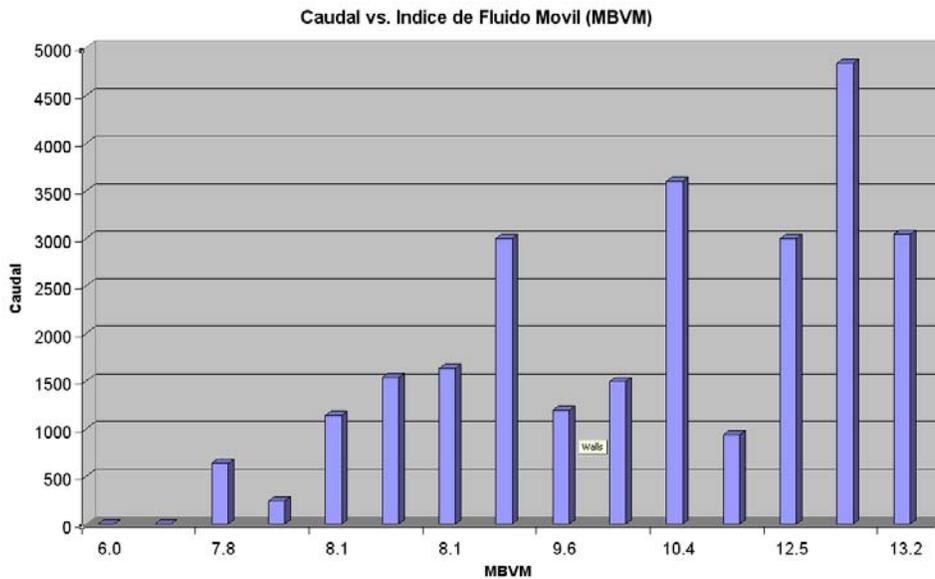
La información adquirida provee indicadores de calidad petrofísica de reservorio, el análisis de estos indicadores de calidad petrofísica permite caracterizar los reservorios mediante la aplicación de valores límite a los mismos.

Uno de los indicadores mas utilizados es la porosidad asociada a fluidos móviles. De esta manera, los reservorios de mejor calidad poseen valores de MBVM mayores a los límites establecidos estadísticamente por área y por formación (Domínguez, et al.2005). La discriminación entre buenos y malos

reservorios se realiza tomando como base el caudal obtenido durante el ensayo de terminación, siempre y cuando estos se hayan realizado en forma individual y no en conjunto.

Estadísticamente es posible encontrar una relación de proporcionalidad directa entre indicadores y caudales de ensayo de terminación y estimulación. Con valores bajos de los indicadores se obtienen bajos caudales. Los caudales bajos de capas que tienen indicadores con altos valores permiten inferir posibles daños de formación y sugieren algún tipo de estimulación que permita remover el daño e incrementar el caudal obtenido en la terminación.

Figura 5: Relación entre caudal fluidos de terminación y porosidad asociada a fluidos móviles.



De la manera antes mencionada, y tal cual se muestra en la Figura 5, es posible obtener estadísticamente, con un cierto grado de incertidumbre, los valores límite que permiten discriminar entre reservorios de buena, regular o mala calidad de reservorio.

Caracterización de Fluidos de Reservorios

a. MGTE™ (*Multi Gradient Inter-Echo Time*) y SIMET™ (*Simultaneous Inversion of Multiple Echo Trains*) - Interpretación visual de espectros de RMN.

La distinción de fluidos de reservorio se realiza aprovechando una propiedad característica de cada tipo de fluido llamada difusión, la cual es producida por un decaimiento adicional de los ecos en presencia de un campo magnético gradacional como el generado por la herramienta de RMN. La existencia de un gradiente de campo magnético hace que la frecuencia de Larmor cambie espacialmente de acuerdo a como cambia el campo. Esto provoca en la secuencia de pulsos un desfasaje adicional de los protones que en su movimiento desordenado se van del lugar donde fueron excitados cambiando su frecuencia de Larmor. Esto es análogo a una gota de tinta diluida en un vaso de agua. Este fenómeno que afecta mayormente a los fluidos de baja viscosidad es aprovechado para separar las señales de RMN provenientes de agua de aquellas provenientes del petróleo. Este se debe las diferencias en las constantes de difusión de ambos fluidos, las cuales dependen de las diferencias de viscosidad entre los mismos. Para utilizar la propiedad de difusión de los fluidos en los

registros de pozo, es necesario realizar una adquisición con distintas frecuencias y a distintos valores de gradiente de campo magnético.

El análisis Multi Gradient Inter-Echo Time (comúnmente: módulo de gradiente) computa espectros de T2 para diferentes valores de Gradiente de Campo magnético y Tiempo entre ecos. El diagnóstico de fluidos con espectros MGTE se realiza por comparación visual de los espectros de T2. Este análisis de espectros en ocasiones y dependiendo de la densidad específica pero fundamentalmente de la viscosidad del hidrocarburo presenta una escasa diferenciación. Por tal motivo a veces resulta un tanto difícil la caracterización antes mencionada.

Esta razón hace necesaria la utilización conjunta del análisis con el análisis *Simultaneous Inversion of Multiple Echo Trains* (comúnmente inversión simultánea) el cual analiza el total de la señal de trenes de eco separando por difusividad de los átomos de hidrógeno y mediante técnicas denominadas *forward-modeling inversion*. Esta técnica en forma iterativa busca el mejor modelo que reproduce la totalidad de los trenes de ecos considerados, esto se realiza en forma simultánea y evaluando también la calidad de esta simulación. La salida de este proceso consiste en espectros separados de T2 provenientes del agua y del petróleo. A partir de ellos es posible estimar volúmenes de hidrocarburo en la zona de medida de la herramienta. La evaluación de estos espectros se utiliza conjuntamente con los espectros MGTE para discriminar fluidos, tal cual se observa en las siguientes figuras (modificadas de Domínguez et al, 2005)

Cuando el fluido presente en el reservorio es petróleo de formación, los espectros deberán verse prácticamente iguales (sin desplazamientos relativos). El espectro de T_2 correspondiente al GTE de 89 (ubicado a la derecha en la Figura 5) no deberá estar desplazado hacia la izquierda respecto de los GTE de 36 y 17 (espectros ubicados a la izquierda). Esto se debe a la poca difusión que presenta este tipo de fluido. Por otro lado los espectros diferenciados en la columna correspondiente a SIMET muestran espectros de petróleo en tiempos altos y con gran amplitud.

Cuando el fluido contenido en el reservorio es **agua de formación**, el espectro de la derecha (GTE: 69) presentará un desplazamiento (“*shift*”) hacia la izquierda respecto a los del GTE: 36 y 17 (ver Figura 6). Este desplazamiento se debe a la mayor difusión del agua respecto del petróleo. Los espectros diferenciados en la columna correspondiente a SIMET no muestran espectros de petróleo mientras que si aparecen bien definidos los espectros de agua.

Figura 6: Ejemplo de perfil de RMN de pozo para interpretación de petróleo de formación (modificada de Domínguez et al., 2005)

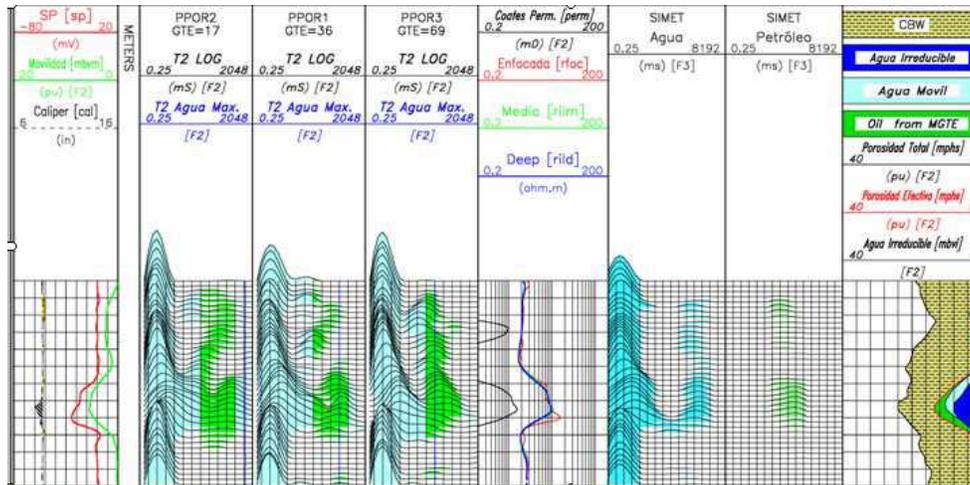
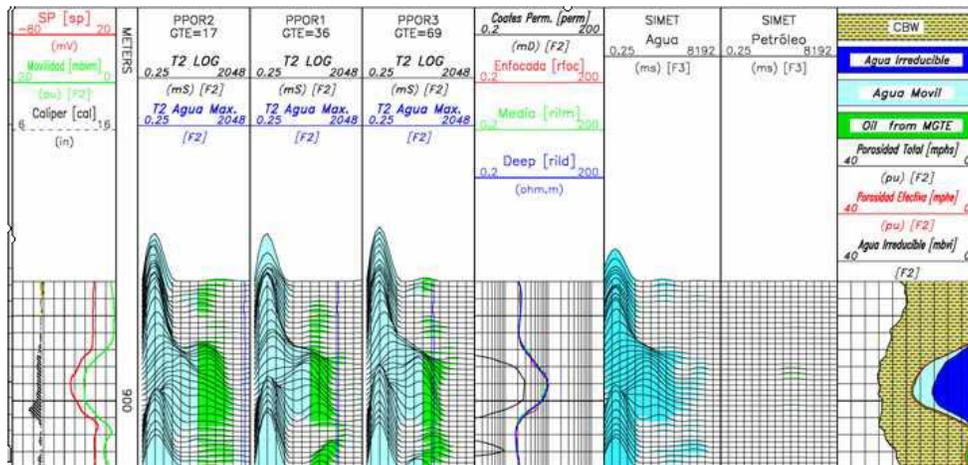


Figura 7: Ejemplo de perfil de RMN de pozo para interpretación de agua de formación (modificada de Domínguez et al., 2005)



Otro elemento que es utilizado para el diagnóstico de petróleo y que aprovecha los efectos de la difusión es el valor de T2 máx del agua, el cual depende de los parámetros de adquisición, de la temperatura y de la salinidad del agua. Toda señal que esté por arriba de esta línea es producida por petróleo que se encuentre en la zona de lectura de la herramienta.

b. Análisis de Mapas de Difusión

En los casos en que los poros son llenados sólo por la fase humectante, normalmente agua, los espectros representan tamaños porales, correspondiendo al agua ligada a las arcillas, los valores más bajos de T2 y a los fluidos móviles los valores mas altos de T2.

Cuando en los poros existen dos fluidos, uno humectante, normalmente agua y uno no humectante, normalmente hidrocarburo, la señal proveniente del

fluido no humectante no depende de los tamaños porales y sino que depende solo del tipo de fluido.

Los espectros pueden ser calculados a partir de experimentos (adquisiciones) realizados con gradiente de campo magnético y con un tiempo dado entre ecos TE, denominándose a los mismos espectros de *T2 aparente*. De dos o mas experimentos con distintos TE es posible, matemáticamente, hallar el espectro que tendría un experimento hipotético con TE igual a cero, a estos espectros se los llama espectros de *T2 intrínsecos*, en los cuales no existen los efectos de la difusión.

Un mapa de difusión se presenta como un simple *crossplot* del espectro difusión versus el espectro de T2 intrínseco. T2 es el tiempo de relajación que corresponde a la constante de tiempo del decaimiento del tren de ecos y la difusividad D es la medida de la habilidad

de las moléculas para moverse aleatoriamente en el fluido. Cuando tanto el petróleo como el agua exhiben el mismo T2, se los diferencia claramente mediante la adición de una segunda propiedad de los fluidos, la difusión. En estos *crossplots* graficamos en 2D los datos de RMN (difusión vs. T2 Intrínseco) para de esta manera diferenciar fluidos con el mismo T2 pero distinta difusión.

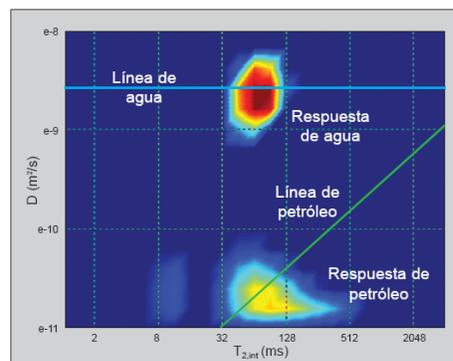
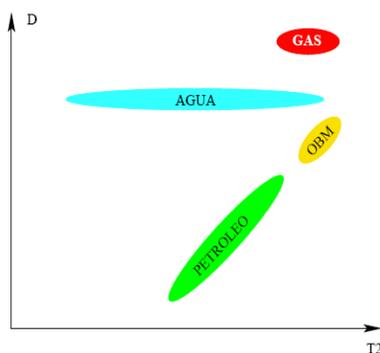
El coeficiente de difusión del agua depende de la temperatura, de la presión, de los sólidos disueltos y, en menor grado, de su salinidad. Para una temperatura y presión de reservorio conocidas, el coeficiente de difusión del agua es constante y se puede predecir con cierta precisión. El T2 del agua es variable, pues depende de su estado (si el agua es móvil, o bien, si está ligada). Sin embargo, el coeficiente de difusión del agua permanece constante. En correspondencia con esto último, la línea de agua se grafica como línea horizontal sobre la imagen de D - T2int. y su posición por el eje T2int dependerá de si la condición del agua corresponde a agua

ligada a la arcilla, agua ligada por capilaridad o bien agua móvil.

La línea del petróleo sobre la imagen de D - T2int se representa como una línea diagonal porque tanto T2 como D varían con la viscosidad del petróleo. T2 y D para el petróleo varían también con la temperatura y la presión, de modo que la línea del petróleo se determina para una temperatura y presión de reservorio conocida y su posición por la línea dependerá de la viscosidad.

En muchos casos, los fluidos de reservorio en la Cuenca del Golfo San Jorge exhiben un contraste importante de T2. En estas condiciones, T2 es suficiente para identificar el fluido del reservorio. Sin embargo, en algunos reservorios los fluidos no exhiben un excesivo contraste de T2. En estos casos el T2 solo, suele resultar insuficiente para identificar los tipos de fluidos del mismo. Dependiendo de la viscosidad del petróleo suele suceder que el T2 del petróleo queda superpuesto al T2, tanto del agua ligada como el del agua móvil.

Figura 8: Grafico de interpretación de mapas de difusión mostrando zonas que permiten discriminar fluidos de igual T2 pero diferente difusión



Acosta N.: Análisis de Resonancia Magnética Nuclear para la caracterización de Reservorios Clásticos de Ambiente Continental.

Los petróleos viscosos exhiben tiempos T2 cortos, lo que puede coincidir con el T2 del agua ligada o irreducible. Para diferenciar entre petróleo y agua en situaciones en las que el T2 del petróleo y del agua es muy similar, es necesario considerar otra propiedad del fluido en la cual haya más contraste entre el petróleo y el agua.

CONCLUSIONES

1. Se detallan de manera concisa los fundamentos físicos de la RMN en la geología del petróleo y se destacan las ventajas para cuantificar propiedades petrofísicas de reservorios arenosos constituidos por materiales de origen piroclástico.

2. Se presenta una actualización de los principios físicos de medición en sus aplicaciones y los procedimientos o estrategias particulares de interpretación que se utilizan a la fecha en reservorios clásticos de la Cuenca del Golfo San Jorge.

3. Las metodologías expuestas en la presente contribución permiten dilucidar las dificultades para estudiar en subsuelo las características de reservorios de complejas características como los del Cretácico Superior en la mencionada Cuenca

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a los revisores de la Revista *Naturalia Patagonia* por haber mejorado la versión original.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta N., Estrada E., Saavedra B. (Baker Hughes Argentina. Atlas Division.

South District GEOScience Center).2007. Porosity Variations by Diagenesis in Reservoirs of the Bajo Barreal Formation, San Jorge Basin: Methodology of Evaluation with Logs. X Latin American and Caribbean Petroleum Engineering Conference, SPE # 108065. Buenos Aires, Argentina.

Baker Atlas Brochure. MR Explorer Services Publication. 2004. 1: 1-19 pp. Houston, EE.UU.

Breda, E. & Lucero M. (Repsol-YPF). 2005. Caracterización de los reservorios de la Formación Bajo Barreal Inferior Arenas y Tobas (Sección Tobácea). VI Congreso de Exploración y Desarrollo de Hidrocarburos, 1: 197-214pp. Mar del Plata, Argentina.

Carr, H.Y. & Purcell, E.M. 1954. Effects of Difusión on Free Precession in nuclear magnetic resonance Experiments. *Phys. Rev.*, **94**: 630-638 pp.

S. Chen, D. Beard, M. Gillen, S. Fang & G. Zhang. 2003. MR Explorer Log Acquisition Methods: Petrophysical Objective Oriented Approaches. 44th Annual Logging Symposium. SPWLA. 1: 1-13 pp. Texas, EE.UU

S. Chen, G. Hursan, D. Beard & D. Georgi.. G.TE. Correction for Processing Multigradient, Multiple – TE NMR Log Data. SPE. Paper SPE # 84481. Texas, EE.UU

Coates, G.R., Xiao, R. & Prammer, M.G. 1999. NMR Logging Principles and Applications, Ed. Halliburton Energy Services, , 76 pp. EE.UU.

Domínguez, H., Saavedra, B.; Corbelleri, A. & L. Sliwinsky. 2005. Uso de resonancia magnética nuclear

Acosta N.: Análisis de Resonancia Magnética Nuclear para la caracterización de Reservorios Clásticos de Ambiente Continental.

- para la caracterización de reservorios y fluidos en yacimientos de la Cuenca del Golfo San Jorge, Patagonia, Argentina. VI Congreso de Exploración y Desarrollo de Hidrocarburos, Mar del Plata, **1**: 59-71 pp.
- Hechem, J., Homovc, J. & Figari, E. 1990. Estratigrafía del Chubutiano (Cretácico) en la Sierra de San Bernardo, Cuenca del Golfo San Jorge, Argentina. Actas del XI Congreso Geológico Argentino, **3**: 173-176.
- Lesta, P. 1966. Estratigrafía de la Cuenca del Golfo San Jorge. Terceras Jornadas Geológicas Argentinas, **1** : 251-287.
- E. Murphy, G. Hursan & S. Chen. 2-D NMR Method Helps Well Analysis. 2005. The American Oil & Gas Reporter. Texas, EE.UU.
- Slijkerman, W. F. J., Looyestijn, W. J., Hofstra, P., and Hofman, J. P.,: "Processing of Multi-Acquisition NMR Data,"1999. paper SPE56768. 65th ATCE of SPE. New Orleans, EE.UU.

**CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO FARMACOGNÓSTICO DE
CHILIOTRICHUM DIFFUSUM (ASTERACEAE).**

**Contribution at pharmacognostic knowledge of the
Chiliotrichum diffusum (Asteraceae).**

Alcalde Sandra M.¹, Taira Carlos A.², Córdoba Osvaldo L.³, Flores María L.⁴

¹Farmacología I, ³Química Biológica II y ⁴Farmacognosia, CRIDECIT - FCN, UNPSJB, Km 4, 9000, Comodoro Rivadavia, Chubut. ²Farmacología, FFyB, UBA, Junín 956, Buenos Aires, Argentina. E-mail: fargnosi@unpata.edu.ar

RESUMEN

Chiliotrichum diffusum (Asteraceae), "mata negra", habita el SO de Argentina. Ha sido descripta como medicinal. En las partes aéreas y las flores se detectaron flavonoides, taninos e hidratos de carbono. Los principales flavonoides obtenidos con acetato de etilo a partir de los extractos alcohólico (AE-HOL) y acuoso (AE-DF), fueron flavonas, dihidroflavonoles; flavona 7-O-monoglicosilada y flavonol 3-O-monoglicosilado. AE-HOL presentó vitexina, quercetina metil éter, un derivado glicosilado del kaempferol y apigenina-7-O-glucósido. En AE-DF fueron identificados miricetina, kaempferol, kaempferol-7-metil éter (ramnicitrina), miricetina-3-O-arabinósido y kaempferol-3-O-galactósido. La actividad antioxidante fue importante con un 94 y 87 % de inhibición en AE-HOL y AE-DF, respectivamente. El extracto total alcohólico (HOL) así como las fracciones obtenidas con acetato de etilo y agua (AE-HOL y W-HOL), evidenciaron una $LC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$ frente al bioensayo de citotoxicidad de *Artemia salina*.

Palabras clave: Asteraceae, bioactividad, *Chiliotrichum diffusum*, flavonoides, flora patagónica, "mata negra".

ABSTRACT

Chilotrichum diffusum (Asteraceae), "mata negra", inhabits the SW of Argentina. Medicinal uses have been described to it. Flavonoids, tannins and carbohydrates were detected in aerial parts and flowers. The principal flavonoids obtained with ethyl acetate from alcoholic (AE-HOL) and water extracts (AE-DF), were flavones, dihydroflavonols; flavone 7-O-monoglycoside and flavonol 3-O-monoglycoside. AE-HOL showed vitexin, quercetin methyl ether, kaempferol-O-glycoside and apigenin-7-O-glycoside. In AE-DF were identified myricetin, kaempferol, kaempferol-7-methyl ether (ramnicitrin), myricetin-3-O-arabinoside and kaempferol-3-O-galactoside. AE-HOL and AE-DF showed important antioxidant activity with 94 and 87 % of inhibition respectively. The alcoholic total extract (HOL) and their ethyl acetate and water fractions (AE-HOL and W-HOL) showed $LC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$ with *Artemia salina* cytotoxicity's bioassay.

Keywords: Asteraceae, bioactivity, *Chilotrichum diffusum*, flavonoids, "mata negra", patagonian flora.

INTRODUCCION

Los compuestos fenólicos y en particular los de naturaleza flavonoide, son ampliamente descritos por sus propiedades farmacológicas, destacándose actividades tales como antitumoral, quimio protectora contra distintos tipos de cáncer, antiséptica, antiinflamatoria y antioxidante (Martínez *et al.*, 2001; Hertog *et al.*, 1993; Miller *et al.*, 1994; Benavente-García *et al.*, 1997; Hiramó *et al.*, 1994; Yoshida *et al.*, 1990; Yin *et al.*, 1999; Agullo *et al.*, 1996; Bylka *et al.*, 2004; Alcaraz y Carvalho, 2004). Dichas propiedades de los flavonoides guardan relación con usos étnicos de muchas de las especies que los biosintetizan.

La familia Asteraceae se halla ampliamente distribuida en nuestro país y comprende un número importante de especies utilizadas en medicina folklórica como antiinflamatorias, digestivas y colagogas, entre otras.

Chilotrichum diffusum (G. Forst.) Kuntze (Asteraceae), conocida popularmente como mata negra y kóor en lengua shélnkam, es un arbusto que se desarrolla con carácter dominante en el SO argentino (Cabrera, 1971), particularmente en zonas denominadas humedales. Se ha descrito como forrajera y medicinal, destacándose el uso por los pueblos onas, de las flores como antisépticos para aclarar la vista y de las partes aéreas en rituales (Moore, 1983; Vera, 1993-94). Estudios más recientes relacionados con el efecto de las radiaciones UV nocivas sobre el desarrollo de especies vegetales de América del Sur, particularmente de la Patagonia, han descrito que a diferencia de otras plantas que conviven con *C. diffusum*, esta especie no resulta afectada por tales radiaciones (Ballare *et al.*, 2001; Rousseaux *et al.*, 2001).

En estudios previos caracterizamos a *C. diffusum* mediante el screening

químico de un extracto total de las hojas y de las flores. Los grupos mayoritarios correspondieron a derivados fenólicos (en particular flavonoides) e hidratos de carbono (Alcalde *et al.*, 2007).

En este trabajo se describen resultados del análisis de las fracciones enriquecidas de flavonoides, obtenidas con acetato de etilo a partir de extractos totales de hojas y de las flores.

MATERIALES Y METODOS

Estudios químicos

Las partes aéreas y las flores habían sido colectadas en verano en 28 de Noviembre, Santa Cruz, secadas a temperatura ambiente al abrigo de la luz, molidas, tamizadas y extraídas exhaustivamente con etanol 96° a temperatura ambiente (**HOL**) (Harborne, 1991) y con agua a 100 °C mediante decocción (**DF**) (FNA VI Ed, 1978). Un ejemplar de la especie se halla depositado en el Herbario Regional Patagónico de la UNPSJB, bajo el N° HRP 5305.

Ambos extractos totales (**HOL** y **DF**) fueron purificados mediante solventes de distinta polaridad. A partir de las fracciones obtenidas con acetato de etilo (**AE-**), los flavonoides se caracterizaron mediante sistemas de cromatografía planar y HPLC. Además algunos constituyentes fueron analizados mediante espectrofotometría UV-Vis.

Los perfiles cromatográficos planares se efectuaron sobre papel Whatman N° 3MN mediante un sistema bidimensional (1° D: BAW, *n*-butanol-ácido acético-agua, 3:1:1; 2° D: HAcO al 15 %) y en distintos sistemas monodimensionales sobre papel Whatman N° 1, con HAcO al 15 % y al 6 %, BAW (*n*-butanol-ácido acético-agua,

3:1:1), Forestal (ácido clorhídrico-ácido acético-agua, 3:30:10) y agua, como fases móviles (Harborne, 1991; Mabry *et al.*, 1970). Para las cromatografías preparativas se utilizó papel Whatman N° 3MN y HAcO al 15 % como fase móvil (Mabry *et al.*, 1970).

Para HPLC se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta performance equipado con un detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD, Waters). Se trabajó con una columna de fase reversa C₁₈ de 250 x 4,6 mm y 5 µm de partícula, empleando acetonitrilo-agua (8:2) como solvente de elusión con un flujo de 1 ml/min. La detección se realizó a 280 nm y como sustancia de referencia, fue utilizada una solución alcohólica de quercetina (*t_r*= 3,12 min).

Estudios de actividad biológica primaria

1. *Capacidad antioxidante.* Las fracciones analizadas fueron las purificadas con acetato de etilo a partir de ambos extractos totales (**AE-HOL** y **AE-DF**). Se utilizó el método de inhibición del DPPH (radical 2,2'-difeníl-1-picrilhidracilo), con etanol absoluto como solvente y control negativo y BHT (butilhidroxitolueno) como control positivo (Koleva *et al.*, 2002).

2. *Test de Artemia salina.* El extracto alcohólico total de las partes aéreas (**HOL**) y las fracciones obtenidas a partir de él con acetato de etilo (**AE-HOL**) y con agua (**W-HOL**), fueron analizadas mediante el bioensayo de citotoxicidad de la *Artemia salina* según la técnica descrita por Mc Laughlin *et al.* (1991), en concentraciones finales de 1000, 100 y 10 µg/ml en la solución de sal marina, en todos los casos por triplicado. Como control negativo (blanco) se usó la solución de sal marina. El cálculo de la

concentración que provoca la muerte del 50 % de los nauplios (LC₅₀) y su intervalo de confianza del 95 %, se efectuó por el método estadístico usual (Finney, 1978).

RESULTADOS Y DISCUSION

La tribu Astereae de las Asteraceae, a la que pertenece *C. diffusum*, presenta flavonoides con importantes variabilidades estructurales que son utilizados con fines quimiotaxonómicos (Crawford, 1978; Emerenciano *et al.*, 1987, 2001). Por otra parte, han sido descritos distintos compuestos de esta naturaleza con propiedades farmacológicas (Pathak *et al.*, 1991; Ivanova *et al.*, 2005).

Los flavonoides evidenciados en los extractos totales de *C. diffusum* (**HOL** y **DF**) demostraron dos particularidades: alta proporción y polaridad importante, destacándose derivados de flavonas y flavonoles O-glicosilados en posición 7 (y algunos en 3) y flavonas libres.

En función de tales resultados, se realizó un fraccionamiento del extracto alcohólico total (**HOL**) y del decocto (**DF**) utilizando solventes de polaridad creciente

a fin de purificar los principales flavonoides. De las fracciones obtenidas, estas sustancias resultaron destacables en las de acetato de etilo (**AE-**) y acuosa final (**W-**).

Los perfiles cromatográficos fueron complejos, aunque destacaron los grupos característicos descritos para las Astereae. Así, los perfiles obtenidos mediante cromatografía bidimensional para las fracciones de acetato de etilo de **HOL** y de **DF** (**AE-**), mostraron geninas de flavonas y de dihidroflavonoles; flavona 7-O-monoglicosilada y flavonol 3-O-monoglicosilado. Una característica particular fue la prevalencia de OH libre en 4' (anillo B). Además presentaron ácidos fenólicos y fenoles simples. **AE-HOL** evidenció también derivados metilados de flavonoles. La **Tabla I** muestra estos resultados.

La fracción acuosa final remanente del fraccionamiento de **HOL**, resultó enriquecida en derivados mono y diglicosilados (**Tabla I**). Composición semejante presentó la correspondiente de **DF**.

Tabla I. Resultados de los perfiles obtenidos mediante cromatografía planar bidimensional de las fracciones de acetato de etilo y acuosa final de **HOL** de *C. diffusum*.

FRACCION	TIPOS DE FLAVONOIDES	UV	NH ₃ + UV
AE-HOL	flavona	opaco	opaco
	flavona con OH en 4'	opaco	amarillo
	flavona C-glicosilada con OH en 4'	opaco	amarillo
	flavona 7-O-monoglicosilada con OH en 4'	opaco	amarillo
	flavonol 3-O-monoglicosilado con OH en 4'	opaco	amarillo
	dihidroflavonol con OH en 4'	amarillo	amarillo↑
W-HOL	flavonol con OH en 4'	amarillo	amarillo↑
	flavona C-glicosilada con OH en 4'	opaco	amarillo
	flavona 7-O-monoglicosilada con OH en 4'	opaco	amarillo
	flavona 7-O-diglicosilada con OH en 4'	opaco	amarillo
	flavonol 7-O-diglicosilado con OH en 4'	amarillo	amarillo↑

Los perfiles monodimensionales de **AE-HOL** fueron más sencillos, pero no lograron diferenciar todos los constituyentes. Por ello se efectuó una cromatografía preparativa y las dos subfracciones principales separadas, fueron caracterizadas mediante la determinación de R_f, tr y/o máximos de absorción al UV-Vis. La **Tabla II** muestra los principales resultados.

En ambas subfracciones resultó destacable la presencia de derivados de la apigenina, una flavona característica de las Asteraceae. Por un lado se detectó una sustancia cuyas propiedades espectrales se correspondían con la

vitexina, la cual estuvo acompañada de quercetina metil éter. La segunda subfracción mostró un derivado glicosilado del kaempferol y apigenina-7-O-glucósido (**Tabla II**).

Por otra parte, **DF** mostró la presencia de flavonas, flavonoles y cianidinas. Estas últimas fueron analizadas mediante un tratamiento en caliente con ácido clorhídrico 2 M y posterior fraccionamiento con butanol. La fracción butanólica mostró la presencia de 3,7,4'-trihidroxiflavilio y apigeninidina, mientras que la acuosa contenía fundamentalmente un derivado de flavonol y pelargonidina (**Tabla III**).

Tabla II. Análisis cromatográfico y espectrofotométrico de los constituyentes principales de las subfracciones mayoritarias separadas por HPLC, a partir de la fracción de acetato de etilo de HOL de *C. diffusum*.

Subfracción de AE-HOL	HPLC (tr min)	$\lambda_{\text{máx nm}}$			Flavonoide probable
		MeOH	MeOH/NaAcO	MeOH/NaAcO/H ₃ BO ₃	
AE-1-I	1,76	268, 339	279, 324	252, 344	vitexina
AE-1-II	3,09	261, 349	269, 345	260, 368	quercetina-O-CH ₃
AE-2-I	1,73	248, 325	250, 326	259, 350	kaempferol-O-glc
AE-2-II	3,30	267, 333	270, 326	264, 349	apigenina-7-O-glc

Tabla III. Análisis cromatográfico y espectrofotométrico de los constituyentes fenólicos principales obtenidos del DF de *C. diffusum*, mediante tratamiento ácido en caliente y fraccionamiento con butanol.

Fracción	R _f Forestal	UV / Visible	NH ₃ + UV	$\lambda_{\text{máx nm}}$ MeOH-HCl	Sustancia probable
BuOH	0,93	amarillo flúor / amarillo	↑ amarillo flúor	476	3,7,4'-trihidroxiflavilio
	0,76	amarillo / amarillo	amarillo	277, 477	apigeninidina
Acuosa	0,86	amarillo flúor / -	↑ amarillo flúor	n.d.	derivado de flavonol
	0,70	amarillo débil / rosa	amarillo débil	521	pelargonidina

La pelargonidina se halla ampliamente distribuida en las flores de distintas especies de Asteraceae, en cambio la apigeninidina no ha sido tan descripta, por lo que este resultado constituye un aporte interesante al conocimiento del patrón de fenoles de la familia y de la tribu Astereae. En particular, cianidinas semejantes han sido investigadas para el tratamiento de alteraciones de la retina, mejorando rápidamente el umbral luminoso (Ferraro, 1983), por lo que las sustancias evidenciadas en *C. diffusum* podrían guardar relación con el uso medicinal de las flores.

En **AE-DF** se destacaron flavonas, flavonoles y pirogalol. Los perfiles cromatográficos evidenciaron la probable presencia de miricetina ($R_{f_{\text{Forestal}}}= 0,27$), kaempferol ($R_{f_{\text{Forestal}}}= 0,59$), derivados metilados, particularmente kaempferol-7-metil éter (ramnicitrina, $R_{f_{\text{Forestal}}}= 0,80$) y derivados glicosilados, destacándose miricetina-3-O-ara ($R_{f_{\text{agua}}}= 0,02$) y kaempferol-3-O-gal ($R_{f_{\text{agua}}}= 0,08$). El pirogalol fue separado mediante cromatografía planar con ácido acético al 6 % ($R_f= 0,71$). Además se obtuvieron los máximos de absorción al UV-Vis, cuyos resultados coincidieron con las sustancias mencionadas

Emerenciano *et al.* (2001) describieron la prevalencia de flavonoles y flavonas en una proporción aproximada de 3:1, así como de flavanonas y dihidroflavonoles minoritarios en las Asteridae. Además, Harborne (1977) ha descrito que la relación flavona / flavonol constituye un indicador evolutivo. Otra característica importante indicada por el mencionado autor a partir de estudios efectuados en angiospermas, es la diferencia en el patrón de sustitución de los oxhidrilos fenólicos de los flavonoides,

destacando para la tribu Astereae, la prevalencia de derivados O-metilados sobre los O-glicosilados. Nuestros resultados muestran cierta concordancia con lo descrito por los autores y sobre todo coinciden con estudios realizados sobre las flores de otras especies de Asteridae.

La actividad antioxidante fue muy importante, tanto en los extractos totales como en las fracciones de acetato de etilo obtenidas de ambos extractos, mostrando 94 y 87 % de inhibición del DPPH por parte de **AE-HOL** y **AE-DF**, respectivamente. Ello resulta coincidente con los constituyentes fenólicos detectados en cada caso, marcando una importante relación estructura química / capacidad antioxidante de las partes aéreas y de las flores de *C. diffusum*.

Asen *et al.* (1972) destacaron el rol de los flavonoles en la protección de las plantas frente a las radiaciones UV nocivas, así como el papel que juegan en la elongación de los tallos y ramas y en la maduración de los frutos. Pero además, algunos de estos compuestos participan conjuntamente con las antocianinas en la pigmentación de las partes aéreas, fundamentalmente en las flores y hojas.

La citotoxicidad también resultó destacable, tanto para el extracto alcohólico total (**HOL**) como para las fracciones de acetato de etilo (**AE-HOL**) y acuosa final (**W-HOL**) obtenidas a partir del mismo (**Tabla IV**). Los valores de $LC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$ en todos los casos, sugieren la presencia de sustancias promisorias como antitumorales. Ello podría atribuirse principalmente a la presencia de las flavonas y los derivados metilados de flavonoides detectados.

Tabla IV. Resultados del test de citotoxicidad de la *Artemia salina* de HOL y de las fracciones enriquecidas de flavonoides de *C. diffusum*

Fracción	Porcentaje de organismos muertos			LC ₅₀ µg/ml
	10 µg/ml	100 µg/ml	1000 µg/ml	
HOL	37	50	83	12
AE-HOL	40	50	n.d.	5
W-HOL	50	70	100	14

Park y Cha (2003), han destacado la importancia de los compuestos fenólicos en los procesos fisiológicos de defensa de las plantas frente a infecciones por bacterias y virus.

En los últimos años, los flavonoides han recibido considerable atención por sus propiedades farmacológicas tales como antioxidantes, antimutagénica y anticarcinogénica, destacándose la quercetina, kaempferol, apigenina y luteolina (Karakaya y El, 1999; Soleas *et al.*, 2002). Además, algunos flavonoides tales como la quercetina y la rutina, se destacan en la atención de la salud como agentes antiinflamatorios, antihistamínicos y antivirales (Soleas *et al.*, 1997).

CONCLUSIONES

Chilotrichum diffusum (Asteraceae) biosintetiza sustancias fenólicas de estructuras variables, destacándose los flavonoides. Las fracciones de mayor polaridad obtenidas de las partes aéreas y de las flores, evidenciaron flavonas, flavonoles y cianidinas. La actividad antioxidante fue muy importante, al igual que la citotoxicidad, mostrando una

relación directa con los grupos de fenoles presentes.

Los flavonoides caracterizados así como la actividad biológica evidenciada, guardan relación con el uso etnomédico de *C. diffusum*.

Los resultados obtenidos constituyen un nuevo aporte al conocimiento integral de la flora de la región patagónica de Argentina. Los estudios continúan a fin de corroborar las estructuras químicas y avanzar en el conocimiento de otras actividades farmacológicas.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo se realizó en el marco de los proyectos PME 216, PNUD ARG 02/018 BB-34 y PI UNPSJB. Los autores son integrantes de la Red RIPRONAMED-CYTED. C.A.T. es miembro de CONICET.

BIBLIOGRAFÍA

Agullo, G.; Gamet-Payrastre, L.; Fernández, Y.; Anciaux, N.; Demigné, C. & Révész, C. 1996. Comparative effects of flavonoids on the growth, viability and metabolism of a colonic

- adenocarcinoma cell line (ht29 cells). *Cancer lett.*, 105: 61-70.
- Alcalde, S.; Flores, M. L.; Córdoba, O. L.; Höcht, C. & Taira, C. 2007. Phytochemical and pharmacological studies of flowers decoction from *Chilotrichum diffusum* (Asteraceae). *BioCell*, **31** (1): 93.
- Alcaraz, M. J. & Tavares Carvalho, J. C. 2004. Flavonóides como agentes anti-inflamatórios, en *Fitoterápicos Anti-inflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas*, Tecmedd Editora, pp: 79-100.
- Asen, S.; Stewart, R. N. & Norris, K. H. 1972. Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effects on colour. *Phytochemistry*, **11**: 1139-1144.
- Ballaré, C. L.; Rousseaux, M. C.; Searles, P. S.; Zallerb, J. G.; Giordano, C. V.; Robson, T. M.; Caldwell, M. M.; Sala, O. E. & Scopel, A. L. 2001. Impacts of solar ultraviolet-B radiation on terrestrial ecosystems of Tierra del Fuego (southern Argentina). An overview of recent progress. *Photochem. Photobiol. B: Biology*, **62**: 67-77.
- Benavente-García, O.; Castillo, J.; Marín, F. R.; Ortuño, A. & Del Río, J. A. 1997. Uses and properties of citrus flavonoids. *J. Agric. Food Chem.*, **45**: 4505-4515.
- Bylka, W.; Matlawska, I. & Pilewski, N. A. 2004. Natural flavonoids as antimicrobial agents. *JANA*, **7** (2): 24-31.
- Cabrera, A. L. 1971. Compositae, en *Flora Patagónica*, dirigida por Correa, M. N. Colección Científica del INTA, Argentina, Parte VII, págs. 1-12 y 37-40.
- Crawford, D. J. 1978. Flavonoid chemistry and angiosperm evolution. *Bot. Rev.*, **44**: 431-456.
- Emerenciano, V. P.; Ferreira, Z. S.; Kaplan, M. A. C. & Gottlieb, O. R. 1987. A chemosystematic analysis of tribes of Asteraceae involving sesquiterpene lactones and flavonoids. *Phytochemistry*, **26**: 3103-3115.
- Emerenciano, V. P.; Militão, J. S. L. T.; Campos, C. C.; Romoff, P.; Kaplan, M. A. C.; Zambon, M. & Brant, A. J. C. 2001. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochem. Syst. Ecol.*, **29**: 947-57.
- Ferraro, G. 1983. Flavonoides: actualización de su uso en terapéutica. *Acta Farm. Bonaerense*, **2** (2): 97-103.
- Finney, D. J. 1978. *Statistical method in biological assay*, 3rd Ed. C. Griffin & Co. Ltd., London.
- FNA (Farmacopea Nacional Argentina) VI Ed., 1978.
- Harborne, J. B. 1977. Flavonoids and evolution of the Angiosperms. *Biochem. Syst. Ecol.*, **5**: 5-22.
- Harbone, J. B. 1991. *Phytochemical Methods. A Guide to Modern techniques of Plant Analysis*. 2nd Ed., Chapman and Hall, U.K.
- Hertog, M. G. L.; Feskeems, E. J. M.; Hollman, C. H.; Katan, M. B. & Kromhout, D. 1993. Dietary antioxidants flavonoids and risk of coronary heart disease. *Lancet*, **342**: 1007-1011.
- Hiramo, T.; Gotoh, M. & Oka, K. 1994. Natural flavonoids and lignans are potent cytostatic agents against

- human leukemia HL-60 cells. *Life Sci.*, **55**: 1061-1069.
- Ivanova, D.; Gerova, D.; Chervenkov, T. & Yankova, T. 2005. *J. Ethnopharmacol.*, **96**: 145-50.
- Karakaya, S. & El, S. N. 1999. Quercetin, luteolin, apigenin and kaempferol contents of some foods. *Food Chem.*, **66**: 289-292.
- Koleva, I. I.; van Beek, T. A.; Linssen, J. P. H.; de Groot, A. & Evstatieva, L. N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem. Anal.*, **13**: 8-17.
- Mabry, T. J.; Markhan, K. R. & Thomas, M. B. 1970. *The systematic Identification of the Flavonoids*, Ed. Springer – Verlag, Berlin, New York.
- Martínez, C.; Yáñez, J.; Rodríguez, J.; Canteras, M.; Alcaraz, M. & Vicente, V. 2001. Inhibición del crecimiento de la línea de melanoma murino B16F10 por diferentes compuestos polifenólicos. *Rev. Esp. Patol.*, **34** (4): 317-324.
- Mc Laughlin, J. L.; Chang, C. J. & Smith, D. L. 1991. Branch-Top bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update, en *Studies in natural products chemistry*, **9**: 383-409.
- Miller, A. B.; Berrino, F.; Hill, M.; Pietimen, P.; Riboli, E. & Wahrendorf, J. 1994. Diet and the actiology of cancer: a review. *Eur. J. Cancer*, **30A**: 207-220.
- Moore. D. M. 1983. *Flora of Tierra del Fuego*. Anthony Nelson.
- Park, H.-J. & Cha, H.-Ch. 2003. Flavonoids from Leaves and Exocarps of the Grape Kyoho. *Korean J. Biol. Sci.*, **7**: 327-330.
- Pathak, D.; Pathak, K. & Singla, A. K. 1991. Flavonoids as medicinal agents. Recent advances. *Fitoterapia*, **62** (5): 371-389.
- Rousseaux, M. C.; Scopel, A. L.; Searles, P. S.; Caldwell, M. M.; Sala, O. E. & Ballaré, C. L. 2001. Responses to solar ultraviolet-B radiation in a shrub-dominated natural ecosystem of Tierra del Fuego (southern Argentina). *Global Change Biology*, **7** (4): 467.
- Soleas, G. J.; Diamandis, E. P. & Goldberg, D. M. 1997. Wine as a biological fluid: history, production and role in disease prevention. *J. Clin. Lab. Anal.*, **11**: 287-313.
- Soleas, G. J.; Grass, L.; David Josephy, P.; Goldberg, D. M. & Diamandis, E. P. 2002. A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. *Clin. Biochem.*, **35**: 119-124.
- Vera, J. C. 1993-94. Uso alimentario de Recursos Vegetales entre cazadores recolectores de Bahía Laredo, Cabo Negro (Magallanes). *Anales del Inst. de la Patagonia. Univ. de Magallanes. Serie Ciencias Humanas*, **22**: 155-168.
- Yin, F.; Giuliano, A. E. & Van Herle, A. J. 1999. Growth inhibitory effects of flavonoids in human thyroid cancer cell lines. *Thyroid*, **4**: 369-376.
- Yoshida, M.; Sakai, T.; Hosokawa, N. & col. 1990. The effect of quercetin on cell-cycle progression and growth of human gastric cancer cells. *FEBS Lett.*, **260**: 10-13.

**ESTUDIOS QUÍMICOS Y BIOACTIVIDAD DE *SCYTOSIPHON LOMENTARIA*
(SCYTOSIPHONACEAE), UN ALGA PARDA DE LAS COSTAS PATAGÓNICAS
ARGENTINAS.**

**Chemical studies and bioactivity of *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonaceae), a
brown seaweed of the argentinean patagonic shores.**

Becerra Mónica B.¹, Pinto Vitorino Graciela², Uhrich Analía V.³, Ponce Nora M.A.^{1,5},
Córdoba Osvaldo L.⁴, Stortz Carlos A.⁵, Flores María L.¹

¹Farmacognosia, ²Química Medicinal, ³Farmacología II y ⁴Química Biológica II, Facultad de Ciencias Naturales – CRIDECIT, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Km 4, 9000, Comodoro Rivadavia, Chubut. ⁵Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – CIHIDECAR, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Pabellón 2, 1428, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. E-mail: fargnosi@unpata.edu.ar

RESUMEN

Scytosiphon lomentaria (Lyngbye) (J. Agardh) Link (Scytosiphonaceae), un alga parda presente en las costas del Golfo San Jorge, fue colectada en verano en Playa Bonita (45° 59' S, 67° 35' W) a 40 km al sur de Comodoro Rivadavia. Los extractos alcohólicos presentaron un bajo contenido de hidratos de carbono (3 %), siendo el manitol el principal componente. Además contenían fenoles. Los productos extraídos con cloruro de calcio y con ácido clorhídrico resultaron enriquecidos en hidratos de carbono que por hidrólisis dieron principalmente fucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y manosa. El producto extraído en medio ácido y fraccionado mediante cromatografía de permeación por geles, mostró una composición compleja de hidratos de carbono, destacándose las fracciones neutras. Los grupos de lípidos predominantes fueron fosfatidilcolina y monogalactosildiacilglicéridos, además de lípidos neutros. La proporción de ácidos urónicos fue baja. Todos los extractos fueron citotóxicos frente a la *Artemia salina* (LC₅₀ <100 µg/ml) y los extractos alcohólicos mostraron además actividad frente a *S. aureus*.

Palabras clave: *Scytosiphon lomentaria*, Phaeophyta, ficoquímica, hidratos de carbono, bioactividad, Patagonia Argentina.

ABSTRACT

Scytosiphon lomentaria (Lyngbye) (J. Agardh) Link (Scytosiphonaceae), brown seaweed from the shores of San Jorge Gulf, was collected in summer at Playa Bonita (45° 59' S, 67° 35' W) 40 km south of Comodoro Rivadavia. Alcoholic extracts showed a low proportion of carbohydrates (3 %), with mannitol as the main component; phenols were also present. The products extracted with calcium chloride and hydrochloric acid were rich in carbohydrates which, after hydrolysis yielded fucose, galactose, rhamnose, xylose and mannose. The product extracted with hydrochloric acid and size exclusion chromatography shows a complex composition of carbohydrates, being neutral fractions the most important. Predominant lipids were phosphatidylcholine and monogalactosyldiacylglycerides; neutral lipids were present. Uronic acid content was negligible. All the extracts were cytotoxic against *Artemia salina* (LC₅₀ <100 µg/ml), whereas ethanolic fractions showed activity against *S. aureus*.

Keywords: *Scytosiphon lomentaria*, Phaeophyta, phycochemistry, carbohydrates, bioactivity, Argentinean Patagonia.

INTRODUCCION

Las algas pardas biosintetizan diferentes tipos de hidratos de carbono (fundamentalmente manitol, laminaranos, fucoidanos y ácido alginico) y otros metabolitos (taninos, carotenos, esteroides y ácidos grasos), siendo todos ellos importantes para la industria farmacéutica, química y relacionadas.

Estudios efectuados respecto de la actividad biológica de extractos de especies de esta división han demostrado importante actividad antibacteriana, citotóxica, antiviral, anticoagulante y antioxidante (Ferrario y Sar, 1997).

Los polisacáridos de las algas pardas evidencian un potencial importante de aplicación farmacológica. En particular los fucoidanos de *Adenocystis utricularis*, otra especie de alga parda de las costas patagónicas en investigación en nuestros laboratorios, han demostrado una

importante actividad frente a los virus Herpes Simplex tipos 1 y 2 con un alto índice de selectividad (Ponce *et al.*, 2003). Chevotot *et al.* (1999) describieron la estructura y actividad anticoagulante de fucoidanos de bajo peso molecular obtenidos de *Ascophyllum nodosum*.

El ácido alginico y sus sales han sido utilizadas en farmacología desde hace muchas décadas. Como sal de sodio fue introducido en la US Pharmacopoeia hacia 1938 y como ácido alginico fue codificado en el British Pharmaceutical Codex en 1963. El alginato de sodio es ampliamente utilizado como estabilizante, en la producción de suspensiones y emulsiones, como espesante y gelificante. En la industria cosmética, se utiliza ampliamente en la preparación de cremas, detergentes y geles para el cabello.

Por otra parte el ácido algínico y sus derivados han demostrado propiedades farmacológicas importantes. Khotimchenko *et al.* (2001) presentaron una revisión acerca de la aplicación del alginato, destacando propiedades de estos polisacáridos tales como actividad antimicrobiana, protectora de la mucosa gástrica, protectora de la piel contra radiaciones solares nocivas. Estudios *in vitro* demostraron que algunas preparaciones con alginato de calcio promueven la proliferación celular y la migración y el desarrollo de queratinocitos, favoreciendo la curación de heridas y la regeneración de la piel (Doyle *et al.*, 1996; Kawada *et al.*, 1997). Wang *et al.* (1992) describieron los efectos antihipertensivos de oligómeros derivados de alginato modificado.

Por otra parte, los taninos de algas pardas corresponden fundamentalmente al tipo de florotaninos, los que juegan diversos roles en las algas, muchos de los cuales se relacionan con actividades biológicas tales como bactericida, fungicida, antioxidante y antineoplásica (www.webs.ulpgc.es).

Scytosiphon lomentaria (Lyngbye) (J. Agardh) Link es un alga parda de la familia Scytosiphonaceae, anatómicamente formada por talos cilíndricos, tubulares, no ramificados de distintas tonalidades pardas. Miden más de 25 cm de largo, alrededor de 4-6 mm de diámetro y son aguzadas hacia el ápice (Hoffmann y Santelices, 1997). Habita zonas de mareas, pozas litorales o ambientes sumergidos en áreas de agua calma. En nuestras costas está presente fundamentalmente en verano, en las restantes estaciones se la suele encontrar en algunas playas, pero en cantidades exiguas.

Esta especie es utilizada para el consumo humano en distintos países, entre ellos en Estados Unidos, en donde su utilización se halla legislada (www.webs.ulpgc.es). Respecto de su importancia en farmacia, se le han atribuido propiedades antioxidantes (Flores-Moya *et al.*, 2002; Ahn *et al.*, 2004; Kuda, *et al.*, 2005a; Kuda *et al.*, 2005b), antineoplásica con actividad frente al carcinoma de Ehrlich (Mayer y Panick, 1984; Acorinti, 1987; Noda *et al.*, 1990), antileucemia linfocítica murina (Mayer y Panick, 1984; Acorinti, 1987) y se ha descrito su uso como vasodilatador coronario (Tseng y Chang, 1984; Boraso de Zaixso, 1997). En los estudios mencionados los ejemplares procedían de las costas de Malasia, Japón y Korea.

En el marco de la investigación de especies que habitan las costas patagónicas argentinas, particularmente la zona del Golfo San Jorge y con el objetivo de buscar algas promisorias para la industria farmacéutica y relacionadas, una de las algas seleccionadas fue *Scytosiphon lomentaria*. En este trabajo se presentan los resultados del análisis químico general y un estudio preliminar de extractos enriquecidos en hidratos de carbono. Además se describen los resultados alcanzados en distintos estudios de actividad biológica efectuados sobre los principales extractos.

MATERIALES Y METODOS

Los ejemplares de *S. lomentaria* fueron colectados en las costas del Golfo San Jorge, en Playa Bonita (45° 59' S, 67° 35' W) situada a 40 km al sur de Comodoro Rivadavia, en el período estival. Se dejaron escurrir al aire libre durante 2 h y a continuación se secaron

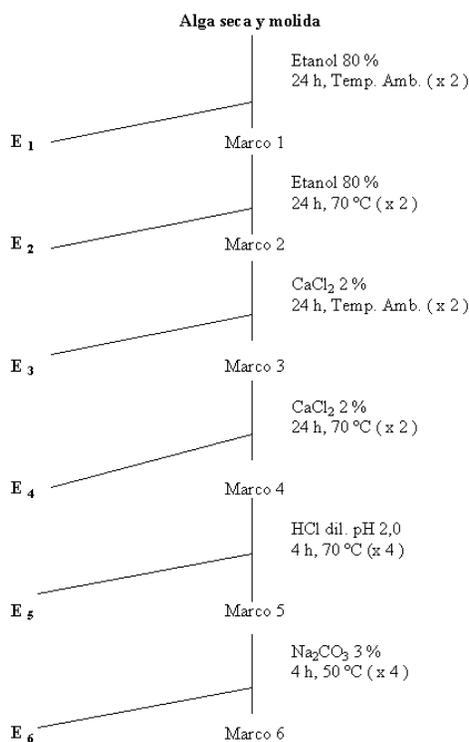
bajo techo al abrigo de la luz y a temperatura ambiente. Los ejemplares secos fueron molidos en un molinillo de paletas provisto de tamiz de malla 20; el material tamizado fue conservado hasta su utilización en recipientes de cierre perfecto, al abrigo de la luz y la humedad, a temperatura ambiente.

Extracción y fraccionamiento

Una parte del material molido se extrajo exhaustivamente según la secuencia propuesta por Mian y Percival (1973)

con modificaciones tal como se presenta en la **Figura 1**. Los extractos procedentes de las extracciones con alcohol (**E₁** y **E₂**) fueron llevados a seco a presión reducida. Los obtenidos con cloruro de calcio a temperatura ambiente y con calor (**E₃** y **E₄**), ácido clorhídrico (**E₅**) y carbonato de sodio (**E₆**) fueron dializados en sistema abierto contra agua corriente durante 4 días y 24 h más en sistema cerrado contra agua destilada. Por último todos los extractos acuosos fueron liofilizados.

Figura 1: Secuencia extractiva de *Scytosiphon lomentaria*.



Una porción de cada uno de los extractos alcohólicos (E_1 y E_2), fue fraccionada mediante tratamiento con HCl al 1 % y calor, seguido de cambios de pH del material soluble en medio ácido. De esta forma se obtuvieron 4 nuevas fracciones a partir de cada extracto alcohólico: FA (sin tratamiento ácido) y FB, FC, FD (obtenidas tras el tratamiento ácido en cada caso). La Figura 2 muestra

la secuencia de trabajo utilizada (Rondina y Coussio, 1969).

El extracto de ácido clorhídrico (E_5) fue fraccionado en una columna convencional de laboratorio, utilizando un sistema cromatográfico constituido de una FE formada por DEAE Sephadex-A50 diluido con Sephadex G-100 y como FM una solución de NaCl con un gradiente de concentración de 0 a 4 M (Figura 3).

Figura 2: Fraccionamiento de los extractos de *Scytosiphon lomentaria* obtenidos con alcohol.

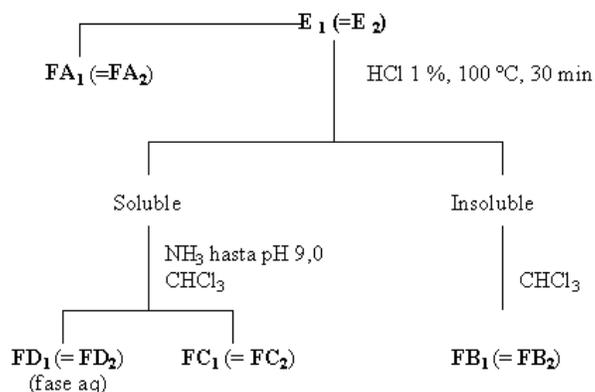
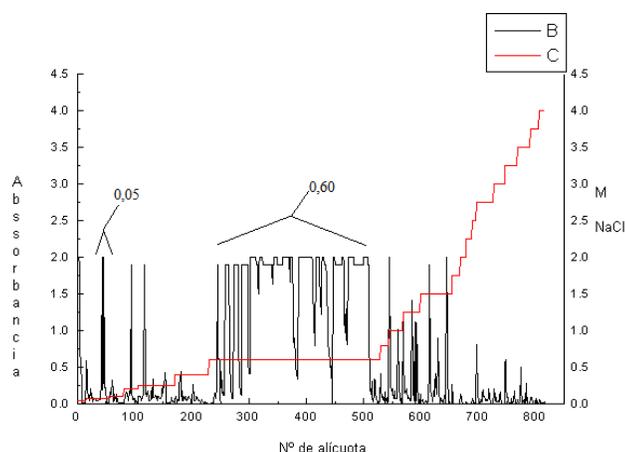


Figura 3. Fraccionamiento del extracto ácido de *Scytosiphon lomentaria* mediante cromatografía de permeación por geles.



Análisis químicos

La determinación cuantitativa de los azúcares totales se realizó siguiendo la técnica del fenol-ácido sulfúrico a 482 y 490 nm (Dubois *et al.*, 1956). Los ácidos urónicos se cuantificaron con *m*-hidroxidifenilo en presencia de sulfamato de amonio a 525 nm, según Filizetti-Cozzi y Carpita (1991). El porcentaje de sulfato total fue estimado por el método turbidimétrico con cloruro de bario, previa hidrólisis con ácido clorhídrico 1 M durante 5 h a 105 °C (Dodgson, 1961; Dodgson y Price, 1962). La cuantificación de las proteínas solubles se realizó según Lowry *et al.* (1951).

El análisis de los monosacáridos componentes se efectuó tras hidrólisis de las muestras con TFA 2 M (121°C, 90 min) y posterior derivatización a los correspondientes aldonitrilos peracetilados, mediante cromatografía gaseosa (CGL) utilizando una columna SP-2330

(Turner y Cherniak, 1981). Algunos productos hidrolizados sin derivatizar, fueron analizados además mediante cromatografía líquida de alta resolución de intercambio aniónico con detección amperométrica (HPAEC-PAD), utilizando una columna CarboPak PA100 y NaOH 200 mM como fase móvil (Flores, 2000).

Las fracciones obtenidas a partir de los extractos alcohólicos (Figura 2) fueron analizadas cualitativamente mediante reacciones usuales de grupos químicos según Rondina y Coussio (1969).

El análisis de los lípidos y pigmentos se efectuó mediante la determinación de perfiles cromatográficos, por comparación con sustancia patrón y bibliografía.

1- Sistema cromatográfico utilizado para lípidos (Hellebust y Craigie, 1978): Cromatofolio de 10 cm de alto.

Fase estacionaria: sílicagel G60, previamente activada en estufa a 110 °C por 10

min y saturada con una solución acuosa de sulfato de amonio al 2 %.

Fase móvil: $(\text{CH}_2)_3\text{CO} - \text{C}_6\text{H}_6 - \text{H}_2\text{O}$ (91:30:8).

Sustancia patrón: ácido palmítico en etanol.

Muestra: alícuota del extracto a analizar previamente llevada a seco a presión reducida y retomada con etanol.

Procedimiento: el cromatofolio previamente activado, se saturó con la solución acuosa de sulfato de amonio al 2 %. Se dejó secar y se realizó la siembra de la Muestra y de la Sustancia patrón. Se desarrolló la cromatografía con la fase móvil, se retiró el cromatograma y se dejó secar a temperatura ambiente.

Procedimiento: el cromatofolio previamente activado, se saturó con la solución acuosa de sulfato de amonio al 2 %. Se dejó secar y se realizó la siembra de la Muestra y de la Sustancia patrón. Se desarrolló la cromatografía con la fase móvil, se retiró el cromatograma y se dejó secar a temperatura ambiente.

Revelado: se efectuó con luz natural, UV y con vapores de yodo, en ese orden.

2- Pigmentos. Se procedió según Harborne (1991).

2.1- Sistema cromatográfico 1 (para Clorofilas y Carotenoides):

Cromatofolio de 10 cm de alto.

Fase estacionaria: papel Whatman 3MN.

Fase móvil: éter de petróleo - $(\text{CH}_2)_3\text{CO} - \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (90:10:0,45).

Marcador positivo: extracto acetónico de zanahoria, preparado a partir de aproximadamente 4 g de material vegetal triturados en mortero y extraídos con 2 ml de acetona, con agitación constante, por 20 min a temperatura ambiente, en oscuridad y posterior filtrado.

Muestra: alícuota del extracto alcohólico obtenido a temperatura ambiente (E_1),

previamente llevada a seco a presión reducida y retomada con 1 ml de acetona.

Procedimiento: se sembraron la Muestra y el marcador positivo y se efectuó el desarrollo ascendente con la Fase móvil. Finalizada la cromatografía, se retiró el cromatograma y se dejó secar a temperatura ambiente.

Revelado: se reveló con luz natural y UV, en ese orden.

2.2- Sistema cromatográfico 2 (para Clorofilas y Carotenoides):

Cromatofolio de 10 cm de alto.

Fase estacionaria: papel Whatman N° 1.

Fase móvil: $(\text{CH}_2)_3\text{CO} - \text{H}_2\text{O}$ (9:1).

Marcador positivo: extracto acetónico de zanahoria, preparado como se indicó en el Sistema cromatográfico 1 de pigmentos.

Muestra: preparada como se indicó en el Sistema cromatográfico 1 de pigmentos.

Procedimiento: se sembraron la Muestra y el marcador positivo y se efectuó el desarrollo ascendente con la Fase móvil. Finalizada la cromatografía, se retiró el cromatograma y se dejó secar a temperatura ambiente.

Revelado: se reveló con luz natural y UV, en ese orden.

2.3- Sistema cromatográfico 3 (para Xantofilas):

Cromatofolio de 10 cm de alto.

Fase estacionaria: sílicagel G60, previamente activada en estufa a 110 °C por 10 min.

Fase móvil: $\text{CH}_2\text{Cl}_2 - \text{H}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ (4:1).

Marcador positivo: extracto acetónico de zanahoria, preparado como se indicó en el Sistema cromatográfico 1 de pigmentos.

Muestra: alícuota del extracto alcohólico obtenido a temperatura ambiente (E_1), previamente llevada a seco a presión reducida y retomada con 1 ml de acetona.

Procedimiento: se sembraron la Muestra y el marcador positivo y se efectuó el desarrollo ascendente con la Fase móvil. Finalizada la cromatografía, se retiró el cromatograma y se dejó secar a temperatura ambiente.

Revelado: se reveló con luz natural y UV, en ese orden.

Estudios de biactividad

Los extractos obtenidos mediante la secuencia presentada en la **Figura 1**, se sometieron al bioensayo monitor de la *Artemia salina* (BST) a fin de determinar la citotoxicidad primaria, siguiendo la técnica de McLaughlin *et al.* (1993). El cálculo de la concentración del extracto que provoca la muerte del 50 % de los nauplios (LC_{50}) y su intervalo de confianza del 95 %, se efectuó por el método estadístico descrito por Finney (1978).

De acuerdo a los resultados de citotoxicidad obtenidos, para todos los extractos que evidenciaron una $LC_{50} < 100$ $\mu\text{g/ml}$ se analizó un posible mecanismo de acción mediante el ensayo colorimétrico de intercalación en el ADN, utilizando el reactivo MethylGreen-ADN (MG-ADN, Sigma), Clorhidrato de Doxorubicina de concentración 30 $\mu\text{g/ml}$ como control positivo (Burres *et al.*, 1992; Mongelli *et al.*, 1997) y las muestras en concentraciones finales de 1000, 100 y 10 $\mu\text{g/ml}$ en etanol absoluto.

La actividad antibacteriana se evaluó mediante la técnica de difusión en ágar (Martínez Guerra *et al.*, 2000) utilizando cepas tipificadas de *S. coli* (ATCC 25922), *E. faecalis* (ATCC 29212), *S. aureus* (ATCC 29213) y *P. aeruginosa* (ATCC 27853). Como control positivo se usó una solución de Estreptomina y como control negativo, alcohol de 70°. Las muestras fueron evaluadas en una concentración de 250 $\mu\text{g/ml}$.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la **Figura 1** se muestra el procedimiento utilizado para la extracción de los componentes de *Scytosiphon lomentaria* procedente de las costas del Golfo San Jorge. Estudios previos mostraron que el tratamiento con formaldehído descrito por Mian y Percival (1973), daba lugar a bajos rendimientos de las extracciones con alcohol (3,1 y 4,9 %, para los extractos alcohólicos a temperatura ambiente y a 70 °C, respectivamente). Sin embargo no mostraron diferencias en los análisis generales (com. pers. M. L. Flores), por lo que se redujo la secuencia extractiva al procedimiento mostrado en la Figura 1.

El rendimiento de los productos obtenidos con alcohol resultó importante en este caso (**Tabla I**). Una particularidad de estos extractos fue el fuerte aroma (estéptico) que ambos desprendían.

Los extractos alcohólicos (E_1 y E_2) presentaron un bajo contenido de hidratos de carbono (3 %), siendo el manitol el principal componente (Tablas I y II). La coloración amarilla característica obtenida mediante la aplicación de la reacción cualitativa con cloruro férrico, reveló que ambos extractos contenían una importante proporción de sustancias de naturaleza fenólica, probablemente sin la presencia de oxhidrilos libres adyacentes. Entre tales sustancias resultó destacable la presencia de taninos, caracterizados con las reacciones de precipitación con dicromato de potasio y con soluciones de gelatina al efectuar el screening químico mostrado en la Figura 2. Diversos autores (Carvalho y Roque, 2000; Yoshie *et al.*, 2002; Pohnert y Boland, 2002; Glombitza y Pauli, 2003) han indicado la existencia de distintas sustancias fenólicas altamente astringentes características en algas pardas, entre ellas en *S. lomentaria*,

por lo que podría atribuirse el aroma mencionado anteriormente a la presencia en cantidad importante de taninos y otros fenoles.

Los extractos alcohólicos además originaron 6,5 y 3,9 % de cenizas, respectivamente

Tabla I. Análisis químico general y rendimiento de los productos obtenidos tras la aplicación de la secuencia de extracción presentada en la Figura 1. (Referencias: E₁ y E₂, extractos de alcohol a temperatura ambiente y a 70 °C; E₃ y E₄, extractos de cloruro de calcio; E₅, extracto de ácido clorhídrico; E₆, extracto de carbonato de sodio).

Fracción	Rendimiento (%)	H. de carbono (%)	Proteínas (%)	Ac. urónicos (%)	Sulfato (% SO ₄ ⁻²)
E ₁	16,5	1	14	<1	<1
E ₂	17,7	3	11	<1	2
E ₃	3,4	13	10	1	3
E ₄	5,1	18	24	6	2
E ₅	16,4	74	16	13	13
E ₆	<3	37	-	15	2

Tabla II. Análisis de los azúcares componentes de los productos extraídos de *Scytosiphon lomentaria*. (Referencias: E₁ - E₅, ver Tabla I; tr, trazas, cuando las cantidades fueron inferiores al 0,5 %).

Fracción	Monosacáridos (moles %)							
	Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Glc	Gal	Manitol
E ₁	-	-	1	-	-	tr	1	98
E ₂	-	4	2	-	-	-	2	91
E ₃	4	63	tr	7	6	2	17	-
E ₄	12	59	tr	-	9	1	18	-
E ₅	10	37	2	18	17	1	15	-

Al progresar las extracciones aumentó el contenido de hidratos de carbono en los productos, destacándose el obtenido con ácido clorhídrico (E₅, Tabla I).

Las proteínas fueron mayoritarias en el extracto de cloruro de calcio en caliente (E₄), si bien otros productos también contenían estos metabolitos como puede observarse en la Tabla I.

Los ácidos urónicos predominaron, como era de esperar, en el extracto de carbonato de sodio (E₆), si bien el extracto ácido también mostró una importante proporción de ellos (Tabla I). Por otra parte, el rendimiento para la extracción con carbonato de sodio (E₆) fue bajo, no superando el 3 % (Tabla I). Estos resultados sugieren que el contenido de alginato de esta especie, al menos en la que habita nuestras costas durante la época estival, no es elevado. Percival y McDowell (1967) informaron que el contenido de ácido algínico de las algas pardas puede variar entre 1 y 40 %, calculado sobre el peso del alga seca. El contenido de sulfato resultó semejante en los extractos, excepto para E₅ donde fue marcadamente superior, tal como se aprecia en la **Tabla I**.

Los principales monosacáridos componentes de los extractos no alcohólicos fueron fucosa, galactosa y ramnosa, además de manosa y xilosa en E₅ (**Tabla II**).

Si bien la glucosa también fue detectada, la cantidad resultó muy baja, lo que podría indicar que, a diferencia de otros géneros de algas pardas (Abdel-Fattah y Hussein, 1970), *S. lomentaria* no biosintetiza laminaranos en proporciones importantes, al menos en el período estival.

Los extractos de cloruro de calcio (E₃ y E₄) y de ácido clorhídrico (E₅) resultaron enriquecidos en fucosa, acompañada de restos de galactosa en cantidades similares en los tres productos, sugiriendo la presencia de fucoidanos en el sistema de polisacáridos de esta especie (**Tabla II**). Otros géneros de algas pardas han mostrado la presencia de xilosa en diversos extractos (Magdel-Din Hussein, 1975); en *S. lomentaria* este azúcar solo fue encontrado en los productos de cloruro de calcio a temperatura ambiente (E₃) y de ácido clorhídrico (E₅, **Tabla II**). Respecto de los grupos de lípidos, *S. lomentaria* demostró la presencia de fosfatidilcolina (PC) y monogalactosildiacilglicéridos (MGDG), además de lípidos neutros (**Tabla III**). La PC ha sido utilizada como marcador quimiotaxonómico, diferenciando a las algas pardas en un grupo que contiene este fosfolípido y otro grupo que no. Así, las Scytosiphonales y Laminariales pertenecen al primer grupo, mientras que por ejemplo las Fucales no lo evidencian, al menos en proporciones importantes (Vaskovsky *et al.*, 1996). Nuestros resultados coinciden con lo descrito, situando a *S. lomentaria* de las costas del Golfo San Jorge en el grupo de aquellas especies de algas pardas que biosintetizan fosfatidilcolina.

Por otra parte, se detectó la presencia de ácido palmítico en el extracto alcohólico analizado. A ello se suma el MGDG también evidenciado en el producto. Estos resultados coinciden con lo publicado para distintas algas pardas, en donde se describe al ácido palmítico como uno de los componentes de los MGDG biosintetizados.

Tabla III. Grupos de lípidos detectados mediante cromatografía monodimensional en el extracto alcohólico obtenido a temperatura ambiente (E₁) de *S. lomentaria*.

Lípidos	<i>S. lomentaria</i> (E ₁)
fosfatidilcolina	+
fosfatidiletanolamina	-
sulfolípidos	-
digalactosil	-
diacilglicérido	
glicósido de esteroles	-
fosfatidilglicerol	-
monogalactosil	+
diacilglicérido	
pigmentos y lípidos neutros	+
ácido fosfatídico	-
fosfatidilserina	-

Fue posible detectar ββ-caroteno, clorofila *a* y fucoxantina. La fucoxantina es el pigmento característico de las algas pardas. Desde el punto de vista de la importancia de este metabolito en Salud, ha sido descrito por su actividad en el cáncer de colon, una de las neoplasias más difíciles de tratar (Hosokawa, 2004), en leucemia y otras patologías de alto riesgo (Nishino, 1995).

Los estudios de bioactividad primaria de los principales extractos resultaron promisorios. Mediante el Test de *Artemia salina* (BST), los extractos alcohólicos, los de cloruro de calcio y el extracto ácido (E₁ - E₅) evidenciaron una citotoxicidad importante (Tabla IV).

Teniendo en cuenta tales resultados, se efectuó un ensayo específico que permite analizar uno de los posibles mecanismos de la acción citotóxica. Para ello se realizó el estudio de intercalación en el ADN mediante el ensayo colorimétrico del MG-

ADN. En todos los casos se obtuvieron resultados negativos, lo que sugiere que este mecanismo no sería el responsable de la toxicidad celular demostrada por los productos extraídos de *S. lomentaria*.

Además se analizó la actividad antibacteriana frente a las cepas indicadas en Materiales y Métodos. Ambos extractos alcohólicos fueron moderadamente activos frente a *S. aureus*, (Tabla IV). Los productos restantes resultaron negativos frente a todas las cepas incluidas en el ensayo. Otros investigadores informaron ausencia de actividad antibacteriana para la especie colectada en otoño, en Islas Blancas, Chubut, Argentina (Espeche *et al.*, 1984).

Estudios aún no publicados efectuados en colaboración con el grupo de investigación de la Dra. E. Damonte (FCEN, UBA), mostraron una actividad antiviral importante de los extractos de

cloruro de calcio frente a los virus Herpes Simplex tipos I y II. No ocurrió lo mismo con los alcohólicos, los que resultaron negativos.

Todo ello evidencia una selectividad interesante en la actividad biológica de los distintos productos biosintetizados por *S. lomentaria* colectada en verano, destacándose la actividad antibacteriana frente a *S. aureus* de los productos obtenidos con alcohol, la citotoxicidad de todos los productos y la actividad antiviral de los extractos enriquecidos de hidratos de carbono.

Teniendo en cuenta los resultados químicos generales y con el objetivo de

profundizar el conocimiento de los polisacáridos constituyentes, se efectuó un fraccionamiento del extracto de HCl mediante cromatografía en columna sobre geles, eluyendo con concentraciones crecientes de NaCl (0-4 M).

El fraccionamiento utilizado evidenció un complejo perfil (**Figura 3**). El análisis general de las dos fracciones mayoritarias, que fueron las eluidas con 0,05 y 0,6 M de NaCl, mostró rendimientos del 37 y 59 %, respectivamente (**Tabla V**). Otras fracciones obtenidas no superaron el 1 % de rendimiento.

Tabla IV. Actividad biológica de los principales extractos de *S. lomentaria*. (Referencias: E₁ - E₅, ver Tabla I).

Fracción	BST (LC ₅₀ µg/ml)	MG-ADN	ATB
E ₁	12	-	+(S. a.)
E ₂	79	-	+(S. a.)
E ₃	2	-	-
E ₄	30	-	-
E ₅	<1	-	-

Tabla V. Análisis químico general y rendimiento del extracto ácido (E₅) eluido con NaCl 0,05 M y 0,60 M.

Fracción	Rendimiento (%)	H. de carbono (%)	Acidos urónicos (%)	Sulfato (% SO ₄ ⁻²)
E _{0,05 M}	37,0	21,3	2,3	5,3
E _{0,60 M}	59,0	36,0	3,0	5,2

Las primeras fracciones contenían principalmente glucosa con restos de otros monosacáridos. A medida que progresaba el aumento de la concentración salina del eluyente, comenzaba a aumentar la proporción de fucosa merced a una disminución de la glucosa. Estos resultados guardaron relación con el alto rendimiento obtenido para las primeras fracciones (de menor carga) y la baja proporción de aquellas más cargadas (Tabla VI).

Mediante cromatografía líquida de alta resolución de intercambio aniónico y detección amperométrica (HPAEC-PAD), se analizaron algunas fracciones minoritarias (además de la obtenida con alto rendimiento mediante NaCl 0,05 M). En la **Tabla VII** se observa una alta proporción de galactosa en aquella separada con 0,08 M de NaCl. Otra fracción eluida con idéntica concentración de la sal, resultó enriquecida en galactosamina.

Tabla VI. Análisis de los azúcares componentes de las principales fracciones obtenidas mediante cromatografía de permeación por geles a partir del extracto de HCl (E_5) de *S. lomentaria*.

Fracción	Monosacáridos (moles %)						
	Ram	Fuc	Ara	Xil	Man	Glc	Gal
E 0,05 M	0,4	2,3	0,8	1,4	1,1	93,7	0,3
E 0,60 M	0,1	0,1	0,6	-	-	99,2	-
E 1,00 M	6,5	12,5	-	3,9	3,8	71,6	1,7
E 1,50 M	4,8	15,4	-	3,7	3,7	71,3	1,1

Tabla VII. Azúcares componentes de algunas fracciones obtenidas mediante cromatografía de permeación por geles a partir del extracto de HCl (E_5) de *S. lomentaria* analizadas mediante HPAEC-PAD.

Fracción	Monosacáridos (moles %)					
	Ram	Fuc	Gal	Glc	Man	GalN
E 0,05 M	0,5	1,0	9,5	74,0	15,0	-
E 0,08/8 M	-	6,1	93,9	-	-	-
E 0,08/9 M	18,4	-	23,6	-	-	58,0

CONCLUSIONES

Scytosiphon lomentaria procedente de las costas del Golfo San Jorge y de crecimiento estival, evidenció la presencia de polifenoles, hidratos de carbono y proteínas como grupos distintivos.

El etanol permitió la extracción de polifenoles y manitol. Entre los primeros se destacaron los taninos, confiriéndole una fuerte astringencia y olor característico "estíptico" a los productos.

Con el progreso de las extracciones aumentó el contenido de azúcares en los productos, principalmente en el obtenido con ácido clorhídrico. Este producto también presentó un rendimiento importante.

Las proteínas fueron mayoritarias en el extracto de cloruro de calcio en caliente y los ácidos urónicos predominaron en el extracto de carbonato de sodio, solvente que permite solubilizar el ácido algínico en forma de sal de sodio. No obstante, el extracto ácido también mostró una importante proporción de ellos, probablemente tratándose en este caso de unidades monoméricas de dicho polisacárido.

Los principales monosacáridos componentes de los extractos no alcohólicos fueron fucosa, galactosa y ramnosa, además de manosa y xilosa en el producto obtenido con ácido clorhídrico. Este último extracto fue purificado mediante cromatografía en columna logrando separar fracciones neutras que evidenciaron complejidad en su constitución.

En cuanto a los principales grupos de lípidos constituyentes, *S. lomentaria* demostró la presencia de fosfatidilcolina (PC) y monogalactosildiacilglicéridos (MGDG), además de lípidos neutros. También se detectó la presencia de ácido

palmítico en el extracto alcohólico analizado. Respecto de los pigmentos, fue posible detectar $\beta\beta$ -caroteno, clorofila *a* y fucoxantina.

Los estudios de actividad biológica de los productos de *S. lomentaria* resultaron alentadores. Todos los extractos mostraron una importante citotoxicidad frente a la *Artemia salina*. Además, aquellos obtenidos con alcohol fueron activos frente a *S. aureus*.

Los resultados alcanzados ponen de manifiesto un complejo perfil biosintético de la especie *S. lomentaria* colectada en verano, a la vez que se constituyen en un estímulo para profundizar los estudios, particularmente de aquellos metabolitos promisorios para su aplicación en Salud.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a los revisores de la Revista *Naturalia Patagonia* por haber mejorado la versión original.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Fattah, A. F. & Hussein, M. M. 1970. Composition of some brown algae as influenced by seasonal variation. *Phytochemistry*, **9**: 721-724.
- Acorinti, J. 1987. *Recursos Marinos. Algas: fuente potencial de nuevos fármacos*. Instituto Antártico Argentino. Publicación Nro 18.
- Ahn, C.; Jeon, Y.; Kang, D.; Shin, T. & Jung, B. 2004. Free radical scavenging activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Scytosiphon lomentaria* by electron spin resonance

- spectrometry. *Food Res. Int.*, **37**: 253-258.
- Boraso de Zaixso, A. L. 1997. Utilización de las algas marinas. En M. Ferrario & E. Sar (ed.), *Macroalgas de interés económico: Cultivo, Manejo, Industrialización*. Editorial de la UNLP, Argentina: 15-55.
- Burres, N.; Frigo, A.; Rasmussen, R. & McAlpine, J. 1992. A colorimetric microassay for the detection of agents. *J. Nat. Prod.*, **55**: 1582-1587.
- Carvalho, L. R. & Roque, N. F. 2000. Fenólos halogenados e/ou sulfatados de macroalgas marinhas. *Química Nova*, **23**: 757-764.
- Chevolot, L.; Foucault, A.; Chaubet, F.; Kervarec, N.; Sinquin, C.; Fisher, A. M. & Boisson-Vidal, C. 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carbohydr. Res.*, **319**: 154-165.
- Dodgson, K. S. 1961. Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters. *Biochem. J.*, **78**: 312-319.
- Dodgson, K. S. & Price, R. G. 1962. A note on the determination of ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochem. J.*, **84**: 106-110.
- Doyle, J. M.; Roth, T. P. & Smith, R. M. 1996. Effect of Calcium Alginate on Cellular Wound Healing Processes Modeled *in vitro*. *J. Biomed. Mater. Res.*, **32** (4): 561-568.
- Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**: 350-356.
- Espeche, M. E.; Frile, E. R. & Mayer, A. M. S. 1984. Screening of Argentine marine algae for antimicrobial activity. *Hydrobiology*, **116/117**: 525-528.
- Ferrario, M. & Sar, E. (ed.) 1997. *Macroalgas de interés económico: Cultivo, Manejo, Industrialización*. Editorial de la UNLP, Argentina, 296 pp.
- Filisetti-Cozzi, T. M. & Carpita, N. C. 1991. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Anal. Biochem.*, **197**: 157-162.
- Finney, D. J. 1978. *Statistical method in biological assay*. 3er Ed. Charles Griffin y Co. Ltd., London, 508 pp.
- Flores, M. L. 2000. Estudio de los polisacáridos de la pared celular del alga roja *Iridaea undulosa* Bory, *Tesis doctoral, FCN, UNPSJB*.
- Flores-Moya, A.; Posudin, Y. I.; Fernández, J. A.; Figueroa, F. L. & Hawaii, H. 2002. Photomovement of the swimmers of the brown algae *Scytosiphon lomentaria* and *Petalonia fascia*: effect of photon irradiance, spectral composition and UV dose. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **66**: 134-140.
- Glombitza, K. W. & Pauli, K. 2003. Fucols and phloretols from the brown alga *Scytothamnus australis* Hook. et Harv. (Chnoosporaceae). *Bot. Mar.*, **46**: 315-320.

- Harborne, J. B. 1991. *Phytochemical Methods*. 2^{da} Ed., Chapman and Hall, 288 pp.
- Hellebust, J. & Craigie, J. 1978. *Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge University Press, 512 pp.
- Hoffman, A. & Santelices, B. 1997. Ed. *Flora Marina de Chile Central*. Ed. UCC, Santiago de Chile, 434 pp.
- Hosokawa, M. 2004. Fucoxanthin induces apoptosis in cancer cell. *Bio Industry*, **1**:52-57.
- Kawada, A.; Hiura, N.; Shiraiwa, M.; Tajima, S.; Hiruma, M.; Hara, K.; Ishibashi, A. & Takahara, H. 1997. Stimulation of human keratinocyte growth by alginate oligosaccharides, a possible cofactor for epidermal growth factor in cell culture. *FEBS Letters*, **408** (1): 43-46.
- Khotimchenko, Y. S.; Kovalev, V. V.; Savchenko, O. V. & Ziganshina, O. A. 2001. Physical-Chemical Properties, Physiological Activity, and Usage of Alginates, the Polysaccharides of Brown Algae. *Russian Journal of Marine Biology*, **27**, Suppl. 1: S53-S64.
- Kuda, T.; Tsunekawa, M.; Goto, H. & Araki, Y. 2005a. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *J. Food Comp. Analysis*, **18**: 625-633.
- Kuda, T.; Tsunekawa, M.; Hishi, T. & Araki, Y. 2005b. Antioxidant properties of dried "kayamo-nori", a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae). *Food Chem.*, **89**: 617-622.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J. N.; Farr, A. L. & Randall, R. J. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275.
- Magdel-Din Hussein, M. 1975. *Phytochemistry*, **14**: 1866.
- Martínez Guerra, M. J.; López Barreiro, M.; Morejón Rodríguez, Z. & Rubalcaba, Y. 2000. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80 % de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). *Revista Cubana Plantas Medicinales*, **5** (1): 23-25.
- Mayer, A. M. & Panick, B. 1984. Antitumor evaluation of marine algae in Argentina. *Hidrobiología*, **116/117**: 529-533.
- McLaughlin, J. L.; Chang, C. J. & Smith, D. L. 1993. Simple bench-top assays (brine shrimp and potato discs) for the discovery of plant antitumor compounds. Review of recent progress. *ACS Symp. Ser.*, **534**: 112-134.
- Mian, J. & Percival, E. 1973. Carbohydrates of the brown seaweeds *Himanthalia lorea*, *Bifurcaria bifurcata*, and *Padina pavonia*. Part I. Extraction and fractionation. *Carbohydr. Res.*, **26**: 133-146.
- Mongelli, E.; Desmarchelier, C.; Rodríguez Talou, J.; Coussio, J. & Ciccía, G. 1997. In vitro antioxidant and cytotoxic activity of extracts of *Baccharis coridifolia* DC. *J. Ethnopharmacol.*, **58**: 157-163.
- Nishino, H. 1995. Cancer chemoprevention by natural carotenoids and their related compounds. *J. Cell Biochem. Suppl.* **22**: 231-235.
- Noda, H.; Amano, H.; Arracima, K. & Nisizawa, K. 1990. Antitumor

- activity of marine algae. *Hydrobiology*, **204/205**: 577-584.
- Percival, E. & McDowell, R. H. 1967. Sulphated polysaccharides containing neutral sugars: 2. En *Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides*. Academic Press, New York, USA: 157-174.
- Pohnert, G. & Boland, W. 2002. The oxylipin chemistry of attraction and defense in brown algae and diatoms. *Nat. Prod. Rep.*, **19**: 108-122.
- Ponce, N. M. A.; Pujol, C. A.; Damonte, E. B.; Flores, M. L. & Stortz, C. A. 2003. Fucoidans from the brown seaweed *Adenocystis utricularis*: extraction methods, antiviral activity and structural studies. *Carbohydr. Res.*, **338** (2): 153-165.
- Rondina, R. V. V. & Coussio, J. D. 1989. Estudio fitoquímico de plantas medicinales Argentinas (1). *Revista de Investigaciones Agropecuarias, INTA. Serie 2, Biología y Producción Vegetal*, **6** (22).
- Stortz, C. A. 1997. Polisacáridos de algas pardas: ácido alginico y alginatos. En M. Ferrario & E. Sar (ed.), *Macroalgas de interés económico: Cultivo, Manejo, Industrialización*. Editorial de la UNLP, Argentina: 151-171.
- Tseng, C. K. & Chang, C. F. 1984. Chinese seaweeds in herbal medicine. *Hidrobiología*. **116/117**: 152-155.
- Turner, S. H. & Cherniak, R. 1981. Total characterization of polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydr. Res.*, **95**: 137-144.
- Vaskovsky, V.E.; Khotimchenko, S.V.; Xia, B. & Hefang, L. 1996. Polar lipids and fatty acids of some marine macrophytes from the Yellow Sea. *Phytochemistry*, **42**(5): 1347-1356.
- Wang, C. B.; Liu, S.; Zhang, L. P. & Zhang, X. X. 1992. Effect of PSS on platelet aggregation and thrombosis in rats. *Chinese Journal of Marine Drugs*, **11** (1): 20-22
- www.webs.ulpgc.es, disponible on line.
- Yoshie, Y.; Wang, W.; Hsieh, Y. & Suzuki, T. 2002. Compositional Difference of Phenolic Compounds between Two Seaweeds, *Halimeda* spp. *J. Tokyo University of Fisher.*, **88**: 21-24..

**CONTROLES MICROBIOLÓGICOS EN ÁREAS DE PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS
DE SERVICIOS DE COMIDAS A EMPRESAS.**

Microbiological control of the surfaces in food-services establishments.

Belchior Estevao Silvia, Alvarez Laura, Jodor Nadia.

Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico (CRIDECIT),
Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco,
Ciudad Universitaria Km 4 (9000) Comodoro Rivadavia, Chubut, República Argentina

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar la contaminación microbiológica de superficies animadas e inanimadas en diferentes servicios de comedores para empresas y evaluar, mediante la realización e interpretación de análisis microbiológicos, la eficiencia en la aplicación del proceso de limpieza en ellos. Fueron analizadas muestras de superficies de mesadas (20), cuchillos (20), heladeras (12), piletas (12) e hisopados de manos de manipuladores (20); procedentes de áreas de elaboración de alimentos de 11 comedores en actividad operacional. Se hisoparon las mismas áreas antes y después de aplicar los procedimientos habituales de limpieza. Se determinaron recuentos de aerobios mesófilos (AM), coliformes totales (CT) y la presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. En el 54% de los comedores se registraron recuentos promedios de AM mayores a $\log 2$ UFC/cm², en el resto los valores promedios se mantuvieron por debajo de dicho valor. Las diferencias entre los recuentos promedios de AM y CT de las superficies hisopadas en las áreas de elaboración de alimentos, no revelaron diferencias significativas. Así mismo, los recuentos obtenidos para ambos grupos bacterianos en las muestras, antes y después de la limpieza de cada una, mostraron semejanzas ($p > 0,05$), a excepción de los valores de AM en cuchillos, que fueron significativamente menores después de la limpieza. Se determinó la presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* en el 18%, 45% y 54% de comedores estudiados respectivamente. En este estudio, los procedimientos de limpieza y desinfección aplicados, no resultaron efectivos para reducir significativamente

la carga bacteriana en las superficies analizadas. Por otra parte la presencia de *P. aeruginosa*, después de la limpieza apoya esta observación, resultando un factor de riesgo que podría contribuir a incrementar la probabilidad de transmisión de los microorganismos patógenos.

Palabras clave: Calidad microbiológica, servicios de alimentación, alimentos.

ABSTRACT

The objective of this study was to assess the microbiological contamination of the surfaces of dining and cooking facilities in food-service establishments. We also expected to evaluate the efficacy of cleaning and disinfection process through microbiological analysis. Samples from tables (20), knives (20), refrigerators (12), sinks (12) and hands of cooking personnel (20) were taken for bacteriological analysis. This sampling was performed at 11 establishments that are working at the moment for different enterprises. All samples were taken before and after the usual cleansing procedure. At laboratory, countings of total aerobic mesophilic bacteria (AM) and coliform bacteria (CT) were performed. Also presence of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* was stated. Half of the tested locations (54%) showed high values for AM, more than log 2 cfu/cm², the other remaining 46% had results lower than that number. No meaningful discrepancies were observed for AM and CT when calculating the mean value for results of surface samples. Also countings before and after cleaning and disinfections procedures were similar for most samples, except for knives, which showed values significantly lower after cleaning. Presence of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* was detected at 18%, 45% and 54% respectively of the tested facilities. For our results, the current cleaning and disinfection procedures are not good enough to reduce the bioburden and the finding of *P. aeruginosa* after cleaning, supports this affirmation. This is also a risk factor that can facilitate the transmission of pathogenic microorganisms.

Key words: microbiological control, food-services, food.

INTRODUCCION

La protección de alimentos comprende todas las acciones orientadas a obtener una adecuada provisión de alimentos; inocuos, nutritivos y agradables; con el fin de contribuir a la prevención de enfermedades y a la promoción de la salud de los consumidores (INE, 1996)

Los alimentos son uno de los principales vehículos de microorganismos patógenos para el hombre y/o de sus metabolitos, causando enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). Las ETAs son consideradas un grave problema para la salud pública a escala mundial. Se manifiestan como enfermedades entéricas agudas y constituyen, en el continente americano, la primera causa de muerte en los menores de 5 años y la segunda en la población en general (INE, 1996; SNVS, 2005; WHO, 2007; de Curtis et al., 2000).

Uno de los orígenes principales, de las enfermedades infecciosas transmitidas por alimentos, es la contaminación cruzada de productos listos para el consumo, a través de los utensilios que se emplearon previamente para cortar alimentos crudos contaminados (Mossel y Moreno, 1985). En consecuencia, la higiene de las superficies que entran en contacto con alimentos, es uno de los pilares donde se asientan las buenas prácticas de manufactura. Por ello, es importante el control, no solo de materias primas y de los productos que se elaboran, sino también de instalaciones, equipos, utensilios y estado sanitario del personal manipulador (Arzú et al., 2002; ICMSF, 1980; Mossel y Moreno, 1985).

La falta de progresos en la reducción de la incidencia de las ETAs, podría deberse, entre otros motivos, a

deficiencias en los establecimientos de preparación de comidas para colectividades. En este último caso se requiere una atención especial, en las condiciones higiénico-sanitarias durante la preparación de alimentos, para dar lugar a productos de una calidad microbiológica satisfactoria (de Curtis et al., 2000; ICMSF, 1980; Michanie, 1998; Mossel y Moreno, 1985) Al respecto, no hay normas recomendadas sobre la aptitud de los productos servidos y de prácticas de higiene que deben cumplir los servicios de comedores para empresas (de Curtis et al., 2000).

El objetivo de este trabajo fue analizar la contaminación microbiológica de superficies animadas e inanimadas en diferentes servicios de comedores para empresas y evaluar, mediante la realización e interpretación de análisis microbiológicos, la eficiencia en la aplicación de las prácticas habituales de limpieza en ellos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y procesamiento de las muestras: Se realizaron muestreos para control microbiológico de superficies animadas e inanimadas, con riesgos potenciales de contaminación, en comedores para empresas durante los años 2005 y 2006.

Toma de muestra: Los muestreos se realizaron cubriendo superficies de 100cm² de utensilios, mesadas, equipos y manos de operarios, antes y después de aplicar los procedimientos habituales de limpieza en cada lugar. A fines de comparar los resultados, las muestras fueron tomadas siempre del mismo lugar y por el mismo analista.

Para la toma de muestra se aplicó la técnica de frotación con hisopo de algodón humedecido en caldo peptona al 0.1% (APHA, 1992).

Como las superficies muestreadas podrían contener sustancias antimicrobianas se utilizó, para neutralizar la acción de las mismas, tween 80 o tiosulfato, dependiendo de los productos empleados en la limpieza (D'Aquino y Rezk, 1995).

Transporte y conservación: Los hisopos se transportaron en tubos individuales con 10 ml de la solución diluyente referida y refrigerados a 4°C. Se procesaron antes de las 24 horas de realizado el muestreo.

Procesamiento: En estas muestras se determinaron microorganismos indicadores de contaminación de origen ambiental y humano. La metodología se desarrolló de acuerdo a las normas estandarizadas, con modificaciones (ICMSF, 1982; Farmacopea Argentina, 2002).

Se efectuaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas en agar para recuento en placa y de coliformes totales en agar violeta, rojo, bilis, lactosa. Además, se determinó la presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* según se detalla a continuación:

- *E. coli* se aisló en agar eosina azul de metileno (E.M.B.). La identificación se realizó utilizando las pruebas de producción de enzima ureasa, fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa, producción de sulfhídrico, indol, movilidad, utilización de citrato y producción de acetoina.

- *S. aureus*, se identificó a partir de colonias aisladas, por diseminación en superficie de las muestras, en agar Baird Parker. Se seleccionaron colonias negras brillantes, rodeadas de áreas claras. Se realizó coloración de Gram, test de de catalasa, oxidasa, coagulasa, y producción de ácido a partir de manitol.
- *P. aeruginosa* se aisló en agar cetrimide a partir del homogeneizado de cada muestra. Las cepas se identificaron mediante oxidasa, oxidación-fermentación de glucosa, producción de pigmentos y crecimiento a 42°C.

Para todos los grupos bacterianos, las condiciones de incubación fueron de 48 h a 37 °C, en condiciones aeróbicas.

Los valores de los recuentos se expresaron en UFC/cm² y se transformaron a base logarítmica decimal (log) para el análisis estadístico descriptivo. Además, a fin de determinar la distribución de las bacterias en las superficies analizadas, se aplicó el test de Kruskal-Wallis, para comparar datos no apareados y no paramétricos y el test de Wicoxon, para datos apareados no paramétricos. La probabilidad $p < 0,05$ se consideró significativa (Dawson-Saunders y Trapp, 1994).

RESULTADOS

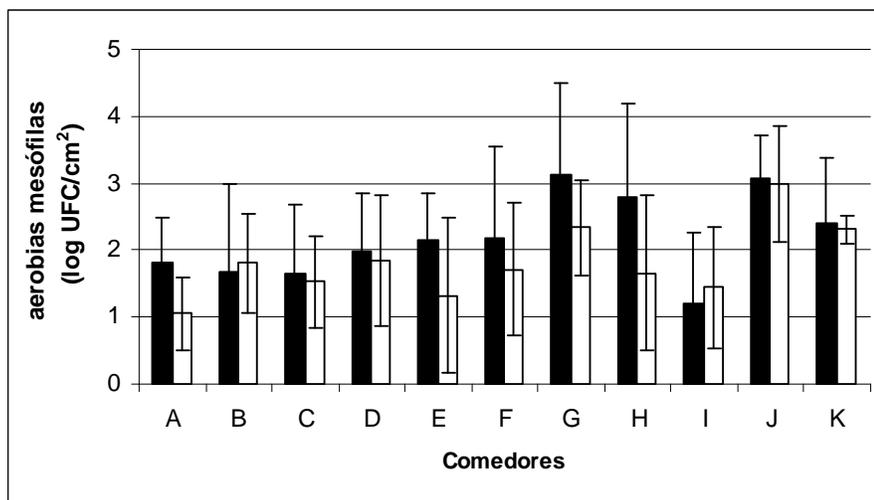
Se analizaron bacteriológicamente superficies de equipos, utensilios y manos de operarios, de áreas de elaboración de alimentos de 11 comedores en actividad operacional. En los mismos se observó, en general, un déficit de infraestructura física, una inadecuada educación sanitaria para manipular higiénicamente

los alimentos y en el 45% de los mismos se empleaban implementos de madera (tablas y cuchillo con cabos de madera).

Se hisoparon mesadas (20), cuchillos (20), heladeras (12), piletas (12)

y manos de manipuladores (20). Las mismas superficies muestreadas antes y después de aplicar los procedimientos de saneamiento.

FIGURA 1: Recuentos promedio de aerobias mesófilas (\pm DE) en los comedores estudiados, antes (■) y después (□) de la aplicación del procedimiento habitual de limpieza.



En el 54% (6/11) de los comedores, previamente a la limpieza de las superficies, se registraron recuentos promedio de AM mayores a $\log 2$ UFC/cm², en el resto los valores promedio se mantuvieron por debajo de dicho valor (Fig. 1). Las mesadas, cuchillos y piletas presentaron la mayor carga bacteriana. La distribución de resultados se detalla en la tabla I.

El análisis estadístico de los recuentos de AM y CT de las superficies animadas e inanimadas, hisopadas previamente a la limpieza, no reveló diferencias significativas. Además, se

encontraron semejanzas ($p > 0,05$) entre los recuentos de ambos grupos bacterianos antes y después de la limpieza de los equipos y utensilios, a excepción de los valores de AM en cuchillos, que fueron significativamente menores después de la limpieza.

En la tabla II se expone la distribución del número de muestras de superficies de equipos y utensilios (expresado en porcentajes), en función de los recuentos de AM y CT, antes y después de los procedimientos de limpieza.

TABLA I: Recuentos promedios de las superficies animadas e inanimadas analizadas.

Grupo Bacteriano	AM log UFC/cm ²				CT log UFC/cm ²			
	Sin limpieza		Con limpieza		Sin limpieza		Con limpieza	
	Prome- dio ±DE	Valor min y max	Prome- dio ±DE	Valor min y max	Prome- dio ±DE	Valor min y max	Prome- dio ±DE	Valor min y max
Mesada N:20	2,40 ± 1,14	0,84 4,25	1,86 ± 1,21	0 4,40	1,44 ±0,86	0,30 3,70	1,44 ± 0,88	1 3,78
Cuchillos N:20	2,48 ± 1,07	1 5	1,91 ±0,91	0,74 3,38	1,20 ±0,52	0 2,48	1,17 ±0,51	0,48 3
Manos N:20	1,97 ± 1,23	0,60 5	1,79 ±0,71	0,70 3,42	1,24 ±0,45	0,30 2,32	1,10 ±0,52	0,30 3,15
Heladera N:12	1,40 ±1,39	0 3,11	1,12 ±0,50	0,60 2,18	0,96 ±0,14	0,48 1	1,09 ±0,29	1 2,00
Pileta N:12	2,29 ±1,40	0 5,11	1,73 ±1,28	0 4	1,75 ±1,26	0,78 5	1,51 ±1,04	0,70 3,70

Referencias: AM, aerobias mesófilas; CT, coliformes totales; DE, desviación estándar; min., valor mínimo; máx., valor máximo; N, número de muestras; log UFC/cm², unidades formadoras de colonias expresado en logaritmo en base 10.

TABLA II: Distribución del número de muestras de superficies inanimadas, en función de los recuentos (expresados en porcentaje).

Log UFC/cm ²	AM		CT	
	Sin limpieza N:64	Con limpieza N:64	Sin limpieza N:64	Con limpieza N:64
< 1	9	16	9	3
≥ 1	38	44	73	85
≥ 2	24	26	11	3
≥ 3	23	9	5	9
≥ 4	6	5	2	0

Referencias: AM, aerobias mesófilas; CT, coliformes totales; N, número de muestras; log UFC/cm², unidades formadoras de colonias expresado en logaritmo en base 10.

Del análisis de los resultados obtenidos surgió que el 37% y el 7% de los valores de AM y CT, respectivamente, disminuyeron en 1 o 2 log luego de la limpieza. Así mismo, el 15% y 10% de las muestras registraron un aumento (de 1 log) de los mismos grupos bacterianos.

En la tabla III se observa la distribución del número de muestras de manos, en función de los recuentos de AM y CT, antes y después de la higiene.

Los recuentos de AM y CT de manos disminuyeron en 1 log en el 15% y 5% de las muestras, respectivamente,

luego del lavado. Comparativamente, en los mismos porcentajes, se determinaron aumentos de 1 log en dichos recuentos, en muestras tomadas posteriormente a la higiene.

En el 18% (2/11) de los comedores se determinó la presencia de *E. coli*, en el 45% (5/11) *S. aureus* y en el 54% (6/11) de los mismos *P. aeruginosa*. La distribución de estas bacterias en las superficies inanimadas se expone en la tabla IV y en las manos de operarios en la tabla V. .

TABLA III: Distribución de muestras de manos (en porcentaje) en función de los recuentos.

Log UFC/cm ²	AM		CT	
	Sin limpieza N:20	Con limpieza N:20	Sin limpieza N:20	Con limpieza N:20
< 1	10	5	5	5
≥ 1	60	50	85	90
≥ 2	15	35	10	0
≥ 3	5	10	0	5
≥ 4	10	0	0	

Referencias: AM, aerobias mesófilas; CT, coliformes totales; N, número de muestras; log UFC/cm², unidades formadores de colonias expresado en logaritmo en base 10.

TABLA IV: Porcentajes de aislamientos en las muestras de superficies inanimadas.

Microorganismo	Mesada		Cuchillo		Heladera		Pileta	
	Sin limpieza N:20	Con limpieza N:20	Sin limpieza N:20	Con limpieza N:20	Sin limpieza N:12	Con limpieza N:12	Sin limpieza N:12	Con limpieza N:12
<i>S. aureus</i> (%)	10	-	15	-	8,3	-	-	-
<i>E. coli</i> (%)	5	-	-	-	-	-	8,3	-
<i>P. aeruginosa</i> (%)	20	20	25	10	-	8,3	8,3	-

Referencias: N, número de muestras; %, porcentaje de muestras positivas.

La contaminación por *P. aeruginosa* de los equipos y utensilios se determinó, tanto en las instancias previas como en las posteriores al saneamiento, en las mismas superficies.

(Tabla V)

Por otra parte fueron notables los aislamientos de *S. aureus* en manipuladores (15 %), que permanecieron luego del lavado de manos.

DISCUSIÓN

Los peligros microbiológicos potenciales y diversos riesgos asociados con el almacenamiento y la preparación de los alimentos en los servicios para colectividades, podrían evitarse con la aplicación de procedimientos sanitarios que impidan que los microorganismos de origen humano lleguen a la comida (de Curtis et al., 2000; Michanie, 1998). Los alimentos contaminados; con microorganismos o sus toxinas, con parásitos, con agentes químicos o residuos de drogas, de hormonas, plaguicidas o con tóxicos naturales presentes en ellos; generan problemas

sanitarios de consecuencias significativas (WHO, 2007).

Las ETAs son las principales responsables de pérdidas en la productividad de los países, a nivel mundial. Principalmente, cuando las industrias adoptan servicios de elaboración masiva de alimentos, que presentan un mayor riesgo de contaminación de los mismos. El consumo de productos alterados conlleva a problemas de salud pública con un impacto socioeconómico significativo, ya que la actividad laboral puede verse reducida si se presentara un brote de ETAs (INE, 1996; de Curtis et al., 2000; WHO, 2007).

La determinación de una alta carga de AM y CT, sumado a la presencia de *P. aeruginosa* evidencia que los procedimientos de limpieza y desinfección fueron inadecuados en la mayoría de los comedores. Esto representa un factor de riesgo que puede contribuir a incrementar la probabilidad de transmisión de otros patógenos (de Curtis et al., 2000, ICMSF, 1980).

TABLA V: Porcentajes de aislamientos en las muestras de manos en actividad operacional.

Microorganismo	Manos	
	Sin limpieza N:20	Con limpieza N:20
<i>S. aureus</i> (%)	15%	15%
<i>E. coli</i> (%)	-	-
<i>P. aeruginosa</i> (%)	5%	-

Referencias: N, número de muestras; %, porcentaje de muestras positivas.

La presencia de *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, en las superficies de equipos y utensilios nos indicaría que el origen de la contaminación es variable (de Curtis et al., 2000). Estas bacterias constituyen un peligro microbiológico, frente a la incorrecta aplicación de métodos higiénicos-sanitarios y malas prácticas de manufactura de alimentos (Manacorda et al. 2006).

El aislamiento de *S. aureus* en manipuladores, que permaneció luego del lavado de manos, constituiría una fuente importante de contaminación de alimentos y reflejaría una inadecuada práctica de higiene. *S. aureus* se considera patógeno para el hombre e indicador de contaminación humana nasofaríngea y cutánea. Se asocia a ETA, provocando intoxicaciones alimentarias y síndromes gastrointestinales en adultos y niños (Basualdo et al. 2006; ICMSF, 1982; Manacorda et al. 2006; Mossel y Moreno, 1985).

P. aeruginosa, se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza (plantas, suelo, animales y el hombre) y podría ser causa de intoxicación

alimentaria, causando enteritis leves en adultos. Esta bacteria forma biofilms en las superficies contaminadas y puede resistir los tratamientos con desinfectantes empleados habitualmente en los procedimientos de higiene de las instalaciones. Se disemina fácilmente en los ambientes húmedos, constituyendo un problema sanitario frente a condiciones de limpieza y desinfección deficientes. Principalmente, si las superficies son porosas y difíciles de limpiar, como los elementos de madera que por su porosidad absorben líquidos contaminados. Todas las superficies inanimadas deberían ser de materiales impermeables y diseñados de tal forma que se evite la formación de grietas o hendiduras donde se acumulen o proliferen los microorganismos (ICMSF, 1980).

En todos los comedores estudiados, sería conveniente difundir y hacer cumplir en forma correcta procedimientos de limpieza e higiene, para minimizar los peligros microbiológicos, como prerequisite en la implementación de sistemas que

aseguren la inocuidad de los alimentos (Michanie, 1998).

Debido a que en los establecimientos no se observó la aplicación del sistema de análisis de riesgos y puntos críticos de control (ARPCC), sería necesario que en estos servicios de comidas se diseñaran e implementaran diagramas de flujo del proceso de preparación de alimentos, estableciendo los PCC (INE, 1996; de Curtis et al., 2000; Michanie, 1998). La implementación de esta práctica permitirá monitorear con más facilidad, la producción de alimentos y tomar las acciones inmediatas con el fin de rectificar cualquier situación que se presente. Ello debería complementarse con la formación, entrenamiento y concienciación del personal involucrado y con su evaluación mediante inspecciones periódicas (de Curtis et al., 2000; ICMSF, 1980).

CONCLUSIONES

En este estudio, los procedimientos de limpieza y desinfección aplicados, no resultaron efectivos para reducir significativamente la carga bacteriana en las superficies analizadas. Por otra parte la presencia de *P. aeruginosa*, después de la limpieza apoya esta observación, resultando un factor de riesgo que podría contribuir a incrementar la probabilidad de transmisión de los microorganismos patógenos.

La calidad microbiológica de los alimentos, podría verse afectada por fuentes de contaminación potenciales como las manos de operarios y el equipo deficientemente limpio.

Por lo expuesto, se recomienda, para asegurar la inocuidad de los alimentos elaborados, realizar una desinfección adecuada de superficies y utensilios, promover buenas prácticas

para la preparación de alimentos, normas para lavado de manos del personal y uso de barbijos durante la manufactura de alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco del convenio entre la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco y el Instituto Superior de Gastronomía y Hotelería de la Patagonia. Los autores agradecen a la Dra. María Angélica Fajardo por su asesoramiento en el análisis estadístico de los datos.

BIBLIOGRAFÍA

- American Public Health Association (APHA). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser (eds), Washington D.C, 51-835 pp.
- Arzú, O.R., Peiretti A., Rolla, R.A., Roibón, W.R. Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipulación en áreas de producción de un supermercado del Nordeste Argentino, disponible en <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2002/04-Veterinarias/000-V-Indice-Web.htm>.
- Basualdo J, Coto C, de Torres R. 2006. Microbiología Biomédica. ED Atlante. 2º ed. Argentina, 277-561 pp.
- D'Aquino M. & Rezk R.. 1995. Valoración de desinfectantes. En Desinfección, desinfectantes, desinfe-

- tantes, limpieza, 1º ed. EUDEBA. Argentina, 155-175 pp.
- Dawson-Saunders C y Trapp R. 1994. Bioestadística Médica. 1ra. ED, El Manual Moderno, México.
- de Curtis, M.L., Franceschi, O. y de Castro, N. 2000. Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas. Arch. Lat. Nut. 50:177-182.
- Farmacopea Argentina. 2002/03. VII ED. Vol. 1. Ministerio de Salud de la Nación, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica (ANMAT), Argentina, 47-58 pp.
- Instituto Nacional de Epidemiología (I.N.E.) "Dr Juan H. Jara". 1996. En curso "Epidemiología de las enfermedades transmitidas por alimentos" (por educación a distancia). Estructura modular 3, módulo 1. Programación. Ministerio de Salud y Acción Social. Secretaría de Salud. Argentina.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1982. Microorganismos de los alimentos. Vol. I. Técnicas de análisis microbiológicos. Edit. Acribia. Zaragoza (España).
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1980. Ecología Microbiana de los Alimentos (Vol. I), Ed. Acribia, Zaragoza, España, 242-271 pp.
- Manacorda A. M., Cuadros D. P y Alvarez A. S. 2006. Cap. 1, Microorganismos del ambiente. En Manual Práctico de Microbiología - Tomo II, Microbiología ambiental II, 2ª ed. Editorial Masson S.A. Barcelona, España. 151-153 pp.
- Michanie S. 1998. Enfermedades transmitidas por alimentos en Argentina. En Conferencia, V Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de Alimentos. Aguas de Lindoia, Sao Paulo, Brasil, 16 pp.
- Mossel D.A.A, Moreno Garcia B. 1985. Microbiología De Los Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España, 4-53; 93-122 pp.
- Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS). 2005. Dirección de Epidemiología. Ministerio de Salud Argentina. Disponible en www.mardelplata.gov.ar
- World Health Organization (WHO). 2007. Food safety and foodborne diseases. Fact sheet N°237. Disponible en www.who.int

Naturalia patagónica, 4(1): 74-92 (2008)

**DEGRADACIÓN DE UNIDADES DE PAISAJE EN EL ÁREA DEL GOLFO SAN JORGE
(Chubut-Argentina)**

**Landscape Units degradation in the Golfo San Jorge Area
(Chubut-Argentina)**

Bertolami, M.A.; Mendos. M.G. & Gonzalez, L.V.

Cátedra de Introducción a la Ecología. Departamento de Biología General. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de la Patagonia San Juan Bosco. Ciudad Universitaria – Km. 4. 9000 – Comodoro Rivadavia. Argentina

RESUMEN

En el presente trabajo se ha realizado el análisis de la degradación en unidades de paisaje de las provincias de Chubut y Santa Cruz, en proximidad del Golfo San Jorge, Argentina. Han sido empleadas técnicas de teledetección como también relevamientos de campo de variables ambientales consideradas de importancia en la evaluación de dichos procesos. A partir de imágenes satelitarias LANDSAT 7 ETM+ se han digitalizado límites de las unidades de paisaje, clasificaciones semiautomáticas y evaluación del índice de vegetación NDVI'. Esto ha permitido la valoración de la degradación, utilizando escalas semicuantitativas, en los sectores correspondientes a las provincias de Chubut y Santa Cruz, con una superficie aproximada de 3.000.000 de hectáreas, en las cuales los porcentajes correspondientes a las áreas de mayor degradación son del 35% con degradación grave y 36 % de degradación media para Chubut, en tanto que para Santa Cruz estos porcentajes son de 18 % y 63 % respectivamente. El análisis de cada unidad de paisaje en ambas provincias permite una valoración del estado actual de desertificación producida por el hombre aunque en dichos procesos existe mayor o menor nivel de procesos naturales de avance del desierto conocido como desertización, siendo ambos procesos en muchos casos difíciles de separar por la ausencia de estudios de este tipo en el pasado.

Palabras clave: Patagonia – Degradación – Unidades de Paisaje.

ABSTRACT

The analysis of the environmental degradation has been developed in Landscape Units of Golfo San Jorge areas, located in Chubut and Santa Cruz provinces, Argentina. Remote sensing and field sampling techniques of ecological indicators have been employed in the above-mentioned processes. Starting from LANDSAT 7 ETM+ images, landscape units limits, semiautomatic classification techniques and Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) have been digitalized. Due to this, the assessment of environmental degradation has been possible, using semiquantitative scale in areas of Chubut and Santa Cruz provinces, with a surface area of approximately 3.000.000 hectares. The percentage of area with environmental degradation in Chubut is 35% (strong degradation) and 36% (middle degradation), while in the case of Santa Cruz the values are 18% and 63%. The landscape units analysis in both provinces, has permitted the evaluation of the actual state of desertification produced by the anthropic impact, but in the degradation processes the natural or anthropic effects in the environment, it has turned out to be difficult to be delimited, due to the absence of studies in the past.

Key words: Patagonia – Degradation – Landscape units.

INTRODUCCION

En zonas áridas y semiáridas como la Patagonia, los procesos de erosión eólica e hídrica adquieren gran relevancia, por lo que la conservación de los ecosistemas seminaturales como los existentes es muy importante. La intervención humana incide sobre el medio natural modificándolo total o parcialmente, ya sea por la pérdida de especies, cambios en la composición florística y en la estructura de las comunidades vegetales, disminución de la densidad de las poblaciones animales, incremento en los procesos erosivos, degradación de los suelos por incremento de la salinidad, cambios en la topografía local, entre otros.

Los ambientes degradados constituyen una variación en las etapas sucesionales propias de cada ecosistema, cuando la importancia y magnitud del impacto son bajas y con una mínima alteración de las funciones del

ecosistema, éste se recupera naturalmente en un periodo variable según las posibilidades que le ofrece el ambiente (Dalmaso et al. 2002), aunque frecuentemente esto no ocurra debido a las pérdidas irreversibles en la estructura y función en un ambiente que es en sí mismo muy frágil.

Es importante una definición de algunos términos empleados durante el presente artículo, para tener claridad de conceptos a los que se hace mención, los cuales han sido tomados de Roig (1989).

La Degradación puede definirse como el *“nivel de pérdida de condición natural de los ecosistemas”*.

La Fragilidad es la *“sensibilidad del ambiente debido a las características que le son propias”*.

La Desertificación es el proceso que se desencadena con el mal uso de los recursos, la cual puede ser definida como: *“la pérdida de productividad de ecosistemas áridos, semiáridos y*

subhúmedos secos como consecuencia de la actividad humana”.

En la zona de estudio los principales impactos ambientales sobre el paisaje son producidos por la ganadería ovina extensiva, explotación petrolera, extracción petrolera incendio accidental de campos y expansión urbana.

González Bernárdez (1981), indica que el paisaje asume dos interpretaciones diferentes ya sea a los ojos de artistas, público en general como imagen de un territorio (fotos, cuadros, etc.) que es percibida por el ojo humano “de una vez”, o bien en una segunda interpretación y a los ojos de la ciencia, como un conjunto de elementos de un territorio ligados por relaciones de interdependencia, donde con frecuencia estos componentes concretos son visibles en forma de escena.

Dentro de la segunda interpretación, y en relación al término paisaje en sí, diversas definiciones han sido adoptadas en el transcurso del tiempo, como por ejemplo, desde la escuela rusa, que ha tenido una percepción temprana del paisaje en forma integral, a partir de los trabajos pioneros de Dokuchaev, quien sitúa los suelos en el contexto ambiental en el que se hallaban en un sentido amplio.

El paisaje puede ser visualizado como una porción de la superficie terrestre, provista de límites naturales, los cuales forman un conjunto donde se presenta interacción e interdependencia. Según Díaz Pineda (1973), un paisaje puede también ser considerado como: *“la percepción plurisensorial de un sistema de relaciones ecológicas”.*

Un paisaje terrestre es considerado entonces, un mosaico heterogéneo de geoformas, tipos de vegetación y usos de la tierra. El estudio del paisaje, sus

patrones espaciales y como ellos se desarrollan, emerge actualmente como una nueva disciplina en el campo de la ecología (Urban et al., 1987).

El paisaje puede también definirse como un área donde un grupo de ecosistemas interactúan repetidamente de igual forma. Está integrado por dos mecanismos que operan juntos dentro de sus fronteras, estos son: los procesos geomorfológicos específicos y los disturbios que afectan a los ecosistemas que lo integran.

Bertrand (1970), define un paisaje como: *“una porción del espacio caracterizada por un tipo de combinación dinámica, por consiguiente inestable de elementos geográficos diferenciados (físicos, biológicos y antrópicos) que al reaccionar dialecticamente entre sí, hacen de un paisaje un conjunto geográfico indisociable que evoluciona en bloque tanto bajo el efecto de las interacciones de elementos que lo constituyen como bajo el efecto de la dinámica propia de cada uno de sus elementos considerados separadamente”.* esta definición es la que será adoptada para el presente trabajo en la definición de unidades de paisaje.

La denominada: “ecología de paisaje” es motivada, justamente por la necesidad de la comprensión de desarrollo y dinámica de patrones en fenómenos ecológicos, el rol de los disturbios en los ecosistemas, las características espaciales y escalas temporales de los eventos ecológicos. Siendo de importancia la integración de los diversos procesos en el paisaje, debe considerarse a la vez conjuntamente la dinámica actual y las dinámicas del pasado.

Para el presente artículo, el análisis de los paisajes en el área fue desarrollado en ambiente SIG, “Sistema de

Información Geográfica” (S.I.G.) que opera en modo raster. Un SIG puede ser definido como *“un conjunto de componentes asociados a un proyecto de gestión y análisis de datos georreferenciados, sustentados en sistemas de recolección y captura de datos y sistemas informáticos que permiten el tratamiento y análisis en forma digital”*. Estos sistemas constituyen herramientas que facilitan las tareas de integración de datos de diversa índole, como son los provenientes de la información preexistente y los obtenidos mediante muestreo de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

1 Área de estudio

El área total que corresponde al centro sureste de Chubut y centro noreste de Santa Cruz considerada, se encuentra comprendida entre las siguientes coordenadas:

Extremo noroeste: 45° 3' 37" LS; 70° 4' 34" LW

Extremo sudeste: 46° 59' 8" LS; 67° 8' 24" LW

2. Materiales

Se utilizó diversa cartografía temática, imágenes satelitales y software apropiados para el tratamiento de las mismas, los cuales son detallados a continuación:

- Cartografía de Suelos. Atlas de suelos de la República Argentina. Provincia de Chubut y Santa Cruz. Escala 1:1.000.000 (PNUD-INTA, 1990).

- Esquemas de Regiones Fitogeográficas. (Cabrera, 1976 y Soriano, 1956).

- Cartografía de Unidades Fisonómicas de Vegetación del Sudeste de Chubut 1:250.000 (Bertiller et al. (1981).

- Esquema de Áreas Ecológicas de Santa Cruz (Borrelli & Oliva, 2001)

- Sistema de Información Geográfico Idrisi 32. Eastman (1999).

- Imagen Satelital Landsat 7 - ETM + obtenida mediante la hibridación, de las bandas temáticas 2, 3 y 4 con una resolución espacial de 30 metros, obtenidas en febrero de 2002, con una imagen pancromática de la misma fecha pero de 15 metros de resolución, teniendo el producto final una resolución similar a la pancromática, permitiendo la observación con mayor detalle de la escena.

3. Métodos

1 Procesamiento de la imagen satelital

Fueron realizada una composición en falso color a partir de las bandas disponibles del satélite LANDSAT 7 ETM + obtenidas en febrero de 2002 (Figura 1).

Esta imagen corregida geométricamente, permitió realizar medidas aproximadas de las superficies de los diversos ambientes considerados.

En este trabajo fue utilizado el S.I.G., IDRISI para Windows versión 32 Eastman (1999), que permite trabajar con archivos en formatos raster pero también permite operar en modo vectorial.

Se utilizó la escena satelital completa (Path 229 – Row 092), para analizar gran parte del entorno de la cuenca del Golfo San Jorge.

Figura 1: Imagen en tonalidades de grises a partir de imagen en falso color compuesto del área del golfo San Jorge

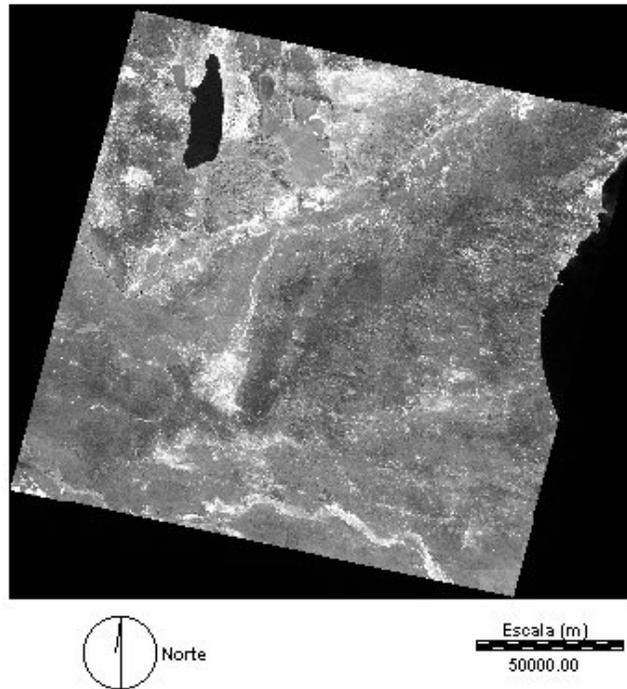


Tabla I. Longitudes de ondas correspondientes a las bandas utilizadas.

Banda utilizada	Rango de longitud de onda (μm)	Región del espectro eletromagnético
Banda 2	0,52 - 0,60	Verde
Banda 3	0,63 - 0,69	Rojo
Banda 4	0,76 - 0,90	Infrarrojo cercano

1.1 Identificación de paisajes

A los efectos de obtener áreas de análisis que representen unidades ambientales o de paisaje, fueron digitalizados en pantalla los límites correspondientes a las geoformas dominantes identificadas en ambas provincias, Chubut y Santa Cruz tomando en cuenta además otras variables como son: topografía, clima y las comunidades vegetales presentes en el área.

La metodología seguida supone la elaboración de "máscaras digitales", las cuales reflejan las características antes mencionadas que le dan un contenido ecológico a las mismas.

Una máscara puede ser definida como un área que presenta cierta homogeneidad, sea por el ambiente que representa o bien, por la definición del área de análisis.

Los trabajos de campo, permiten revalidar en este contexto la delimitación de las unidades de paisaje realizada en gabinete y apreciar su nivel de degradación y potencial de uso actual.

1.2. Clasificación de la imagen e Índice de Vegetación (NDVI)

Se realizó una clasificación no supervisada denominada isodata (ISODATA routine), basada en Ball and Hall (1965) por considerarse adecuada para los tipos de ecosistemas presentes en el área, dado el carácter seminatural que presentan. Se establecieron cuatro clases que se presentarán dada su similar respuesta en cuanto al mencionado índice, evidenciando de este modo las clases por su mayor o menor nivel de degradación y cobertura.

En denominado "Índice de Vegetación de Diferencias Normalizadas" o NDVI (Tucker, 1979), toma en consideración las diferencias radiométricas entre las bandas

4 (infrarrojo cercano) y la banda 3 (rojo) lo que permite establecer las diferencias en cobertura y en biomasa vegetal en cada uno de los tipos de vegetación. La ecuación original de cálculo es la que se expresa a continuación:

$$NDVI = (IRc - R) / (IRc + R)$$

Dado que los valores alcanzados por el índice están comprendidos entre los valores de +1 y -1, se optó por modificar sus valores según la ecuación siguiente:

$$NDVI' = (NDVI + 1) * 125$$

Esta ecuación de NDVI', propuesta por Chuvieco (2000), permite situar los valores entre números enteros, comprendidos en el rango de 0 a 250 evitando la realización de cálculos sobre valores enteros negativos, simplificando la interpretación de los resultados obtenidos.

La combinación de clasificación semiautomática e índices de diverso tipo, como el aquí propuesto, es una alternativa interesante en este tipo de ambientes, donde la heterogeneidad de los ecosistemas naturales, no permite una calibración simple y precisa de firmas espectrales de cada uno de los mismos. A pesar de las limitaciones que ofrece el NDVI en zonas áridas con escasa vegetación y suelos claros.

Las clases definidas en las imágenes son las siguientes.

1. Degradación Grave
2. Degradación Media
3. Degradación Leve
4. Degradación Muy Leve

El significado de esta clasificación propuesta es el que se detalla a

continuación y ha sido utilizado por otros autores (Escobar, 1997).

Clase 1: En este caso el ambiente aparece con menos de un 20% de la superficie cubierta por la vegetación, por lo que han sido denominados peladales con graves procesos erosivos, la vegetación remanente suele estar representada solamente por arbustos y subarbustos. La posibilidad de uso para la ganadería es escasa o nula y la posibilidad de recuperación es nula.

Clase 2: El suelo se presenta con una cobertura vegetal entre 20 al 50%, las plantas forrajeras constituyen un 10% y son normalmente muy utilizadas en campos de pastoreo, presentes solamente bajo la protección de arbustos. El suelo presenta avanzado estado de erosión hídrica y eólica, con formación de montículos, surcos de erosión hídrica y pavimentos de desierto medianamente desarrollados. Es la clase más representada en la totalidad del área de estudio, como se verá posteriormente y es necesario implementar medidas de conservación, si se las utiliza como campos de pastoreo lo que normalmente no ocurre en la zona.

Clase 3: La cobertura es superior al 50%, presentándose especies forrajeras importante tanto para el ganado como para la fauna, las especies más apetecidas se encuentran protegidas bajo arbustos, pero otras de menor valor están disponibles. En el suelo son observables procesos de degradación debidos a erosión hídrica laminar y también incipientes montículos. El manejo en estas áreas es de importancia a los efectos de no agravar la situación actual y mejorar su estado de conservación.

Clase 4: El nivel de deterioro es mínimo, con alta cobertura y especies de comunidades maduras y el ecosistema

estaría próximo a su estado originario, si bien esto es difícil de corroborar por ausencia de estudios durante períodos prolongados, lo que permitiría una apreciación más adecuada.

La expresión “no degradado” indica el estado en el momento actual, ya que no existen estudios históricos, si bien esto puede inferirse de la observación de las unidades de manejo con diferente intensidad de uso y de la utilización de indicadores ecológicos ampliamente aceptados.

2 Relevamientos a campo

Se realizó un programa de muestreo preferencial (relevamientos a campo), utilizándose planillas en las cuales se registraron los datos vinculados a la ubicación geográfica con auxilio de geoposicionadores globales (GPS), identificando lugares próximos a las muestras para su fácil localización y fueron observadas variables de tipo físico y biológico (incluida la actividad de la fauna), para las que se ha realizado una valoración semicuantitativa (adaptada de Roig, 1989). Empleando para tal fin una escala que va de 1 a 5, siendo respectivamente el valor 1 de menor impacto y más favorable, mientras que 5 representa el mayor impacto y el menos favorable, estas variables posteriormente han sido agrupadas para obtener valores de degradación, las que se enumeran a continuación.

Degradación (10 variables relevadas a campo)

Cobertura de especies perennes*

Cobertura de especies forrajeras*

Evidencias de pastoreo

Cobertura de mantillo*

Superficie afectada por acumulación eólica*

Superficie afectada por deflación (Pavimentos)*
Desnivel de Nebkas (montículos) *
Salinidad de los suelos
Tipos de erosión hídrica
Superficie afectada por surcos y cárcavas

Del conjunto de variables que se obtuvieron se realizó la suma lineal en cada muestra de las 6 variables indicadas con el símbolo (*), que fueron consideradas las más relevantes para la evaluación relativa de la degradación en cada una de las muestras, si bien es un hecho conocido que la variable mejor correlacionada con el NDVI es la cobertura vegetal (Bertolami, 2005), estos cálculos simples permitieron obtener los valores de degradación en cada una de ellas. Se consideró no obstante de interés la observación de la totalidad de las mismas para lograr una mejor imagen del contexto del ambiente.

Posteriormente se realizó para cada clase de la imagen un reescalamiento de las clases de degradación, tomando en cuenta los valores máximos y mínimos observados en la muestras de campo.

Clases de degradación

4. (7 – 11] (muy leve)
3. (11 – 15] (leve)
2. (15 – 19] (media)
1. (19 – 25] (grave)

Finalmente para la caracterización de los tipos de vegetación presentes en el

área se siguió básicamente el criterio de Anchorena (Beeskow et al. 1987).

RESULTADOS

1 Superficies afectadas por degradación

En la figura 1 puede apreciarse el área total cubierta por la imagen en tonalidades de grises, obtenida a partir de una composición en falso color compuesto, con una superficie general aproximada de más de 3 millones de hectáreas.

De la observación de la imagen, cuando esto es realizado en la pantalla, surgen claramente, los límites de unidades de manejo, que presentan cercado perimetral, locaciones petroleras y los caminos o picadas abiertas a la circulación, estas últimas actúan de verdaderos corredores para las especies adaptadas a estos ambientes como *Grindelia chilensis*, *Senecio filaginoides* o *Stipa humilis* (Roig & Méndez, 2003).

En la figura 2 se observan los ambientes definidos en la zona mediante las máscaras, mientras en la figura 3 se da cuenta del nivel de degradación observado en la cuenca en forma global, utilizando la escala semicuantitativa antes detallada y las características radiométricas de la imagen

Los valores obtenidos de degradación promedio, son el resumen de la observación sobre el terreno y las características ambientales de cada muestra.

Figura 2: Unidades ambientales del área del Golfo San Jorge

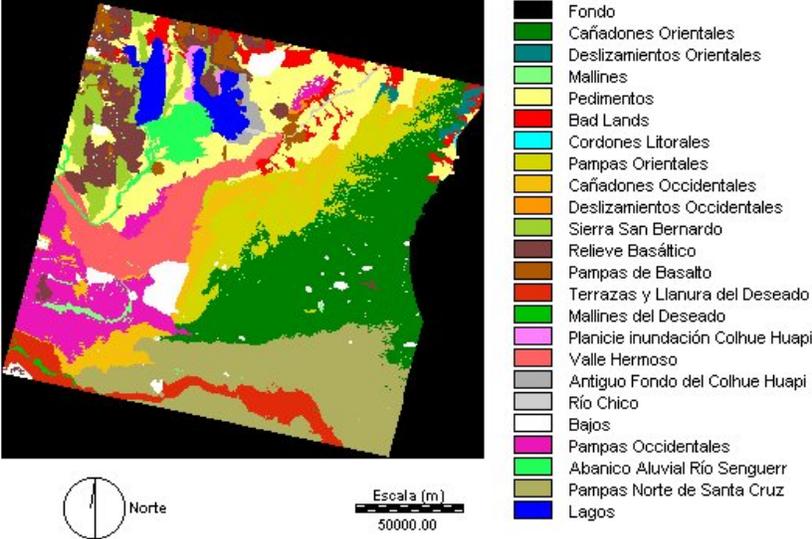
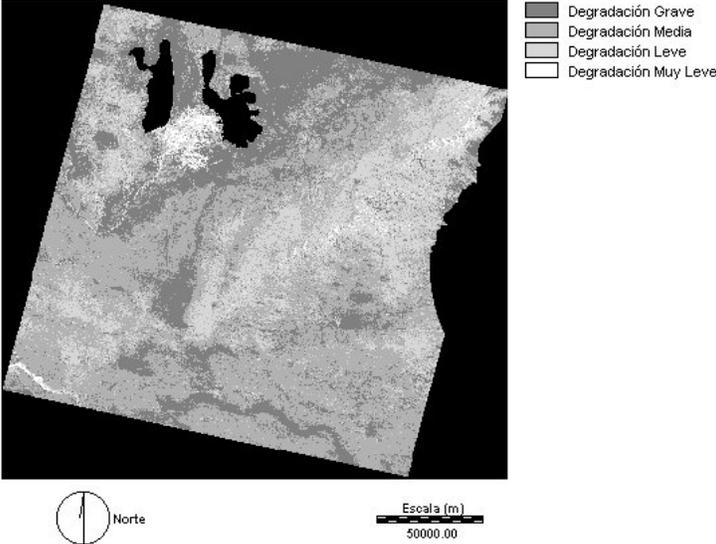


Figura 3: Clasificación del Área del Golfo San Jorge según niveles de degradación decrecientes.



Los resultados expresados en la tabla II, muestran que dentro del área con una superficie total de 3118270 ha para ambas provincias, el 26% presentan degradación grave, 50% degradación media siendo el 24% de la superficie restante correspondiente a la degradación leve o muy leve. Este resultado surge tanto de la consideración de las características de la imagen como de los relevamientos de campo.

Se indican los datos de zonas correspondientes a Chubut y la zona de

Santa Cruz (tabla III) en forma separada para realizar una comparación entre ellas y del área total que resulta de su consideración conjunta.

En el área correspondiente a Chubut, se puede observar que cuando se considera el total de la superficie el 35% de la misma posee degradación grave y 36 % posee degradación media, en tanto que en el área de Santa Cruz, se observa un 18 % que corresponde a la clase 1, de degradación grave y 63 % a la clase 2 (tabla III).

Tabla II: Area total ocupada por cada clase en la imagen.

Clases	Área total (ha)	Área total (%)
1	802730	26
2	1567698	50
3	700039	22
4	47803	2
Total	3118270	100

Tabla III: Área en el sector de Chubut y Santa Cruz ocupada por cada clase en la imagen de degradación.

Clases	Área Chubut (ha)	Área Chubut (%)	Área Santa Cruz (ha)	Área Santa Cruz (%)
1	506740	35	295989.84	18
2	528052	36	1039646.12	63
3	390714	27	309325.68	19
4	40894	3	6909.3675	0
Total	1466400	100	1651871	100

Utilizando las clases surgidas de la imagen clasificada (Figura 3), se extrajo el valor de degradación media resultante que se muestra en la tabla IV, a partir de los muestreos de campo.

Los diversos ambientes que se presentan en el centro-sudeste de Chubut son los que se detallarán a continuación, que pertenecen a dos distritos florísticos según el esquema fitogeográfico de Soriano (1956), la superficie de cada uno de ellos fue mensurada a partir de las imágenes y los resultados de tal cálculo se indican en la tabla V, donde además fueron obtenidos los valores promedios del NDVI' en cada una de ellas, lo cual también es indicativo de su cobertura vegetal y eventualmente de su potencial de utilización.

Los ambientes analizados se encuadran en los denominados distritos del Golfo San Jorge y Central (Soriano, op. cit.), siendo su correspondencia la siguiente:

Distrito florístico del Golfo San Jorge

1. Cañadones orientales
2. Deslizamientos
3. Mallines
4. Pedimentos
5. Bad Lands
6. Cordones litorales

Tabla VI

7. Pampas orientales (Castillo - Salamanca)
19. Bajos

Distrito florístico Central

8. Cañadones occidentales
9. Deslizamientos occidentales
10. Sierra de San Bernardo
11. Relieve Basáltico
12. Pampas de Basalto
15. Planicie de inundación Colhue Huapi
16. Valle Hermoso
17. Antiguo Fondo Colhue Huapi
18. Río Chico
19. Bajos
20. Pampas occidentales (Pampa Vaca y María Santísima)
21. Abanico Aluvial Río Senguerr

Con posterioridad igual procedimiento se realizó en la provincia de Santa Cruz. Los diversos ambientes que se presentan en el nordeste de Santa Cruz son los que se detallan, localizados en cuanto a su pertenencia a dos distritos florísticos según el esquema fitogeográfico de Soriano (1956), la superficie de cada uno de ellos fue mensurada a partir de las imágenes y los resultados de tal cálculo se indican en la tabla VI, en la cual se informa además el valor promedio del NDVI'.

Tabla IV: Relación entre clases de la imagen, degradación media y clases de degradación.

Clase en la imagen	Degradación media	Clase de degradación
1	22	4 (grave)
2	16	3 (media)
3	15	2 (leve)
4	9	1 (muy leve)

Tabla V. Categorías asignadas, superficies correspondientes e índices de vegetación asociados a los ambientes del sudeste de Chubut.

Categoría	NDVI'	Superficie (ha)	Descripción
1	147	174461	Cañadones Orientales
2	147	18180	Deslizamientos Orientales
3	160	5546	Mallines
4	121	343139	Pedimentos
5	121	88911	Bad Lands
6	121	835	Cordones Litorales
7	133	180711	Pampas Orientales
8	131	74086	Cañadones Occidentales
9	125	2386	Deslizamientos Occidentales
10	130	102040	Sierra San Bernardo
11	132	158847	Relieve Basáltico
12	126	55770	Pampas de Basalto
15	124	10921	Planicie inundación Colhue Huapi
16	120	90298	Valle Hermoso
17	121	22097	Antiguo Fondo del Colhue Huapi
18	123	8016	Río Chico
19	119	24317	Bajos
20	123	31455	Pampas Occidentales
21	148	74382	Abanico Aluvial Río Senguerr
23	51	96435	Lagos Colhué Huapi y Musters

Tabla VI. Categorías asignadas, superficies correspondientes e índices de vegetación asociados a los ambientes del nordeste de Santa Cruz.

Categoría	NDVI'	Superficie (ha)	Descripción
1	130	463189	Cañadones Orientales
3	131	18528	Mallines
4	118	1466	Pedimentos
7	129	76926	Pampas Orientales
8	125	98539	Cañadones Occidentales
11	126	7970	Relieve Basáltico
13	119	120980	Terrazas y Llanura del Deseado
14	161	6082	Mallines del Deseado
16	119	104515	Valle Hermoso
19	119	67295	Bajos
20	125	198627	Pampas Occidentales
21	129	146	Abanico Aluvial del Río Senguerr
22	123	487597	Pampas Norte Santa Cruz

Los ambientes analizados se encuadran en los denominados distritos del Golfo San Jorge y Central (Soriano, op. cit.), siendo su correspondencia la siguiente:

Distrito florístico del Golfo San Jorge

- 1. Cañadones orientales
- 3. Mallines
- 4. Pedimentos
- 7. Pampas orientales (Castillo-Salamanca)
- 11. Relieve Basáltico
- 13. Terrazas y Llanura Aluvial del Deseado
- 19. Bajos
- 20. Pampas del Norte de Santa Cruz (Meseta Espinosa)

Distrito florístico Central

- 4. Pedimentos
- 8. Cañadones occidentales
- 11. Relieve Basáltico

- 12. Pampas de Basalto
- 14. Mallines del Deseado
- 16. Valle Hermoso
- 19. Bajos
- 20. Pampas occidentales (María Santísima)
- 21. Abanico Aluvial Río Senguerr

En la figura 3 se observan las 4 clases definidas a partir de la clasificación realizada, que considera el mismo tomando en cuenta los valores crecientes del NDVI', se utilizó una gama de grises a blanco, de acuerdo a menor o mayor cobertura vegetal y nivel de conservación.

En la tabla VII se detalla la superficie ocupada por cada clase en cada una de las unidades de paisaje, destacándose en negrita los mayores valores encontrados en cuanto a su

representación espacial, en el sudeste de Chubut.

Puede observarse que en ninguno de los casos, la clase 4, que representa degradación muy leve fue la dominante, a excepción de los mallines.

En general las clases 2 (media) y 1 (grave) fueron dominantes, estando en algunos casos la dominancia en la clase 3

(leve) en ambientes de matorrales o en condiciones de cultivo y en suelos hidromórficos.

Los ejemplos de clase 3 dominante son: Cañadones orientales (1), Deslizamientos Orientales (2), Pampas Orientales (7) o bien el Abanico Aluvial del Río Senguerr (21).

Tabla VII: Áreas correspondientes a las clases en cada ambiente en Chubut, se indica en negrita el mayor porcentaje presentado por cada clase en sus ambientes respectivos.

Ambiente	Clase 1		Clase 2		Clase 3		Clase 4		Total por Ambiente
	Área (ha)	%	Área (ha)	%	Área (ha)	%	Área (ha)	%	
Cañadones orientales	12225	7	31280	18	117235	67	13721	8	174461
Deslizamientos Orientales	1266	7	4523	25	11309	62	1082	6	18180
Mallines	384	7	108	2	2324	42	2730	49	5546
Pedimentos	211910	62	116951	34	14147	4	131	0	343139
Bad Lands	75528	85	11128	13	2215	2	40	0	88911
Cordones Litorales	809	97	16	2	7	1	2	0	835
Pampas Orientales	6076	3	85657	47	88796	49	182	0	180711
Cañadones Occidentales	7089	10	39908	54	26957	36	132	0	74086
Deslizamientos Occidentales	828	35	1293	54	265	11	0	0	2386
Sierra de San Bernardo	52213	51	24747	24	24508	24	572	1	102040
Relieve Basáltico	22884	14	78588	49	56194	35	1181	1	158847
Pampas de Basalto	8540	15	36404	65	10758	19	68	0	55770
Planicie Inundación Colhué Huapi	5476	50	1874	17	3303	30	268	2	10921
Valle Hermoso	30203	33	59351	66	742	1	2	0	90298
Antiguo Fondo del Colhué Huapi	18926	85	2338	11	782	4	51	0	22097
Río Chico	6672	83	870	11	469	6	5	0	8016
Bajos	22897	94	620	3	790	3	10	0	24317
Pampas Occidentales	3717	12	26468	84	1269	4	1	0	31455
Abanico Aluvial del Río Senguerr	19096	26	5929	8	28641	39	20715	28	74382
Total por Clase	506739		528053		390711		40893		

En el caso de la clase 2 se presenta como dominante los Cañadones Occidentales (8), Deslizamientos Occi-

dentales (9), Relieve Basáltico (11), Pampas de Basalto (12), el Valle Hermoso (16) y Pampas Occidentales (20).

Finalmente en la clase 1 se presentan los ambientes más degradados como son los Pedimentos (4), Bad Lands (5), también en ambientes de salinidad natural como los Cordones litorales (6), además se ha observado en la Sierra de San Bernardo (10) con superficies rocosas expuestas, la Planicie de Inundación del Colhué Huapi (15), el Antiguo Fondo del Colhué Huapi (17), el Río Chico (18) y los Bajos hidro-

eólicos (19). En estos últimos ambientes se presentan suelos con características arcillosas y materiales finos en superficies, lo que hace dificultosa su colonización por los vegetales.

En la tabla VIII se detalla la clasificación de niveles de degradación por superficie de cada unidad de paisaje, en la provincia Santa Cruz.

Tabla VIII: Áreas correspondientes a las clases en cada ambiente en Santa Cruz, se indica en negrita el mayor porcentaje presentado por cada clase en sus ambientes respectivos.

Ambiente	Clase 1		Clase 2		Clase 3		Clase 4		Total por Ambiente
	Área (ha)	%							
Cañadones Orientales	66485	14	251270	55	143032	31	242	0	461029
Mallines	2077	11	9337	50	6305	34	810	4	18529
Pedimentos	851	58	613	42	3	0	0	0	1467
Pampas Orientales	2263	3	29155	38	45474	59	33	0	76925
Cañadones Occidentales	20793	21	61520	62	16061	16	165	0	98539
Relieve Basáltico	386	5	4170	52	3414	43	0	0	7970
Terrazas y Llanura del Deseado	52779	44	64364	53	3656	3	191	0	120990
Mallines del Deseado	276	5	118	2	2463	40	3225	53	6082
Valle Hermoso	20611	20	83194	80	704	1	2	0	104511
Bajos	45923	68	19088	28	2275	3	9	0	67295
Pampas Occidentales	8660	4	129860	65	60090	30	16	0	198626
Abanico Aluvial del Río Senguerr	78	53	13	9	51	35	4	3	146
Pampas del Norte de Santa Cruz	72105	15	386939	80	25798	5	53	0	484895
Total por Clase	293287		1039641		309326		4750		1647004

Puede observarse que la clase 4, que representa degradación muy leve fue la dominante únicamente en los Mallines del Río Deseado (14), aunque esta respuesta espectral no evidenciaría necesariamente cambios que se podrían presen-

tar en la composición florística o aparición de especies exóticas.

En tanto que las Pampas Orientales (7) presentan clase 3 (leve) como dominante. En general la dominancia fue en la clase 2 (media).

En el caso de la clase 1 como dominante encontramos a los Pedimentos (4), los Bajos (19) y la pequeña porción del Abanico Aluvial del Río Senguerr (21) que corresponde a esta provincia.

Esta característica general de los ambientes refleja lo observado sobre el terreno a nivel global en el noreste de Santa Cruz donde las principales activi-

dades son la petrolera en mayor medida que en Chubut, además de la ganadería.

En las tablas IX y X se detalla la superficie correspondiente para cada una de las clases establecidas y el comportamiento de los índices de vegetación en cada sector de las provincias analizadas, presentando valores de NDVI' ligeramente más elevados en Chubut para cada una de las clases.

Tabla IX. Índice de vegetación promedio (NDVI') y áreas correspondientes de la imagen del sudeste de Chubut.

Clase	Superficie (ha) de las clases en área general	Superficie (%) (%)	NDVI'
1	506740	35	121
2	528052	36	127
3	390714	27	142
4	40894	3	169
Total	1466396		

Tabla X. Índice de vegetación promedio (NDVI') y áreas correspondientes de la imagen del nordeste de Santa Cruz.

Clase	Superficie (ha) de las clases en área general	Superficie (%) de las clases en área general	NDVI' de las clases en área general
1 (Grave)	295989	18	120
2 (Media)	1039646	62	124
3 (Leve)	309326	19	135
4 (Muy Leve)	6909	0,42	166
Total	1651870		

DISCUSIÓN

Dentro de la imagen existen sectores que presentan diversos niveles de deterioro, en parte corresponden a la degradación natural de origen aparentemente no antrópico, es el caso de los Bad

Lands o los Cordones Litorales. Otras áreas se encuentran afectadas por otras actividades, principalmente la ganadería ovina y actividad petrolera, que estarían englobadas en el término desertificación, como ya fue explicado.

El hecho que la clase 2 sea la dominante, se debe a que a pesar que se presentan varios de los ecosistemas de la costa con muy alta cobertura (como son los matorrales y también parte de las estepas presentes en las mesetas), el conjunto de los ambientes analizados ha sido utilizado para la ganadería ovina, lo que contribuye posiblemente a su homogenización por deterioro.

Si realizamos una comparación de los sectores de las provincias analizadas, vemos que las clases 1 y 2 en Santa Cruz, poseen una superficie afectada por la degradación, mucho mayor a la de Chubut y por este motivo mucho más perceptible el efecto de la degradación asociada.

Tomadas las áreas analizadas de conjunto, ellas poseen diferente potencial de recuperación, lo que está condicionado por la magnitud del impacto y por su mayor o menor proximidad a condiciones más favorables, esto es, de su mayor o menor porcentaje de área en la zona más próxima al Golfo San Jorge, con características de menor aridez.

CONCLUSIÓN

La definición y el análisis de áreas homogéneas, a partir de imágenes para su caracterización, constituye una herramienta de importancia para la evaluación de su estado de conservación o degradación, permitiendo además su documentación y estableciendo una base de datos referenciada de fácil actualización.

Contribuyen a esto los nuevos productos provenientes de la teledetección que facilitan la comparación en diferentes momentos históricos, lo que es conocido como análisis multitemporal.

Aunque en general los cambios en la vegetación y ambiente año a año son graduales y sutiles, en áreas donde esta

presión se intensifica los cambios suelen ser bruscos y la reversibilidad de procesos compleja o imposible.

La pérdida de cobertura vegetal y la erosión eólica dejan expuestas capas arcillosas, menos permeables que favorecen la escorrentía y por lo tanto estimulan la erosión hídrica, es por esta razón que la desertificación es un proceso que avanza permanentemente al no detenerse las causas que la provocan. Todo esto puede verificarse en lugares donde se han registrado diversas actividades, como locaciones que con el transcurso de los años continúan siendo muy evidentes y no cubiertos por la vegetación.

La utilización de una escala semicuantitativa, para evaluar degradación ambiental como la aquí empleada, resulta de utilidad y sintetiza lo que se observa sobre el terreno de una forma sistemática.

Sin lugar a dudas la variable más reflejada por los índices de vegetación (NDVI), es la cobertura total de la vegetación, en ausencia de la misma estos índices muestran valores menores y además sobre el terreno se presentan procesos asociados a la pérdida de cobertura como son los pavimentos de desierto y los suelos compactados.

Otros factores no son tan sencillos de percibir por los satélites, como por ejemplo la cobertura de especies forrajeras, pero este factor no puede ser asociado a la actividad petrolera y sí a la actividad ganadera. Sólo un muestreo sobre el terreno permite verificar los procesos "in situ", a pesar de los grandes avances en percepción remota.

El grado de afectación de la fauna, en particular a lo atinente a los mamíferos de cierto porte, que son los más afectados en casi todos los casos, por lo que

estudios específicos deberán ser realizados en forma más intensiva, para evaluar el estado de las poblaciones correspondientes.

En cuanto a los procesos de recolonización/revegetación donde fue eliminada la cubierta vegetal, estos se desarrollan muy lentamente y por ello deben tomarse medidas de mitigación que tienen un costo asociado y que dependen de una toma de decisiones apropiada, y del conocimiento del rol de los diversos elementos de la flora, lo que es muy importante para acelerar los procesos de recuperación, de allí la importancia de contar con un listado apropiado de especies nativas indicadoras de procesos ecológicos en la región.

Este último proceso no es siempre realmente viable en áreas afectadas por pastoreo, dada la selectividad de especies que ocurre durante el mismo y la degradación y homogeneización que producen en los ecosistemas, si bien es igualmente cierto que esta actividad presenta menos agresividad puntual que la actividad petrolera.

BIBLIOGRAFÍA

- Atlas de Suelo de la República Argentina. 1990. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Proyecto PNUD- INTA.
- Ball, G.H. & D.J. Hall. 1965. A Novel Method of Data Analysis and Pattern Classification. Menlo Park, CA: Stanford Research Institute.
- Beeskow, A.M., Del Valle, H.F. 1987. Los sistemas fisiográficos de la región árida y semiárida de Chubut. SECYT. Puerto Madryn. 173 pp.
- Bertiller, M.B., Beeskow, A.M. & M. Del P. Irisarri. 1981. Caracteres fisonómicos y florísticos de la vegetación del Chubut. 1. Sierra San Bernardo, Llanura y Valle aluvial del Río Senguerr, Pampa de María Santísima, Valle Hermoso y Pampa del Castillo. Contribución Nº 40 CENPAT, Puerto Madryn. 26 pp.
- Bertolami, M.A. 2005. Estructuras paisajísticas, producción y degradación de las estepas de Patagonia Argentina (Departamento Escalante, Provincia de Chubut). *Naturalia Patagónica* 2(1): 126-129.
- Bertrand, G. 1970. *Écologie de l'espace géographique. Recherche pour une science du paysage.* Société de Biogéographie. Transcripción de la sesión del 19 de diciembre de 1969, 195-205 pp.
- Borrelli P. y Oliva G. 2001. Ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral, Tecnología de Manejo Extensivo. 2001. Ediciones INTA, Río Gallegos, 270 pp.
- Cabrera, A.L. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Fascículo I. ACME, Buenos Aires, 85 pp.
- Chuvienco, E. Fundamentos de la teledetección espacial. 2000. Ediciones Rialp S.A. España. 568 pp.
- Damasso, D., Carretero, E. & O. Console. 2002. Revegetación de áreas degradadas. *Boletín de Extensión científica. IADIZA.* 46 pp.
- Díaz Pineda, F. 1973. Terrestrial ecosystems adjacent to large reservoirs. *Ecosurveys and Diagnosis. Internat. Commiss. on Large Dams. XI Congress.*
- González Bernardez, F. 1981. *Ecología y Paisaje.* Blume, Madrid, 250 pp.

- Eastman, R. 1999. Idrisi for Windows 32. Estados Unidos
- Escobar, J.M. 1997. Desertificación en Chubut. Informe INTA, Trelew. 29 pp.
- Forman, R.T.T. & Godron, M.. 1986. Landscape ecology. John Wiley & Sons, New York.
- Roig, F.A. 1989. Detección y Control de la Desertificación. Conferencias, trabajos y resultados del Curso Latinoamericano. Mendoza, CRICYT-ME. 364 pp.
- Roig, F.A. & E. Méndez. 2003. Especies indicadoras de Estados y Procesos en la vegetación patagónica.
- Soriano, A. 1956. Los Distritos Florísticos de la Provincia Patagónica. Revista de investigaciones agrícolas. Buenos Aires.
- Tucker, C.J. 1979. Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. Remote Sensing of Environment 18: 127-150.
- Urban, D.L., O'Neil, R.V. & Shugart, Jr., H.H. 1987. Ecología de Paisaje. Una perspectiva jerárquica puede ayudar a los científicos a comprender patrones espaciales. Bioscience 37 (2): 119-127.

**ASPECTOS QUIMICOS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE
STICTOSIPHONIA HOOKERI (RHODOMELACEAE, RHODOPHYTA).**

**Chemistry aspects and Biological Activity of Extracts from *Stictosiphonia hookeri*
(Rhodomelaceae, Rhodophyta).**

Córdoba Osvaldo L.¹, Mrla Clarisa J.², Rico Alicia², Flores María L.³

¹Química Biológica II y ³Farmacognosia, CRIDECIT; ²Biología Celular. Facultad de Ciencias Naturales – Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Km. 4, 9000, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina. *E-mail: osvmar@unpata.edu.ar

RESUMEN

Stictosiphonia hookeri (Harvey) J. D. Hooker et Harvey es una Rhodophyta marina ampliamente distribuida en el hemisferio sur. Preferentemente se desarrolla sobre sustratos rocosos y se halla expuesta a fluctuaciones continuas de salinidad y temperatura. Los ejemplares para el presente estudio fueron colectados en Punta Maqueda (46° 1'S; 67° 35'W), en verano. Parte del material fue secado a temperatura ambiente y bajo techo, molido, tamizado, pesado y extraído con etanol. El extracto etanólico se fraccionó mediante cambios de pH y extracción con solventes de distinta polaridad. Todas las fracciones se analizaron en su composición química y actividad biológica. El estudio químico evidenció sustancias de naturaleza fenólica relacionadas con los flavonoides y quinonas (monómeros y dímeros del tipo sennósidos); alcaloides (sales de amonio cuaternario con núcleo isoquinolínico), hidratos de carbono, esteroides, lípidos y proteínas. El bioensayo de inhibición del desarrollo de las raíces de trigo (ensayo primario para detectar una posible actividad antitumoral, o una estimulación del crecimiento de plántulas), dio resultados interesantes de tipo dosis dependiente: 16,2 % de inhibición por la dilución al 0,5 % del extracto alcohólico y una estimulación >20 % con la dilución al 0,05 %. La actividad antioxidante fue moderada, mostrando una capacidad del 37 %.

Palabras clave: *Stictosiphonia hookeri* – metabolitos de algas marinas – bioactividad – sustancias fenólicas – hidratos de carbono – Golfo San Jorge.

ABSTRACT

Stictosiphonia hookeri (Harvey) J. D. Hooker *et* Harvey is a marine Rhodophyta widely distributed in the Southern Hemisphere. It mainly grows on rocks and it is exposed to continuous salinity and temperature fluctuations. The specimens for the study were collected in Punta Maqueda (46° 1'S; 67° 35'W), in summer. Samples were dried at room temperature and indoors, milled, sifted, weighted and extracted with ethanol. The ethanolic extract was fractioned by pH changes and extraction with solvents of different polarity. The chemical composition and biological activity of all the fractions were analyzed. The chemical study evidenced phenolic substances related with the flavonoids and quinones (monomers and dimers of the sennosides type); alkaloids (salts of quaternary ammonium with isoquinoline nucleus), carbohydrates, steroids, lipids and proteins. The wheat roots development inhibition bioassay produced interesting results of dependent dose type: 16.2 % inhibition for the dilution to 0.5 % of the alcoholic extract and stimulation >20 % for the dilution to 0.05 %. The antioxidant activity was moderate, showing a capacity of 37 %.

Key words: *Stictosiphonia hookeri* – metabolites of seaweeds – bioactivity – phenolic substances – carbohydrates – San Jorge Gulf.

INTRODUCCION

La subfamilia Bostrychioideae (familia Rhodomelaceae, orden Ceramiales) comprende los géneros *Stictosiphonia* y *Bostrychia* (King y Puttock, 1989). Ambos géneros han sido diferenciados teniendo en cuenta ciertos caracteres, destacándose diferencias a nivel tisular y de tipo bioquímica. Así, *Stictosiphonia* comprende especies que poseen de tres a más filas de células a partir de cada célula pericentral, mientras que *Bostrychia*, dispone de dos hileras de células. En cuanto a características bioquímicas, se ha tenido en cuenta la producción de determinados hidratos de carbono de bajo peso molecular (Karsten *et al.*, 1990, 1992, 1996, 2003). De esa forma, para *Stictosiphonia* se ha descrito tan solo D-sorbitol, mientras que *Bostrychia* produce D-sorbitol y D-dulcitol (Karsten *et al.*, 1990, 1992). Estudios más

recientes basados en características filogenéticas indican que ambos géneros en realidad podrían ser uno solo (Zuccarello y West, 2006).

En particular, para el género *Stictosiphonia* han sido reconocidas seis especies: *S. hookeri* (Harvey) J. D. Hooker & Harvey [= *S. intricata* (Bory de Saint-Vincent) PC. Silva]; *S. kelanensis* (Grunow & Post) King & Puttock; *S. tangatensis* (Post) King & Puttock; *S. vaga* (J. D. Hooker & Harvey) J. D. Hooker & Harvey; *S. arbuscula* (J. D. Hooker & Harvey) King & Puttock y *S. gracilis* King & Puttock.

Stictosiphonia hookeri es una especie ampliamente distribuida en el hemisferio sur (30° S - 55° S). Se desarrolla preferentemente sobre sustratos rocosos formando un "césped" denso de coloración púrpura a marrón intenso, hallándose expuesta a

fluctuaciones continuas de salinidad y temperatura (King y Puttock, 1989). Su ciclo de vida es semejante al de *Polysiphonia*, siendo las desviaciones más importantes, la presencia de gametofitos unisexuales que se convierten en bisexuales produciendo carposporofitos viables y la reproducción sexual por biesporangios no meióticos.

Estudios relacionados con el metabolismo para analizar qué sustancias le permitirían soportar las amplias variaciones observadas en el hábitat, como son fluctuaciones diarias en las mareas y en la temperatura, alta exposición a la luz solar, estrés osmótico y desecación (Davison y Pearson, 1996), han demostrado que biosintetiza hidratos de carbono reducidos, fundamentalmente D-sorbitol (Karsten *et al.*, 1996). Para *S. arbuscula* se han descrito enzimas antioxidantes que le aportarían tolerancia a la desecación (Burritt *et al.*, 2002).

En general se la encuentra en comunidades con otras algas rojas, entre ellas especies de *Gelidium* y *Centroceras* y con algunos invertebrados.

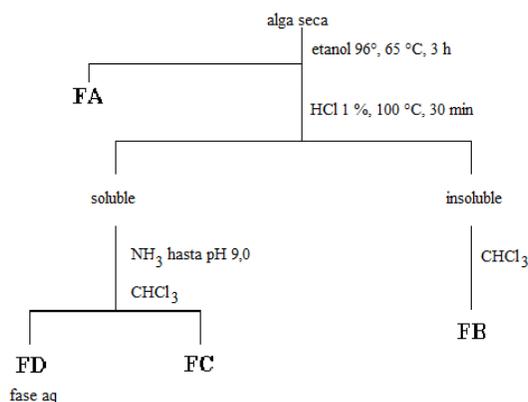
En el marco de la investigación de recursos marinos regionales de potencial aplicación en Salud que estamos desarrollando, comenzamos a estudiar esta especie con el objetivo de analizar aspectos relacionados con la química y las propiedades biológicas. En este trabajo se presentan los resultados preliminares alcanzados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del material y extracción

Los ejemplares fueron colectados en Punta Maqueda (46° 1'S; 67° 35'W), en enero de 2004, registrándose una temperatura del agua de 15,3 °C. Sobre material fresco se efectuaron cortes histológicos a mano alzada que fueron observados en un microscopio óptico. Para los estudios químicos y bioensayos, los ejemplares fueron secados a temperatura ambiente y bajo techo, seleccionados, molidos y tamizados. A 35 g de material se les realizó una marcha fitoquímica obteniéndose cuatro fracciones (Figura 1).

Figura 1: Esquema de extracción y fraccionamiento.



Análisis químico y perfiles cromatográficos

Cada fracción se analizó en su composición química mediante reacciones cualitativas usuales de identificación de lípidos, esteroides, alcaloides, fenoles (flavonoides, taninos, quinonas) e hidratos de carbono (Rondina y Coussio, 1969; Harborne, 1991).

Las fracciones enriquecidas en compuestos de naturaleza flavonoide se analizaron mediante cromatografía planar sobre papel Whatman N° 1, con BAW (*n*-propanol-ácido acético-agua, 4:1:5) y Forestal (ácido clorhídrico concentrado-ácido acético-agua, 3:30:10) como fases móviles. Se utilizó como estándar la rutina. Los revelados se efectuaron con luz natural, UV (365 nm) sin y con previo tratamiento con vapores de amoníaco y FeCl₃ al 1%, en ese orden (Harborne, 1991).

Una alícuota de la Fracción B (clorofórmica), se sometió a una cromatografía analítica en capa fina de Sílicagel G60 previamente activada y *n*-propanol-acetato de etilo-agua (40:40:30) como fase móvil, empleando como estándares extracto de sen y rutina, a fin de analizar el perfil de las quinonas presentes. Se reveló con luz natural, UV (365 nm), vapores de amoníaco seguido de luz UV, HNO₃-KOH al 5 % y calor, en ese orden (Wagner *et al.*, 1984).

Una alícuota de la Fracción D se separó mediante cromatografía analítica en capa fina de Sílicagel G60 previamente activada y *n*-propanol-ácido fórmico-agua (90:1:9) como fase móvil para analizar los alcaloides. Se utilizó como estándar berberina. Se reveló con luz natural, UV (365 nm) y Reactivo de Dragendorff (Wagner *et al.*, 1984).

También se determinaron los perfiles de lípidos y de pigmentos presentes en el extracto alcohólico. Para los lípidos se realizó una cromatografía en capa fina de Sílicagel G60, previamente activada en estufa a 110 °C por 10 min y saturada con una solución acuosa de sulfato de amonio al 2 %. Como fase móvil se utilizó (CH₂)₃CO - C₆H₆ - H₂O (91:30:8), como sustancia de referencia ácido palmítico y el revelado fue con luz natural, UV y vapores de yodo, en ese orden (Hellebust y Craigie, 1978).

Los pigmentos fueron evidenciados mediante una cromatografía en capa fina de Sílicagel G60 previamente activada, con CH₂Cl₂ - H₃COOC₂H₅ (4:1) como fase móvil. Como marcador positivo se utilizó un extracto acetónico de zanahoria. Se reveló con luz natural y UV, en ese orden.

Estudios de bioactividad

Para la determinación de la actividad biológica, se empleó el ensayo de inhibición de la elongación de raíces de semillas de trigo (bioensayo que se correlaciona con una probable actividad antitumoral), para el cual se utilizaron los granos de trigo *Triticum sativum* var. Klein pegaso, diluciones al 0,5 % y 0,05 % en agua corriente de la Fracción A, agua corriente como control negativo y Sulfato de Vinblastina al 0,02 % como control positivo. Se efectuaron duplicados en todos los casos. (Desmarchelier *et al.*, 1995).

Por otra parte se evaluó la actividad antioxidante según Koleva *et al.* (2002), para lo cual se utilizó el método de inhibición del DPPH (radical 2,2'-difencil-1-picrilhidracilo), con etanol absoluto como solvente y control negativo y BHT (butilhidroxitolueno) como control positivo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Estudios biológicos

S. hookeri presentó aspecto filamentososo, talo ramificado con ejes indeterminados postrados de diámetro menor el de los ejes erectos, coincidente con la bibliografía (West *et al.*, 1993, 1996) (**Figura 2**). El color rojo oscuro le otorgaba un aspecto negruzco a simple vista.

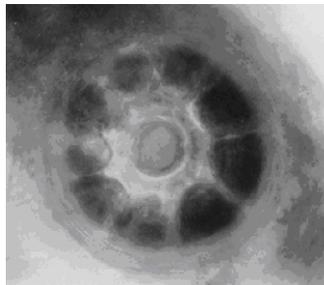
Los transcortes del talo mostraron células centrales y pericentrales con el característico ordenamiento polisifónico descrito para la especie (King y Puttock, 1989). Sin embargo se observaron 9

células pericentrales, a diferencia de lo expuesto por dichos autores (5 a 8). Las paredes celulares evidenciaron un destacado grosor (**Figura 3**). El corte longitudinal mostró células regulares hexagonales y un gran número de cromatóforos, dispuestos en 3 hileras. El diámetro celular promedio fue de 29 μm y la longitud celular promedio de 26,21 μm , coincidiendo con los rangos indicados por King y Puttock (1989). La fijación al sustrato se efectúa mediante periferohapterios, en donde las células rizoidales surgen de las pericentrales..

Figura 2. Aspecto macroscópico de *Stictosiphonia hookeri*.



Figura 3. Corte transversal del talo de *Stictosiphonia hookeri* (40x).



Estudios químicos

El screening químico evidenció la presencia de sustancias de naturaleza fenólica, (destacándose derivados de flavonoides y quinonas), hidratos de carbono, esteroides, alcaloides y lípidos (**Tabla I**).

Los flavonoides pudieron ser observados en la Fracción A (extracto crudo o total) y en la fracción acuosa final (Fracción D) resultante del fraccionamiento efectuado.

Los hidratos de carbono de bajo peso molecular fueron importantes en la Fracción A. Las proteínas también fueron identificadas, pero en un extracto acuoso preparado para su análisis directo, en donde también se detectaron hidratos de carbono y fenoles (flavonoides y polifenoles).

Las quinonas fueron detectadas en la Fracción B y correspondieron a antraquinonas y dímeros de antronas.

Los esteroides se detectaron en la Fracción C. Respecto de los alcaloides,

sólo evidenció la presencia de sales de amonio cuaternario (Fracción D).

Respecto de los lípidos, resultaron mayoritarios los de naturaleza neutra y los galactosildiacilglicéridos. Se determinó también la presencia de clorofila a, zeaxantina y restos de carotenos.

En general es escasa la información respecto de los metabolitos secundarios de *Stictosiphonia* ya que la mayor parte de los antecedentes se relacionan con los productos de la biosíntesis primaria, especialmente con los hidratos de carbono (Karsten *et al.*, 1996).

Los grupos químicos detectados en *S. hookeri* resultan interesantes por su potencial aplicación en Salud. Pero además lo son desde otros aspectos, como la relación con el hábitat particular de la especie, capacidad de supervivencia e importancia taxonómica. En particular las quinonas y los alcaloides podrían tener relación con la adecuación a un medio ambiente especial de la especie.

Tabla I: Resultados del screening químico de *Stictosiphonia hookeri*.

Fracción	Grupo químico	Resultado
A	flavonoides	+
	OH fenólicos	+ (1 OH)
	taninos	-
	lípidos	+
	hidratos de carbono	++
B	esteroides	-
	triterpenos	-
	antraquinonas	+
	antronas / antranoles	-
	diantronas	+
	cardenólidos	-
C	alcaloides	-
	esteroides	+
	cardenólidos	-
	leucoantocianidinas	-
D	alcaloides de NH ₄ ⁺	+
	flavonoides	+

Dados los resultados químicos obtenidos, se efectuaron análisis cromatográficos de las fracciones que resultaron positivas para flavonoides, derivados de alcaloides y quinonas.

Respecto de los flavonoides, los perfiles cromatográficos permitieron corroborar la presencia de sustancias de dicha naturaleza, detectándose derivados de la apigenina y de la luteolina, presumiblemente acacetina y diosmetina (Tabla II). Yoshie *et al.* (2002) habían mencionado la presencia de compuestos relacionados en algas marinas de Japón.

Por otra parte, el análisis de los alcaloides mediante el perfil cromatográfico desarrollado, mostró tres sustancias al revelar con luz UV de las cuales sólo una ($R_f = 0,06$), dio resultado positivo con el Reactivo de Dragendorff. Por comparación con bibliografía (Wagner

et al., 1984) se pudo inferir que esa sustancia pertenece al grupo de derivados de la isoquinolina (probablemente del tipo hidrastina) (Tabla II).

Respecto de los derivados de quinonas, se detectó una sustancia correspondiente a un derivado dimérico tipo sennósido B, con un $R_f = 0,21$ en el sistema utilizado (Tabla II). Resultó importante además de la coincidencia de R_f , el comportamiento semejante frente a los reveladores específicos para quinonas, de los componentes de la Fracción B en estudio con el evidenciado por los constituyentes del extracto de sen (*Cassia acutifolia*). Esto es, además del color verde oscuro con luz natural y opaco al UV, se observó el color pardo rojizo característico al revelar con ácido nítrico, nitrato de potasio y calor.

Tabla II. Resultados de los perfiles cromatográficos de los principales grupos químicos biosintetizados por *Stictosiphonia hookeri*.

Fracción	Grupo químico	Sustancia probable	R_f^*
A	flavonoide	acacetina	0,96
		diosmetina	0,84
		diglicósido de apigenina	0,16
D	flavonoide	acacetina	0,98
	sal de NH_4^+ de alcaloide isoquinolínico	hidrastina	0,06
B	quinona	tipo sennósido B	0,21

*Obtenidos en los sistemas cromatográficos indicados en el texto.

Actividad biológica

La evaluación de la capacidad de inhibición del desarrollo de las raíces de trigo, demostró que el extracto crudo de *S. hookeri* posee un efecto de tipo dosis dependiente, en donde a concentraciones de 0,5 % inhibe en un 16,2 % el crecimiento, lo cual resulta comparable con extractos muy activos de plantas superiores (Desmarchelier *et al.*, 1995). Contrariamente en concentraciones diez veces menores, produce una estimulación de un 25,8 % lo que podría indicar la presencia de sustancias fitoestimulantes en la muestra, pero acompañadas de otras que a determinada concentración producen un efecto inhibitorio. La **Tabla III** muestra los resultados obtenidos con las diluciones del extracto utilizadas, con el control negativo, agua corriente (cuyo efecto de desarrollo del crecimiento se considera el 100 %) y los resultados de la solución de vinblastina al 0,02 % usada como control positivo.

Al comparar los efectos producidos en las semillas relacionados con el número de raíces, presencia o no de raíces secundarias, pelos absorbentes

y desarrollos anómalos como protuberancias, se observaron sólo en la dilución de 0,5 % del extracto, la aparición de raíces secundarias. Ello es comparable a lo que genera la vinblastina, antitumoral usado como control positivo (**Tabla III**).

Por otra parte, la capacidad antioxidante del extracto alcohólico total, fue baja evidenciando un 28 % de inhibición. En el caso de la Fracción B, resultó moderada con un 37 % de inhibición. En el método empleado se considera potencial a partir de valores superiores al 30 %. No obstante ello, se debe tener en cuenta la posible interferencia debida a la presencia de otros metabolitos, además de aquellos a los que se les atribuye propiedades antioxidantes (fenoles, lípidos, hidratos de carbono), que pueden ejercer un antagonismo e impedir una inhibición mayor.

Teniendo en cuenta esos resultados, se determinó la SC₅₀ para la Fracción B, la cual fue superior a 400 µg/ml, demostrando que la capacidad antioxidante era baja.

Tabla III. Resultados del bioensayo de inhibición del desarrollo radicular de *Triticum sativum* var Klein pegaso, obtenidos a partir del extracto alcohólico de *S. hookeri*.

Dilución	Long. promedio de raíz más larga (cm)	Inhibición ↓ / Estimulación ↑ (%)	Observaciones
0,5 %	7,0	16,2 ↓	5-6 raíces por semilla, presencia de raíces secundarias
0,05 %	10,5	25,8 ↑	5-6 raíces por semilla
Control – (agua corriente)	8,2	-	4-6 raíces por semilla
Control + (Vinblastina al 0,02 %)	4,5	54,9 ↓	4-5 raíces por semilla, presencia de raíces secundarias, pelos absorbentes y protuberancias

CONCLUSIONES

Las algas marinas constituyen un valioso recurso para el ecosistema al que pertenecen ya que proveen de nutrientes, ambientes protectores y defensa a otros organismos. Ello se relaciona directamente con el patrón metabólico que desarrollan, en donde los hidratos de carbono, los fenoles y las sustancias nitrogenadas juegan un rol importante. Por ello constituyen además, un recurso potencial para su aplicación en diversas industrias, entre ellas la farmacéutica.

Los grupos detectados en *S. hookeri* resultan interesantes por su potencial aplicación en Salud. Pero además lo son desde otros aspectos, como lo es la relación con el hábitat particular de la especie, la capacidad de supervivencia y la importancia taxonómica. Los resultados obtenidos con *S. hookeri* permiten considerarla como promisoría para la obtención de sustancias de posible aplicación industrial y para el análisis de los aspectos ecológicos de la región.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo se realizó en el marco de los proyectos PNUD-ARG 02/018 B-B-34, PME 2003 N° 216 y PI 478 UNPSJB. O.L.C. y M.L.F. son integrantes de la Red RIPRONAMED-CYTED.

BIBLIOGRAFÍA

- Burritt, D. J.; Larkindale, J. & Hurd, C. L. 2002. Antioxidant metabolism in the intertidal red seaweed *Stictosiphonia arbuscula* following desiccation. *Planta*, **215**: 829–838.
- Davison, I. R. & Pearson, G. A. 1996. Stress tolerance in intertidal seaweeds. *J. Phycol.*, **32**: 197–211.
- Desmarchelier, C.; Mongelli, E.; Coussio, J.; Giulietti, A. & Ciccía, G. 1995. Etnobotánica y bioactividad de plantas medicinales utilizadas por un grupo indígena *Takana* de la Amazonia Peruana. *Acta Farm. Bon.*, **14** (3): 195-208.
- Harborne, J. B. 1991. *Phytochemical Methods*, 2nd Ed, Chapman and Hall.
- Hellebust, J. & Craigie, J. 1978. *Physiological and Biochemical methods*. Cambridge University Press, 512 pp.
- Karsten, U.; King, R. J. & Kirst, G. O. 1990. The distribution of D-sorbitol and D-dulcitol in the red algal genera *Bostrychia* and *Stictosiphonia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) - a reevaluation. *Br. Phycol. J.*, **25**: 363-366.
- Karsten, U.; West, J. A. & Zuccarello, G. 1992. Polyol content of *Bostrychia* and *Stictosiphonia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from field and culture. *Bot. Mar.*, **35**: 11-19.
- Karsten, U.; Koch, S.; West, J. A. & Kirst, G. O. 1996. Physiological responses of the eulittoral macroalga *Stictosiphonia hookeri* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from Argentina and Chile: salinity, light and temperature acclimation. *Eur. J. Phycol.*, **31**: 361-368.
- Karsten, U.; West, J. A.; Zuccarello, G. C.; Engbrodt, R.; Yokoyama, A.; Hara, Y. & Brodie, J. 2003. Low molecular weight carbohydrates of the *Bangiophycidae*

SULFOSALES DE PLATA DEL YACIMIENTO MINA MARTHA, MACIZO DEL DESEADO, PROVINCIA DE SANTA CRUZ, ARGENTINA.

Ag sulfosalts of Mina Martha deposit, Deseado Massif, Santa Cruz province, Argentina.

Genini, A.¹, Nillni, A.¹ y Bernhardt, H-J.²

¹Departamento de Geología. UNPSJB. E-mail: geniniadolfo@yahoo.com.ar
adriananillni@yahoo.com.ar

² Zentrale Elektronenmikrosonde, Inst. f. Geologie, Mineralogie und Geophysik., Ruhr Universität, Bochum. Alemania . E-mail:heinz-juergen.bernhardt@rub.de

RESUMEN

Mina Martha se ubica en el extremo sur occidental del Macizo del Deseado. Representa en la actualidad la mina de plata en producción más importante de la Argentina. Las leyes iniciales, con sectores de hasta un 22% de Ag/tn, permitieron su explotación.

Este tipo de mineralización epitermal asociada al volcanismo jurásico, definen la provincia auroargentífera del Deseado (Schalamuk et al., 1999)

Con el objeto de identificar y caracterizar la mineralogía presente, se estudiaron muestras correspondientes a dos pulsos mineralizantes, utilizando microscopía de reflexión y microsonda electrónica. Se realizaron en este último caso, aproximadamente 300 análisis de 10 muestras de sulfosales de Ag y sulfuros. Como resultado se identificaron: pirargirita, tetraedrita, freibergita, miargirita, polibasita y diaforita acompañadas por pirita, calcopirita, esfalerita, galena, arsenopirita, bismutinita, argentita y Ag nativa.

La diaforita es mencionada por primera vez, no sólo en este depósito, sino además, dentro del ámbito del Macizo del Deseado. Existe prácticamente una variación continua en la composición química entre freibergita-tetraedrita argentífera- tetraedrita.

Palabras clave: Macizo del Deseado, yacimientos epitermales, sulfosales de plata, microsonda electrónica.

ABSTRACT

Mina Martha is located in the southwestern of Deseado Massif. It currently represents the silver mine with the most important production of Argentina. The initial high concentration of silver with sectors of up to 22 % of Ag/tn, allowed its exploitation.

This type of epithermal mineralization associated with the Jurassic vulcanism, defines the auroargentiferous province of Deseado Massif (Schalamuk et al., 1999).

In order to identify and to characterize the present mineralogy, samples corresponding to two mineralization phases, were studied using reflected light microscopy and the electron microprobe analyzer. On 10 different samples approximately 300 analyses of Ag sulfosalts and sulfides were carried out. It was possible to identify pyrargirite, tetrahedrite, freibergite, miargyrite, polibasite and diaphorite as well as pyrite, chalcopyrite, sphalerite, galena, arsenopyrite, bismutinite, argentite and native Ag.

Diaforite is observed for the first time not only in this deposit but in addition inside the area of Deseado Massif. A constant variation exists practically in the chemical composition between freibergite-tetrahedrite silver-bearing - tetrahedrite.

Key words: Deseado Massif, epithermal deposits, Ag sulfosalts, electronic microprobe.

INTRODUCCION

Mina Martha se ubica en el extremo sur occidental de los afloramientos jurásicos del Macizo del Deseado (Fig. 1). Representa en la actualidad la mina de plata en producción más importante de la Argentina en términos de contenidos metálicos. Las leyes iniciales, con sectores de hasta un 22% de Ag/tn, permitió iniciar su explotación (Yamana Resources Inc, 2001) con ley de corte en los 5000 gr/tn. Actualmente es propiedad de la empresa Coeur d' Alene Mines Corporation, quien explota la mina en base a unas 300 tn/día de una mena con ley de 2kg Ag/ tn, con destino de procesamiento en Chile, en la planta de Cerro Bayo en las cercanías de Chile Chico y unas 2000 tn/ mes de una mena con poco mas de 10 Kg Ag/ tn que es embarcada con destino a Bélgica.

La mineralización de Mina Martha fue descrita por Gonzalez Guillot et al. (2004). Estos autores la definen como un depósito epitermal de sulfuración intermedia (Hedenquist et al., 2000) por su elevada relación Ag/Au entre 900 y 1000 y alta proporción de metales base.

En este trabajo se presentan los resultados químicos realizados sobre la mineralización de Ag en base a datos de aproximadamente 300 análisis a partir de 10 muestras. Se utilizó para tal fin una Microsonda Electrónica CAMECA SX 50 que se encuentra en la Universidad del Ruhr, Bochum, Alemania.

Por otro lado el estudio de secciones pulidas por medio de microscopía de reflexión, permitió identificar a la mayoría de los sulfuros de metales base y algunas sulfosales como pirargirita, polibasita y freibergita.

AMBIENTE GEOLÓGICO

Se enmarca en el ámbito de la Provincia Geológica del Macizo del Deseado y, en especial desde el punto de vista metalogénico, vinculado al volcanismo jurásico, al que se asocian las mineralizaciones epitermales que definen la provincia auroargentífera del Deseado (Schalamuk et al., 1999)

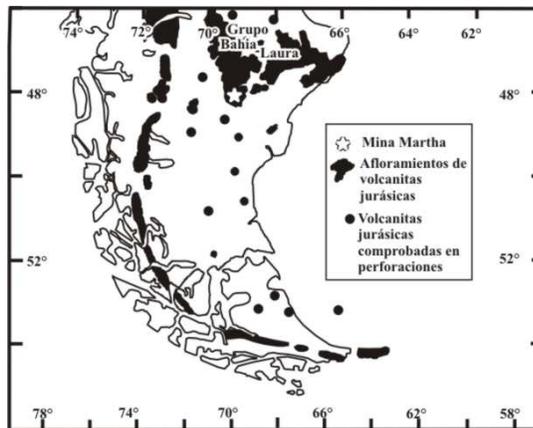
Este volcanismo, de edad mesozoica media a superior, conforma un extenso plateau ignimbrítico producto de la extrusión de flujos piroclásticos de composición riolítica-dacítica dominante. Petrogenéticamente se caracteriza por derivar de magmas subcalinos, hipersilíceos y peraluminosos con alto contenido en potasio, característicos de áreas de prerift en zonas de intraplaca continental.

Este evento, ha sido habitualmente denominado Grupo Bahía Laura con dos unidades principales, la Formación Chon-Aike (ignimbrítica-lávica-dómica) y la

Formación La Matilde (tobácea -tuffítica). Los estudios realizados en los últimos años por el Segemar (Servicio Geológico Minero), en el marco de su programa de Hojas Geológicas a escala 1: 100.000 ha permitido establecer nuevas pautas en la consideración del volcanismo jurásico, que ha llevado a Martínez, H. (2007) a proponer que más que a procesos independientes y sucesivos, los productos volcánico-piroclásticos responden a un mismo proceso donde los mecanismos explosivos y de transporte jugaron un rol protagónico. Consecuente con esta interpretación se propone como unidad al Complejo Volcánico Bahía Laura, caracterizado por facies volcanoclástica (sub-facies de caída y de flujo); facies lávico-intrusiva; facies epiclástica y facies de surges.

La edad del Complejo Volcánico Bahía Laura ha sido fijada (Zubia y Genini, 2003) entre 159,4 Ma a 172 Ma (Bayociano-Calloviano).

Figura 1: Mapa en el que se observa la ubicación del yacimiento. Mina Martha y afloramientos de volcanismo jurásico.



MINERALIZACIÓN

El yacimiento argentífero de Mina Martha está formado por una serie de vetas alojadas en las rocas del Complejo Volcánico Bahía Laura, facies volcánico-clástica.

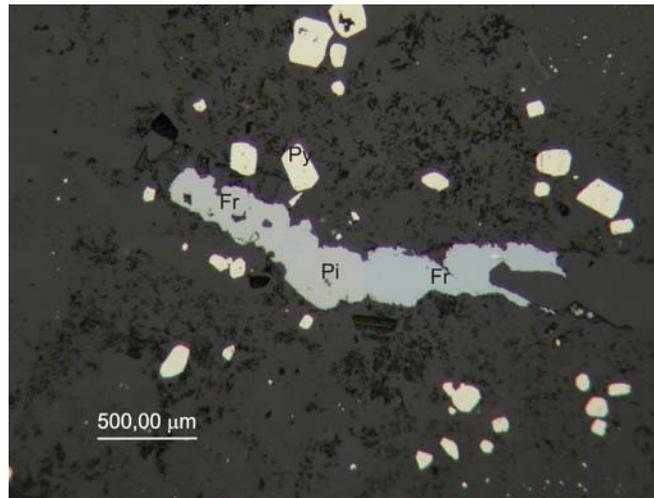
Las estructuras mineralizadas tienen un rumbo general ONO, son prácticamente verticales y totalizan aproximadamente unos 10 kilómetros de longitud. La disposición en planta de estas estructuras refleja claramente un diseño en cola de caballo. La alteración hidrotermal de la roca de caja está formada por cuarzo-adularia, además de minerales como sericita, pirita y arcillas.

Las vetas son de relleno de fracturas con varios eventos de reactivación evidenciados, según Gonzalez Guillot et al. (2004), por la presencia de

distintos pulsos de brechamientos y mineralizaciones. Para el autor citado, la mineralización de Ag se encuentra asociada a los pulsos que el mismo denomina B y C.

En este trabajo se analizaron las sulfosales de Ag y otros sulfuros que corresponderían a estos pulsos mineralizantes: el primero formado por ganga de cuarzo-adularia de grano muy fino, sulfuros de metales base y sulfosales de plata. Dentro de los sulfuros, el principal es calcopirita acompañada por argentita; entre las sulfosales de Ag se establecieron tetraedrita argentífera, freibergita, mineral considerado de la familia de la tetraedrita con más de 20 % de Ag, polibasita y probable stephanita; en menor proporción se encontró plata nativa (Fig. 2).

Figura 2: Fotomicrográficas obtenidas con microscopio de reflexión. Po: polibasita, Pi: pirargirita, Fr: freibergita, Tr: tetraedrita, Py: pirita.

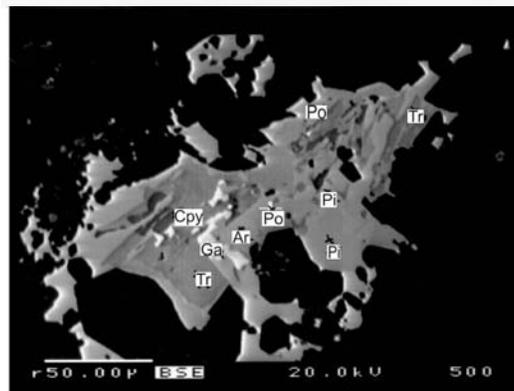
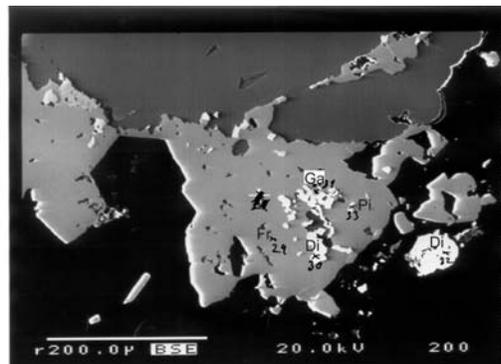


El segundo pulso está formado por cuarzo y adularia con textura maciza, brechosa y en peine y venillas de sulfosales de Ag determinadas como pirargirita, tetraedrita argentífera, freibergita, polibasita y probable stephanita, miargirita

y diaforita; además Ag nativa, electrum y argentita (Fig. 3)

Otros minerales metalíferos presentes son: arsenopirita, marcasita, enargita y bismutinita, los que asignamos al primer pulso.

Figura 3: Fotomicrografías obtenidas a partir de electrones retrodispersados (BSE). Po: polibasita, Pi:pirargirita, Fr: freibergita, Tr: tetraedrita, Di: diaforita, Ar: argentita, Py: pirita, Cpy: calcopirita, Ga: galena.



COMPOSICIÓN QUÍMICA

En la Tabla I se muestran las composiciones químicas de las sulfosales presentes, en comparación con las correspondientes del yacimiento Manantial Espejo, que es con las que se han encontrado mayores similitudes y con la composición teórica de las mismas especies.

La pirargirita tiene una composición promedio comparable con la de Manantial Espejo (Tabla I; Brodtkorb, 2002), aunque en este último yacimiento no presenta contenidos en Cu. Si se compara a la freibergita, muchas veces descripta como tal por encontrarse en una paragénesis argentífera, se observa que contiene

menos Sb y Ag, pero más Cu que la correspondiente de Manantial Espejo (Tabla I; Brodtkorb, 2002). La polibasita de la misma manera que la freibergita se presenta con mayor contenido en Cu y menos Sb, aunque el mismo porcentaje en peso de Ag.

La tetraedrita, siempre comparando con el mismo yacimiento, es de naturaleza claramente argentífera. El contenido en Ag promedio es cercano al 17 % y disminuye considerablemente la presencia de Cu.

Por último, la miargirita, presenta una composición muy similar a la miargirita teórica (Anthony et al., 1990) y como en la pirargirita, posee pequeñas concentraciones de Cu y A.

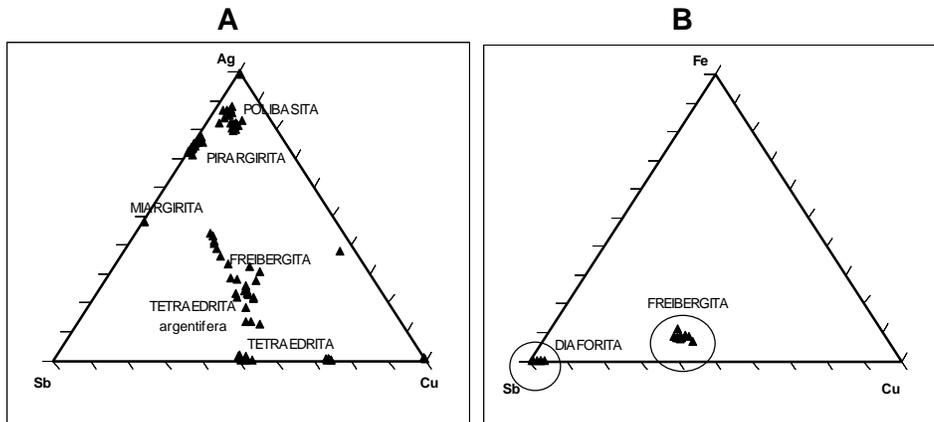
Tabla I: Composición química en % en peso de las sulfosales de Ag del Yacimiento Mina Martha. Contiene hasta 2,5 % en peso de Se más Cu, Zn, As y Bi.

Pirargirita			Tetraedrita argentífera			Freibergita			
	Manantial Espejo	Teórico	Mina Martha	Manantia l Espejo	Teórico	Mina Martha	Manantia l Espejo	La Pilarica	Mina Martha
S	16,68	17,76	16,40	25,36	25,01	23,44	20,16	21,25	21,46
Ag	61,82	59,76	59,74	0,09	-	17,18	30,88	45,60	28,41
Sb	21,23	22,48	20,79	27,45	29,22	24,12	26,42	23,20	25,14
Cu	-	-	0,34	41,38	45,77	25,51	14,86	4,10	16,80
Bi	-	-	0,02	-	-	0,07	-	-	-
As	0,42	-	0,84	1,43	-	2,80	0,34	0,20	1,17
Fe	-	-	-	1,55	-	2,76	3,08	-	4,29
Zn	-	-	-	1,92	-	3,87	2,16	-	2,60
Pb	-	-	-	0,21	-	-	-	-	-
Polibasita			Miargirita			Diaforita*			
	Manantial Espejo	Teórico	Mina Martha	Manantia l Espejo	Teórico	Mina Martha	Manantia l Espejo	Teórico	Mina Martha
S	13,54	-	14,78	-	21,83	21,53	-	18,87	17,98
Ag	68,89	-	68,81	-	36,72	37,61	-	23,78	26,73
Sb	16,42	-	9,21	-	41,45	40,14	-	26,87	25,86
Cu	0,18	-	6,89	-	-	0,29	-	-	-
Bi	-	-	-	-	-	1,05	-	-	-
As	0,09	-	0,44	-	-	-	-	-	-
Fe	0,08	-	0,04	-	-	-	-	-	-
Zn	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pb	-	-	-	-	-	-	-	30,48	26,95

Las composición química de las sulfosales ha sido graficada en diagramas triangulares Ag-Sb-Cu y Sb-Cu-Fe en los cuales se pueden apreciar los campos de pirargirita, freibergita, tetraedrita-tetraedrita argentífera, sulfosales que se encuentran en mayor cantidad, así como la presencia de polibasita y miargirita (Fig. 4a). En la Fig. 4b se define el campo de

freibergita-tetraedrita y de diaforita ($Pb_2Ag_3Sb_2S_8$), mineral que no había sido descrito hasta el momento en este yacimiento y tampoco en el Macizo del Deseado y que puede compararse con la diaforita teórica (Anthony et al., 1990), de la cual se diferencia por el mayor contenido en Ag y menores contenidos de Pb y Sb.

Figura 4: A: Diagrama triangular en base a los contenidos en Ag, Sb y Cu (% en peso), correspondientes a muestras de los dos pulsos estudiados (B y C). Se observan los campos definidos de las distintas sulfosales de Ag. B: Diagrama triangular en base a los contenidos en Sb, Cu y Fe (% en peso), realizado con los datos de los análisis de la Muestra 3b (pulso C). Se observan claramente los campos freibergita (tetraedrita) y diaforita (Pb) con escaso Fe y Cu.



CONCLUSIONES

Se ha determinado la existencia de un tren prácticamente continuo entre freibergita - tetraedrita-argentífera - tetraedrita, que se evidencia por las variaciones composicionales en todas las proporciones posibles entre tetraedrita y tetraedrita argentífera con valores desde casi 0 % a 20 % en peso de Ag.

De la comparación composicional de las sulfosales con las presentes en otros yacimientos del Macizo del Deseado, surge que tanto la pirargirita como la freibergita, sulfosales que se encuentran en mayor proporción, presentan notables coincidencias con las correspondientes de Manantial Espejo, excepto por la presencia de mayor contenido en Cu. Esto

podría indicar que no sólo ambos depósitos se ubican sobre una misma característica estructural, sino que también es probable que representen procesos muy cercanos tanto en lo temporal como en las condiciones fisicoquímicas de formación y las fuentes mineralizantes.

Tanto la pirargirita como la polibasita representan campos perfectamente diferenciados. Esta última en comparación con la polibasita de Manantial Espejo posee un contenido bastante mayor de Cu y menor de Sb

Se ha determinado la presencia de diaforita, mineral que no había sido mencionado hasta el momento dentro del ámbito del Macizo del Deseado. A diferencia de una diaforita teórica, la diaforita de Mina Martha presenta mayor contenido en Ag, en promedio y menor en Pb y Sb, lo cual refleja su asociación a un depósito muy rico en Ag.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa Yamana Resources Inc. por habernos posibilitado trabajar en la mina y poder contar con muestras para su análisis y más tarde a la empresa Coeur D'Alene Mines Corporation, que permitió que obtuviéramos más material para trabajar

BIBLIOGRAFÍA

Anthony, J. W., Bideaux, R. A., Bladh, K. W. and Nichols, M. C., 1990. *Handbook of Mineralogy series Elements, Sulfides, Sulfosalts*. Volume I. Mineral Data Publishing (Editor), Tucson, Arizona.

Brodtkorb, M. K. de, 2002. Las especies minerales de la República

Argentina. Tomo I. Milka K. de Brodtkorb (Editor). Asociación Mineralógica Argentina. ISBN 987-43-5059-8.

González Guillot, M., De Barrio, R. y Ganem, F., 2004. Mina Martha, un yacimiento epitermal en el Macizo del Deseado, prov. de Santa Cruz. 7º Congreso de Mineralogía y Metalogenia. 2004, pág. 199-204. Río Cuarto

Hedenquist, J., Arribas, A. y González-Urien, E., 2000. Exploration for epithermal gold deposits, *Reviews in Economic Geology*, V 13: 245-278.

Martinez, H., 2007. Nueva Estratigrafía para el Vulcanismo Ácido Jurásico. SEGEMAR. Informe Inédito.

Schalamuk, I., De Barrio, R, Zubia, M., Genini, A. y Echebeste, H., 1999. Provincia Auroargentífera del Deseado, Santa Cruz. En: Recursos Minerales de la República Argentina (Ed. E. Zappettini), Instituto de Geología y Recursos Minerales SEGEMAR, Anales 35: 1177-1188.

Yamana Resources Inc., 2001. Yamana's Bacon silver grades unparalleled in modern times. News Release (Qz -99 – 11) - Mayo 25, 1999.

Zubia M. y Genini, A., 2003. Yacimientos auroargentíferos epitermales del Macizo del Deseado. Provincia de Santa Cruz. Serie Contribuciones Técnicas. Recursos Minerales 13/D. SEGEMAR. Buenos Aires.

OSTEOHISTOLOGÍA DE LA VIGA SUPRANEURAL DEL SACRO DEL
TITANOSAURIO *EPACHTHOSAURUS SCIUTTOI*
(CRETÁCICO TARDÍO DEL CHUBUT).

Osteohistology of the Supraneural Stripe of the Sacrum of *Epachthosaurus sciuttoi*
(Late Cretaceous of Chubut)

Giménez Olga¹, Salgado Leonardo², Cerda Ignacio A.²

¹ Dpto. Biología General, Facultad de Ciencias Naturales de la UNP "SJB", KM4, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina. ogimenez@unpata.edu.ar

² CONICET-INIBIOMA, Museo de Geología y Paleontología, Universidad Nacional del Comahue, Buenos Aires 1400, Neuquén, Argentina. lsalgado@uncoma.edu.ar; nachocerda6@yahoo.com.ar

RESUMEN

Se describe la osteohistología de la estructura en forma de viga que conecta las espinas neurales sacras de *Epachthosaurus sciuttoi*, un saurópodo titanosaurio de la Formación Bajo Barreal, Cretácico Tardío temprano de la Provincia del Chubut, Patagonia, Argentina. Una estructura similar fue reportada en otros titanosaurios, por ejemplo, en *Malawisaurus* (Malawi, África) y en un Titanosauridae indet. (Peirópolis, Brasil). El análisis paleohistológico reveló que esta estructura está compuesta casi exclusivamente por hueso secundario, el cual contiene numerosos osteones. El origen metaplásico de tendones osificados en otros grupos de dinosaurios, sugiere este tipo de osteogénesis para la viga supraneural del sacro de *Epachthosaurus*, si bien no es imposible un modo de origen osteoblástico.

Palabras clave: *Epachthosaurus*, viga supraneural, osteohistología, osteogénesis.

ABSTRACT

The osteohistology of the stripe-like structure that connects the sacral neural spines of the sacrum of Epachthosaurus sciuttoi, a titanosaur sauropod from the Bajo Barreal Formation, early Late Cretaceous of the Chubut province, Patagonia, Argentina, is described. A similar structure was reported in other titanosaurs, for example, in Malawisaurus (Malawi, Africa) and in a Titanosauridae indet. (Peirópolis, Brazil). The paleohistologic analysis revealed that this structure is composed almost exclusively by secondary bone, which contains numerous osteons. The metaplastic origin of the ossified tendons in other groups of dinosaurs suggests this type of osteogenesis for the supraneural stripe-like structure of the sacrum of Epachthosaurus, though is not impossible an osteoblastic origin

Keywords: *Epachthosaurus, supraneural stripe, osteohistology, osteogenesis.*

INTRODUCCION

Los saurópodos en general y los titanosaurios en particular se cuentan entre los tetrápodos continentales más voluminosos y pesados de todos los tiempos. Como respuesta a su gran tamaño, los saurópodos, al igual que otros grupos de dinosaurios, desarrollaron una serie de importantes adaptaciones osteológicas, entre ellas, ciertas osificaciones extraordinarias originadas a partir de tendones o ligamentos.

En *Epachthosaurus sciuttoi* Powell 1990, un titanosaurio basal de la Formación Bajo Barreal (Cenomaniano tardío- Turoniano temprano, Cretácico Superior [Archangelsky *et al.*, 1994; Bridge *et al.*, 2000]), hallado en el sur de la Provincia del Chubut, se ha preservado una gruesa estructura en forma de un listón o viga, que conecta la superficie dorsal de las espinas neurales de las vértebras del sacro. Dicha estructura ha sido interpretada por Martínez *et al.* (2004) y Giménez y Salgado (2005) como un tendón o ligamento osificado. Una viga

ósea similar se presenta en otros saurópodos titanosaurios, como en un Titanosauridae indet., proveniente de Peirópolis, Brasil (Powell, 1997a, 2003), y en *Malawisaurus dixeyi* Haughton, 1928 (Malawi, África) (Gomani, 2005). Entre los saurópodos no-titanosaurios, sólo se han reportado tendones osificados en *Camarasaurus lentus* (Organ y Adams, 2005).

En esta contribución describimos esta estructura y la interpretamos desde un punto de vista funcional y evolutivo.

Abreviaturas Institucionales

DGM, Museo de la Divisão Geologia y Mineralogia, Río de Janeiro, Brasil; MACN, Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Buenos Aires, Argentina; MAL, Departamento de Colección de Antigüedades de Malawi, África; UNPSJB-PV, Universidad Nacional de la Patagonia "San Juan Bosco", Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

DESCRIPCIÓN

Morfología externa. La estructura ósea referida se dispone sobre la espina neural de la segunda, tercera, cuarta, y parte de la quinta vértebra sacra de *Epachthosaurus sciuttoii* (especimen UNPSJB-PV 920). La misma se ha preservado como una viga o listón óseo rectangular, ligeramente expandido en su extremo anterior, de 200 mm de ancho anteroposterior, 800 mm de longitud anteroposterior, y 50 mm de espesor (Figura 1 y Lámina 1 A). A lo largo de esta estructura se encuentran presentes estriaciones transversales.

Histología. Las muestras examinadas histológicamente provienen de tres sectores de la viga ósea supraneural de *Epachthosaurus sciuttoii* (Figura 1): una de la región anterior, a la altura de la primera vértebra del sacro (Lámina 1 B y C), otra del punto medio de la viga, a la altura de la tercera vértebra, y la tercera de la región posterior, a la altura

de la sexta vértebra. Las muestras histológicas fueron obtenidas siguiendo el procedimiento detallado en Chinsamy y Raath (1992). Las observaciones y fotografías se hicieron con microscopio de luz transmitida (Leitz).

El examen de la viga supraneural de *Epachthosaurus* revela la presencia de tejido vascularizado (Lámina 1 B y C), osteonal (formado por osteones), con numerosos osteones secundarios, aunque sin llegar a constituir hueso haversiano denso. En algunos sectores (Lámina 1 C), se observan osteones secundarios superpuestos (es decir, pertenecientes a diferentes generaciones), aunque en otros (Lámina 1 B y C), parece reconocerse un fondo de tejido primario. En general, los osteones secundarios se han preservado muy bien, pudiendo distinguirse perfectamente la línea de cementación que rodea la estructura osteonal, así como las lamelas concéntricas de hueso endosteal que rodean al canal vascular (Lámina 1C).

Figura 1. Sacro e ileones de *Epachthosaurus sciuttoii* (UNPSJB-PV 920) en vista dorsal. Los asteriscos indican los puntos de donde se extrajeron las muestras.



LAMINA 1. **A:** Vista Dorsal del sacro de *Epachthosaurus sciuttoi* (UNPSJB-PV 920); **B,** Osteohistología de la “viga” supraneural de *Epachthosaurus sciuttoi* a la altura de la primera vértebra sacra. 5X; **C,** La misma muestra con mayor aumento. 10X.

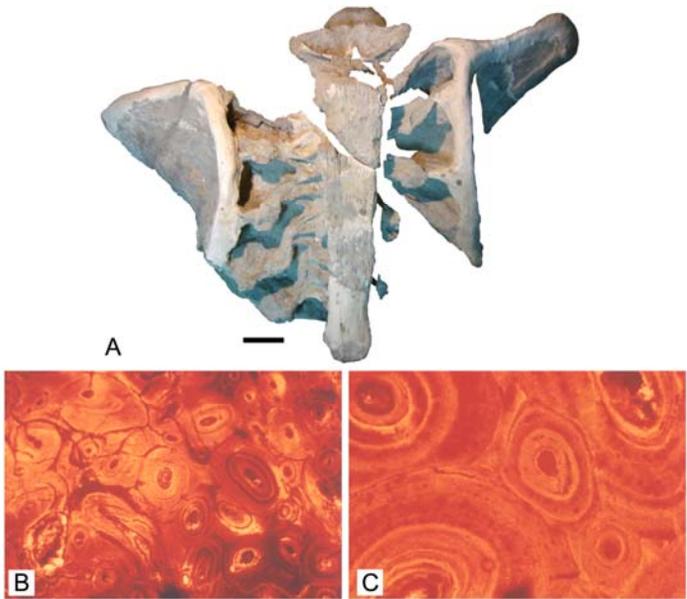
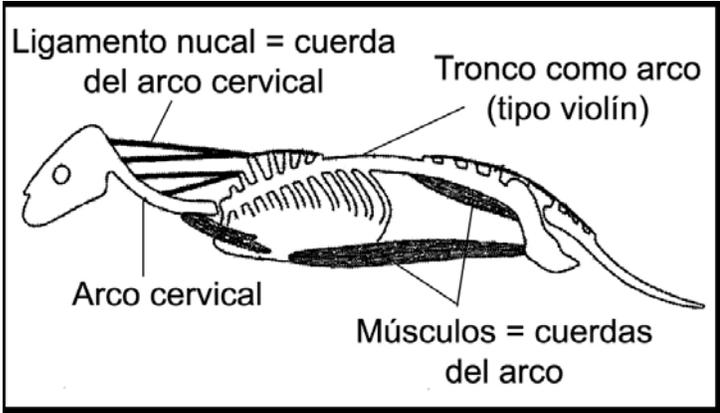


FIGURA 2. Modelo del sistema de arcos y cables que soportan el cuerpo, propuesto por Slijper (1946).



DISCUSIÓN

De acuerdo con nuestra interpretación, la viga ósea que se dispone sobre las espinas neurales del sacro de *Epachthosaurus sciuttoi* se ha desarrollado a partir de un tendón (o conjunto de tendones) o ligamento supraneural preexistente. En este sentido, nuestra opinión es coincidente con la de Martínez *et al.* (2004).

Evidentemente, el tejido que conforma la estructura rígida que recorre las espinas neurales del sacro de *Epachthosaurus* es secundario, no obstante, en algunas regiones puede observarse un fondo de hueso primario.

La osteogénesis del tejido primario de la viga supraneural de *Epachthosaurus* pudo darse por dos vías distintas. La primera de ellas, la *metaplasia*, es decir el proceso en el que las células de un tejido completamente diferenciado depositan la matriz inorgánica, sin la participación de osteoblastos (Haines y Mohuiddin, 1968). Este tipo de osificación ha sido bien estudiado en aves (Landis y Silver, 2002; Adams y Organ, 2005), en donde se ha observado que los *tenocitos* (células constituyentes de los tendones) son los encargados de depositar la matriz orgánica e inorgánica del tendón osificado. En grupos fósiles, la osteogénesis metaplásica en tendones es evidente a partir de restos de fibras colágenas y fibroblastos embebidos en la matriz del hueso primario (Adams y Organ, 2005; Organ y Adams, 2005).

Alternativamente, la osteogénesis del tejido primario de la viga supraneural de *Epachthosaurus* pudo seguir la vía osteoblástica (a partir de osteoblastos), como ocurre comúnmente en la osificación endocondral y dérmica. Esta última hipótesis ha sido propuesta por

Reid (1997) para los tendones osificados del dinosaurio ornitópedo *Iguanodon*. De acuerdo con este autor (op. cit.), la osificación se originaría a partir de osteoblastos que rodean periféricamente al tendón. No obstante, recientes estudios en tendones osificados de hadrosaurios han demostrado que tales estructuras óseas tienen en realidad un origen metaplásico (Adams y Organ, 2005). Con respecto al tendón osificado de *Epachthosaurus sciuttoi*, el alto grado de remodelación interna que ha afectado la viga ósea supraneural no permite confirmar ningún tipo de origen. No obstante, la presencia de tendones osificados de origen metaplásico en aves, dinosaurios ornitisquios y saurópodos (Abdalla, 1979; Adams y Organ, 2005; Organ y Adams, 2005) revela que dicho tipo de osificación podría ser un carácter compartido por todos los dinosaurios con tendones osificados, incluyendo *Epachthosaurus sciuttoi*.

Estructuras como las conservadas en el sacro de *Epachthosaurus sciuttoi*, MCT 1489-R, y *Malawisaurus*, no se han registrado en otros saurópodos. En cambio, se conocen en ciertos saurópodos titanosaurios (Martínez, 1998) y no titanosaurios (Wedel *et al.*, 2000), estructuras osificadas en forma de delgadas varillas, que son las extensiones de las costillas cervicales. En el caso del titanosauriforme basal *Sauroposeidon*, se ha propuesto que esas varillas se habrían formado por osificación periosteal centrípeta a partir de un eje conformado por el tendón *longus collis ventralis*, y cuya función habría sido la de mantener la tensión y evitar la compresión en la porción ventral del cuello (Wedel *et al.*, 2000). Las delgadas y extremadamente alargadas prezigapófisis caudales del dromaeosáurido *Deinonychus*, podrían

haberse formado de un modo similar (Reid, 1996).

Existen analogías de ingeniería que podrían ayudar a clarificar la manera en que algunas características morfológicas podrían representar soluciones a los problemas derivados del esfuerzo mecánico (Alexander, 1985). Una de las propuestas más apropiada es la sugerida por Slijper (1946), para quién el esqueleto axial opera como un sistema de arcos y cuerdas (Figura 2). En este modelo, el esqueleto axial (sobre todo las vértebras del tronco) funcionaría como un arco, y los tendones, ligamentos y músculos (sobre todo los del abdomen y la región ventral), como cuerdas. La estructura supraneural en forma de viga de *Epachthosaurus* podría interpretarse como una cuerda rígida, que habría evitado la flexión del sector posterior del tronco del animal. También es posible que formaciones similares ocurran normalmente en animales muy adultos, como lo sugiere, por otra parte, la abundante presencia de osteones secundarios. Es muy probable que este hecho explique la escasez de este tipo de registros en saurópodos. En este sentido, lamentablemente, no existen evidencias adicionales que indiquen una edad avanzada para el espécimen UNPSJB-PV 920, así como tampoco para el ejemplar MACN-CH 18689, en el cual Martínez *et al.* (2004) reportaron también una viga supraneural.

CONCLUSIONES

Del análisis paleohistológico se concluye que la viga supraneural del sacro de *Epachthosaurus* identificada por Martínez *et al.* (2004, fig. 5) como un tendón osificado (Lámina 1 B y C), en donde el tejido primario ha sido reemplazado prácticamente por completo

por osteones secundarios. Esto hace imposible conocer si dicha estructura posee un origen metaplásico u osteoblástico.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Dr. Diego Pol por las sugerencias superadoras, al técnico señor Cristian Palavicino por la preparación del material y a la Dra. Sandra Feijó por las fotografías tomadas al microscopio óptico del material paleontológico. Hacemos extensivo nuestro agradecimiento al Lic. Enrique Guanuco por el dibujo y al Sr. Carlos Montalbetti por la estructuración gráfica del trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, J. y C.L. Organ. Histologic determination of ontogenetic patterns and processes in hadrosaurian ossified tendons. *Journal of Vertebrate Paleontology* 25- 614-622.
- Alexander, R.M. 1985. Mechanics of posture and gait of some large dinosaurs. *Zool. J. Linn. Soc.*, **83**:1-25.
- Archangelsky, S., E.S. Bellosi, G.A. Jalfin, y C. Perrot. 1994. Palynology and alluvial facies from the mid-Cretaceous of Patagonia, subsurface of San Jorge Basin, Argentina. *Cretaceous Research*, **15**: 127-142.
- Bridge, J. S., G. A. Jalfin, y S.M. Georgieff. 2000. Geometry, lithofacies, and spatial distribution of Cretaceous fluvial sandstone bodies, San Jorge Basin, Argentina: outcrop analog for the hydrocarbon-bearing Chubut

- Group. *Journal of Sedimentary Research*, **70**: 341-359.
- Chinsamy, A. y M.A. Raath. 1992. Preparation of fósil bone for histological examination. *Palaeontologia Africana*, **29**: 39-44.
- Giménez, O. y L. Salgado. 2005. Estructura Histológica del "Tendón" osificado del sacro del saurópodo Titanosaurio *Epachthosaurus sciuttoi* (Cretácico Superior del Chubut). *Ameghiniana*, **42**: (4) Suplemento 71R.
- Gomani, E.M. 2005. Sauropod Dinosaurs from the Early Cretaceous of Malawi, Africa. *Palaeontologia Electrónica*, **8**(1): 27-37. Disponible en: http://palaeo-electronica.org/paleo/2005_1/gomani27/issue1_0.5.htm.
- Haines, R W. y A. Mohuiddin. 1968. Metaplastic bone. *Journal of Anatomy*, **103**: 527-538.
- Landis, W.J. y F.H. Silver. 2002. The structure of normally mineralizing avian tendons. *Comparative Biochemistry and Phisiology Part A*, **133**: 1135-1157.
- Martínez, R. 1998. An articulated skull and neck of Sauropoda (Dinosauria: Saurischia) from the Upper Cretaceous of central Patagonia, Argentina. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **18**:61A.
- Martínez, R., O. Giménez, J. Rodríguez, M. Luna, y M. Lamanna. 2004. An Articulated Specimen of the Basal Titanosaurian (Dinosauria: Sauropoda) *Epachthosaurus sciuttoi* from the Early Late Cretaceous Bajo Barreal Formation of Chubut Province, Argentina. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **24** (1): 107-120.
- Organ, C.I. y J. Adams. 2005. The histology of ossified tendons in dinosaurs. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **25**: 602-613.
- Powell, J.E. 1997 a. Morfología del Esqueleto axial de los dinosaurios Titanosauridos (Saurischia-Sauropoda) del Estado de Minas Gerais, Brasil. *Anais do X Congresso Brasileiro de Paleontologia de Vertebrados*, pp. 155-71.
- Powell, J.E. 2003. Revisión of South American Titanosaurid dinosaur: palaeobiological, palaeobiogeographical and phylogenetic aspects. *Recors of the Quenn Victoria Museum Launceston*, **111**: 1-185.
- Reid, R.E.H. 1996. Bone histology of the Cleveland-Lloyd dinosaurs and of dinosaurs in general, Part I: Introduction: Introduction to bone tissues. *Brigham Young University, Geological Studies*, **54**: 25-71.
- Slijper, E.J. 1946. Comparative biologic-anatomical investigations on the vertebral column and spinal musculature of mammals. *Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam Afdeeling Natuurkunde (Tweede 2d sectie)*, **42**: 1-128.
- Wedel, M., F. Cifelli, y K. Sanders. 2000. Osteology, paleobiology, and relationships of the sauropod dinosauru Sauroposeidon. *Acta Paleontológica Polonica*, **45** (4): 343-388.

EXPERIENCIA PILOTO DE ALIMENTACIÓN PORCINA CON ENSILADO QUÍMICO DE PESCADO EN EL VALLE INFERIOR DEL RÍO CHUBUT.

Pilot experience of porcine feeding with Chemical Fish Silage in Down Valley of Chubut River.

Góngora, H. G.^{1,2} y Ruiz, A. E.¹

¹ Departamento de Biología general. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Julio A. Roca 115, 9100 - Trelew, Chubut, Argentina. E-mail: anaruiz@ar.inter.net

² Interpesca S.A., Puerto Rawson, 9103 Rawson, Chubut, Argentina. E-mail: gongoraher@yahoo.com.ar

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar en la alimentación de cerdos en crecimiento el rendimiento de un alimento experimental (AE), formulado con 50% de ensilado químico de pescado (EQP) como aditivo proteico, según el modelo de granja familiar propio del Valle Inferior del río Chubut. El AE se elaboró con EQP, maíz (24,75 %), harinilla de trigo (24,75 %) y corrector vitamínico mineral (0,50 %). El EQP fue elaborado a partir de la acidificación de los restos del fileteado de merluza (*Merluccius hubbsi*), con ácidos orgánicos e inorgánicos (5%). Es una técnica sencilla y de bajo costo. Doce cerdos fueron divididos en dos lotes de seis cerdos. Un lote se alimentó con AE (T) y el otro (C) con alimento balanceado. Esta prueba se desarrolló durante aproximadamente 4 meses. Se evaluaron la ganancia de peso diaria, el consumo de alimento por unidad de biomasa, el consumo de agua, el rendimiento de la canal, el espesor de la grasa subcutánea dorsal y el índice de conversión en materia húmeda (ICh) y seca (ICs). El ICs presentó diferencias significativas favorables al lote T (T: 2,21; C: 3,4) ($t = -5,48$; $p < 0,05$). Estos resultados preliminares señalan que el AE, con un 50 % de EQP, puede ser empleado para mejorar la conversión alimentaria respecto al AC, con posibilidad de reducir costos en la cría de porcinos en crecimiento.

Palabras clave: Ensilado de pescado. Residuos pesqueros. Merluza. Cerdos. Alimento experimental.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine in porcine growth diet, the effects of an experimental feed (EF), including 50% of acid fish silage (AFS) as protein supply, in agreement with the characteristic small farmstead model of Down Valley of Chubut River. The EF was prepared with AFS, corn (24.75 %), brown wheat meal (24.75 %) and vitamin – mineral mix (0.50 %). The AFS was elaborated with hake (*Merluccius hubbsi*) filleting waste in addition to organic and inorganic acids (5 %). It is a simple and inexpensive technique. 12 pigs were divided in 2 groups of 6 pigs each one. One group was fed with EF (T) and the other one (C) with commercial feed. This experience was developed during 4 months approximately. During this period, daily weight increase, feed intake by biomass unit, carcass yield, fat cover thickness and feed conversion in dry and wet matter, were evaluated. The T lot values of conversion feed of dry matter (2.21) showed a higher efficiency when they were compared with those corresponding to the C lot (3.40) ($t = -5.48$; significant difference, $p < 0,05$). Our preliminary results underline that the EF, with 50 % of AFS, can be used to improve the feed conversion respect to control feed, with possibility to reduce costs in porcine feeding.

Key words: Acid fish silage. Filleting waste. Hake. Pigs. Experimental feed.

INTRODUCCION

En el Valle Inferior del río Chubut (VIRCH), en la región noreste de la Patagonia argentina, próximo al puerto pesquero Rawson, se desarrolla una importante actividad agropecuaria y existen establecimientos dedicados al engorde de bovinos, ovinos y porcinos. En los últimos años, un aumento en el costo de los alimentos balanceados ha afectado a los productores porcinos, debido a que la alimentación constituye el principal costo de producción de la actividad (ITP, 1997). En el VIRCH, la cría de cerdos se realiza principalmente a escala familiar. Este tipo de producción ha sido la más afectada por el incremento de los costos y ha llevado a los criadores a reducir la cantidad y calidad del alimento, con repercusión en el crecimiento, calidad de la carne y condición sanitaria de los animales.

El procesamiento de filete de merluza en las plantas pesqueras genera gran cantidad de desechos de pescado, aproximadamente 200.000 Tn anuales en Argentina (Fondacaro R., com. pers.). Estos desechos a veces son eliminados en basurales a cielo abierto, generando importantes focos de contaminación. Como alternativa, los desechos pueden ser utilizados en la elaboración de Ensilado Químico de Pescado (EQP), producido mediante la licuefacción del material por acidificación, obteniéndose un subproducto de bajo costo (Parín y Zugarramurdi, 1997). El EQP, es una eficiente fuente de proteínas, calcio y fósforo. Como beneficio adicional incluye ácidos orgánicos, que disminuyen el pH del alimento y mejoran la digestibilidad en la alimentación porcina (Roth y Kirchgessner, 1998). Existen varias experiencias de utilización de ensilado de

pescado en la ración de cerdos, para disminuir costos de alimentación, pero en ninguno de los casos, esa incorporación ha superado el 35 % del alimento (Otatti y Bello, 1990 a; Otatti y Bello, 1990 b; Guevara *et al.*, 1991; Bertullo, 1992; Espe *et al.*, 1992; Silva y Filho, 2003; Sakthivel *et al.*, 2005; Carvalho *et al.*, 2006). En este trabajo se evalúa el rendimiento de un alimento que incluye por primera vez 50 % de EQP y su efecto sobre la calidad de la carne de cerdos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Elaboración de Alimento Experimental con Ensilado Químico de Pescado.

Para elaborar el Ensilado Químico de Pescado (EQP) se tritararon los restos del fileteado de merluza en estadio no reproductivo (32 % cabeza, 23 % espinazo, 29 % vísceras y 16 % restos musculares) en partículas de entre 10 y 40 mm y se le adicionó una mezcla de ácidos inorgánicos y orgánicos (ácido sulfúrico, ácido fórmico y benzoato de sodio), en una proporción equivalente al 5 % v/p de la biomasa de pescado. Se mezcló, homogeneizó y controló el pH hasta la licuefacción total del material. Se almacenó durante 6 meses a temperatura ambiente (entre 11 y 24 °C). También, fue realizado un análisis bacteriológico por recuento total estándar a 30 °C y fue estimado el Número más Probable (NMP) de bacterias Coliformes Fecales. Se detectó posible rancidez por la reacción coloreada de Kreiss frente al reactivo de fluoroglucinol.

El Alimento Experimental (AE), se elaboró manualmente con 50 % de EQP, 24,75 % de maíz triturado, 24,75% de

harinilla de trigo y 0,5 % de corrector vitamínico mineral Polivitaminol polvo marca Rosenbusch y se midió su pH.

La composición química del EQP y de AE fue caracterizada por: a) humedad por desecación a 103 - 105 °C hasta peso constante, b) proteínas totales mediante digestión micro Kjeldahl, destilación y valoración del amonio por acidimetría (N x 6.25), c) lípidos totales por extracción Soxhlet, d) fibra por fibra neutro detergente (FND), e) cenizas por calcinación en mufla a 550 - 600 °C hasta peso constante, f) calcio por espectrofotometría de absorción atómica y g) fósforo por colorimetría con azul de Molibdeno. El valor energético de EQP y AE fue calculado mediante la suma de la energía bruta de proteínas, lípidos y extracto libre de nitrógeno (ITP, 1997).

2. Ensayo de alimentación

Durante 16 semanas se alimentaron 12 cerdos, con pesos iniciales comprendidos entre 18,2 y 28,9 Kg, provenientes de dos camadas hermanas del mismo criadero (cruza entre las razas Yorkshire y Duroc), cuyo estado sanitario fue bueno según examen médico veterinario. Los cerdos fueron organizados en 2 lotes: Control (C) (n = 6) y Tratamiento (T) (n = 6), distribuidos en cuatro corrales. Los Corrales 1 y 2 pertenecieron al lote T, los corrales 3 y 4 al lote C y fueron provistos con AE y Alimento Control comercial Vitabul (AC), respectivamente. En cada corral hubo un macho (A) y dos hembras (B y C) (Tabla II).

La ración de alimento fue definida considerando el peso de cada individuo, según requerimientos establecidos por McDonald *et al.*, (1999) y el agua fue suministrado *ad libitum*. Para conocer el consumo diario se calculó la diferencia

entre el peso de la ración diaria inicial y el peso de los restos de comida, y la diferencia entre el volumen de agua inicial y el sobrante. Se llevó a cabo un control semanal del peso de los animales, empleando una balanza con una precisión de 50 g. Durante la última semana, los animales fueron alimentados sólo con maíz.

Durante el ensayo de alimentación se analizaron los siguientes índices y variables:

1. Consumo de Alimento semanal por unidad de biomasa (Q/B): cociente entre el consumo semanal de alimento por lote (Kg) y la biomasa total del lote (Kg). Esta variable se utilizó para minimizar las diferencias de peso entre los individuos, en relación al consumo de alimento.
2. Consumo de agua semanal por lote: diferencia entre el volumen inicial diario por bebedero y el volumen restante a las 24 hs (l).
3. Ganancia de peso diario (GPD): cociente entre el incremento de peso total (Kg) y el número de días del ensayo (d). Este índice indica la ganancia de peso diaria por individuo y minimiza diferencias individuales en la duración del ensayo.
4. Índices de conversión en materia húmeda (ICh) y seca (ICs): cociente entre la cantidad de alimento consumido en peso húmedo o en peso seco y el incremento de peso para el mismo periodo, respectivamente.
5. Rendimiento de la canal: relación porcentual entre el peso canal y el peso vivo (Kg).
6. Espesor de la grasa subcutánea dorsal: esta medición se realizó al mm con calibre sobre la grasa localizada en tres puntos (Ottati y Bello, 1990 b): a la altura de la primera y de la última costilla, y en el punto intermedio entre la última costilla y la base de la cola.

Tabla I. Composición química y Valor energético de Alimento Control (AC), Ensilado Químico de Pescado (EQP) y Alimento Experimental (AE), en materia húmeda y en materia seca.

COMPONENTE	Materia húmeda			Materia seca		
	AC	EQP	AE	AC	EQP	AE
Humedad (%)	12	75	45	0	0	0
Proteínas totales (%)	20	15,50	15	22,72	28,20	28
Lípidos totales (%)	3	5	2	3,40	9,10	3,45
Fibra Bruta (%)	7	0	2,5	7,95	0	4,50
Cenizas (%)	5,80	4	3,60	6,59	6,50	5,90
Ext. libre de N (%)	50,50	0	26,60	57,30	0	48
Calcio Ca ⁺⁺ (%)	0,90	0,90	0,60	1,02	3,20	1
Fósforo P ₂ O ₅ (%)	0,80	0,80	1,20	0,90	3,60	2,20
Valor energ. (MJ/Kg)	12,20	3,79	9,90	13,90	15,15	18

Tabla II. Incremento de peso diario (GPD), Índice de conversión en materia húmeda (ICh), Índice de conversión en materia seca (ICs), Rendimiento de canal (RC) y Espesor de la grasa subcutánea (GS) para los lotes Tratamiento (T) y Control (C).

Lote	Corral	Ind.	Pi	Pf	DIAS	GPD (Kg/d)	ICh	ICs	RC (%)	GS (cm)	
T	1	A	22,20	89,10	112,00	0,60	3,71	2,04	75,46	2,51	
		B	19,20	63,25	119,00	0,38	4,21	2,31	72,30	2,04	
		C	19,00	82,30	119,00	0,53	4,18	2,30	77,18	2,95	
	2	A	25,60	91,70	112,00	0,60	3,60	1,99	73,38	2,85	
		B	18,30	73,80	119,00	0,47	3,31	1,82	78,38	2,82	
		C	23,90	62,30	119,00	0,32	5,16	2,84	74,88	1,95	
	media			21,36+/- 2,99	77,07+/ 12,70	116,6+/ 3,61	0,48+/- 0,12	4,03+/ 0,65	2,22+/- 0,36	75,26+/- 2,28	2,52+/- 0,43
	C	3	A	28,90	91,20	99,00	0,63	3,28	2,95	72,30	2,63
			B	27,00	96,50	112,00	0,62	3,70	3,33	70,15	2,75
C			21,10	85,00	112,00	0,57	3,65	3,28	71,61	2,17	
4		A	27,65	95,50	119,00	0,57	4,35	3,91	73,80	2,99	
		B	24,61	89,50	112,00	0,58	3,80	3,39	72,71	2,62	
		C	18,20	78,90	119,00	0,51	3,92	3,53	75,50	2,63	
media			24,57+/- 4,66	89,42+/ 7,42	112,2+/ 8,17	0,58+/- 0,04	3,78+/ 0,39	3,4+/- 0,35	72,67+/ 2,05	2,63+/- 0,002	
						NS	NS	*	NS	NS	

Referencias: Peso inicial (Pi) y Peso final (Pf) expresados en Kg.
Significancia: * p<0,05, NS = diferencia no significativa.

Los resultados fueron contrastados entre lotes mediante test de Student. Además, fueron observadas características sensoriales (color, olor, sabor y textura) de la carne del lote T, a través de encuestas realizadas a 15 personas que degustaron la carne asada de animales de ambos lotes (Ottati y Bello, 1990 b; Bertullo, 1992).

RESULTADOS

1. Ensilado Químico de pescado y Alimentación Experimental.

El análisis microbiológico del EQP fue negativo para la detección de *Escherichia coli*, Estafilococos y *Salmonella/Shigella* (4×10^3 ufc/g, valor normal para pescados y productos derivados). El NMP de bacterias Coliformes Fecales fue negativo ($<2,2/g$). Asimismo, la rancidez resultó negativa.

El valor promedio de pH fue de 3,8 en el EQP y de 5,2 en el AE. La composición química del EQP y del AE se detalla en la Tabla I. El AE presentó un 5% más de proteínas en materia seca que el AC, mientras que los porcentajes de calcio y fósforo fueron mayores para el AE. El valor energético sobre materia seca del AE fue 4 MJ mayor respecto al AC (Tabla I).

El AE tuvo una consistencia pastosa debido a la humedad del ensilado y un aroma malteado agradable. Fue

aceptado por los animales de forma inmediata.

2. Ensayo de Alimentación.

Durante todo el ensayo de alimentación se registraron Q/B similares para los lotes T y C, en especial entre la cuarta y la treceava semana de experimentación (fig. 1). El consumo de agua por lote fue mayor para los animales de lote C y durante toda la experiencia se observó una diferencia constante en el consumo de agua, de aproximadamente un 150 % (fig. 2). Entre la 12^{va} y 14^{va} semana, se produjo un descenso en el consumo de agua para ambos lotes. La GPD no presentó diferencias significativas entre ambos lotes ($t= -1,75$; $p=0,11>0,05$). El valor promedio fue 0,48 para el lote T y 0,58 para el lote C (Tabla II). El ICh no presentó diferencias significativas entre ambos lotes ($t= 0,74$; $p=0,56>0,05$), mientras que en el ICs se reconocieron diferencias significativas a favor del lote T ($t= -5,48$; $p=0<0,05$) (Tabla II).

Entre los rendimientos promedio de la canal para los lotes T (75,26 %) y C (72,67 %), no se reconocieron diferencias significativas ($t=1,96$; $p=0,08>0,05$) (Tabla II). El valor promedio del espesor de la grasa subcutánea dorsal fue 2,52 cm para el lote T y 2,63 cm para el lote C ($t= -0,41$; $p= 0,69>0,05$; n.s.) (Tabla II). No fueron reconocidas diferencias entre la carne de los cerdos del lote T y la del lote C, en color, olor, sabor y textura.

CONCLUSIÓN Y DISCUSIÓN

Los análisis microbiológicos realizados comprobaron que la conservación del EQP puede realizarse a temperatura ambiente y por tiempos prolongados, en coincidencia con las observaciones realizadas por Windsor y Barlow (1984) y Seibel y Souza-Soares (2003). Además, el EQP aporta ácido fórmico y disminuye el pH del AE, lo que podría conferir al alimento propiedades nutritivas y sanitarias de interés (Roth y Kirchgessner, 1998; Øverland *et al.*, 2000), que deberían evaluarse en futuras investigaciones

El AE mostró una composición en materia seca de proteínas, lípidos y valor energético que sugiere una buena condición alimenticia. Además, contiene adecuados porcentajes de carbohidratos, calcio y fósforo, acordes a los requerimientos para cerdos en crecimiento (McDonald *et al.*, 1999). Las composiciones químicas del EQP y del AE estimadas en este ensayo, podrían modificarse si la materia prima procediera de un stock pesquero en otra etapa del ciclo madurativo sexual.

Como era de esperar, el consumo de agua fue mayor en el lote C, debido probablemente a la ingestión de un alimento seco. El descenso en el consumo de agua observado en ambos lotes, entre la 12^{va} y 14^{va} semana, podría estar relacionado con cambios en las condiciones meteorológicas. No existen diferencias significativas entre lotes, en los indicadores Q/B y GPD, lo que señala una buena condición para el AE, ya que el AC al ser de fabricación comercial, posee probada eficiencia nutricional.

El ICs indicó que los animales alimentados con el AE necesitaron 1,1 Kg

menos de alimento por Kg de biomasa producida, respecto al AC. Por ello, el AE tuvo un mejor rendimiento con buena repercusión en las condiciones nutricionales de los individuos en crecimiento. Esto resulta coincidente con experiencias anteriores, aunque en aquellas fueron empleados menores porcentajes de ensilado (Silva y Filho, 2003; Sakthivel *et al.*, 2005). Considerando el bajo costo del ensilado (Windsor y Barlow, 1984; Parín y Zugarramurdi, 1997; Sakthivel *et al.*, 2005), este resultado podría ser favorable desde un punto de vista económico.

Si bien no se detectaron diferencias significativas entre los lotes T y C, los animales del lote T presentaron un rendimiento de la canal 3 % mayor que los del lote C. Este valor podría indicar una tendencia, aunque para detectarla debería emplearse un número mayor de animales. Por otro lado, se recomienda ampliar el periodo de sustitución del AE a 20 días antes de la faena, para asegurar ausencia de posibles efectos sensoriales indeseables en la grasa dorsal (Bertullo, 1992; Gambado *et al.*, 1996).

Estos resultados preliminares señalan que el AE, con un 50 % de EQP, puede ser empleado para mejorar la conversión alimentaria respecto al AC, con posibilidad de reducir costos en la cría de porcinos en las granjas minifundistas del VIRCH, mediante el aprovechamiento de residuos pesqueros y sin perder calidad en la alimentación. Sin embargo, sería conveniente realizar nuevos ensayos con más animales y llevar a cabo el correspondiente estudio económico comparativo para confirmar esta tendencia.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por Interpesca S.A. y la A.N.P.C.y.T. (Argentina). Los autores agradecen a las autoridades y personal de la empresa por su buena disposición; también al Ing. Agr. Claudio Gauna y al Lic. Gonzalo Herrera por su atenta colaboración durante el ensayo de alimentación

BIBLIOGRAFÍA

- Bertullo, E. 1992. Ensilado de pescado en la pesquería artesanal. Supl. FAO, Roma, Informe de Pesca **441**: 18-42.
- Carvalho, G. G. P.; Pires, A. J. V.; Veloso, C. M.; Silva, F. F. & Carvalho, B. M. A. 2006. Silagem de residuo de peixes em dietas para alevinos de tilápia-do-nilo. *R. Bras. Zootec.*, **35** (1): 126 – 130.
- Espe, M.; Haaland, H. & Njaa, L.R. 1992. Substitution of fish silage protein and a free amino acid mixture for fish meal protein in a chicken diet. *J. Sci. Food Agric.*, **58**: 315 - 319.
- Gambado, A.; Barlocco, N. & Vadell, A. 1996. Efecto de dos tiempos de purga sobre la calidad sensorial de carne de cerdo alimentado con ensilado de pescado. *Alimentaria*, **271**: 39 – 42.
- Guevara, J.; Bello, R & Montilla, J. 1991. Evaluación del ensilado de pescado elaborado por vía microbiológica como suplemento proteínico en dietas para pollos de engorde. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, **41** (2): 247-256.
- ITP, 1997. Manual de Porcicultura. Ed. Acribia S.A, Zaragoza, España, 411 pp.
- Mc Donald, P; Edwards, R. A.; Greenhalgh, J. F. D. & Morgan, C. A. 1999. Nutrición Animal. 5ta. Edición, Editorial Acribia S.A, Zaragoza, España. 576 pp.
- Ottati, M & Bello, R. 1990 a. Ensilado microbiano de pescado en la alimentación porcina. I Valor nutritivo del producto en dietas para cerdos. *Alimentaria*, **27** (211): 37 – 44.
- Ottati, M. & Bello, R. 1990 b. Ensilado microbiano de pescado en la alimentación porcina. II Evaluación de la canal y caracterización de la carne. *Alimentaria*, **27** (212): 109 - 113.
- Øverland, M.; Granli, T.; Kjos, N. P.; Fjetland, O.; Steien, S. H. & Stokstad, M. 2000. Effect of dietary formats on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora and stomach alterations in growing – finishing pigs. *J. Anim. Sci.*, **78**: 1875 – 1884.
- Parín, M. A. & Zugarramurdi, A. 1997. Aspectos Económicos del procesamiento y uso de Ensilados de pescado. Tratamiento y Utilización de Residuos de origen animal, pesquero y alimenticio en la alimentación animal. Supl, FAO, Roma, Animal Products and Healths Papers, Cap. 4: 64 – 73.
- Roth, F. X. & Kirchgessner, M. 1998. Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. *Journal of Animal and Feed Sciences*, **7**: 25 – 33.
- Sakthivel, P. C.; Mercy, A. D. & Viswanathan, J. V. 2005. Effect of dried cuttle fish waste silage on

Góngora, H. G., et al.: Alimentación porcina con ensilado de pescado en el VIRCH

- growth performance in crossbred (Large White Yorkshire x Desi) pigs. *Animal Nutrition and Feed Technology*, **5** (2): 211 – 216.
- Seibel, N. F. & Souza-Soares, L. A. de. 2003. Produção de Silagem Química com Resíduos de Pescado Marinho. *Braz. J. Food Technol.*, **6** (2): 333-337.
- Silva, H. B. R. & Filho, L. C. L. 2003. Fish silage in diets of growing pigs – Performance of parameters. *Acta Scientiarum – Animal Science*, **25** (1): 137 – 141.
- Windsor, M. & Barlow, S. 1984. Introducción a los subproductos de pesquería. Editorial Acribia S.A, Zaragoza, España, 204 pp.

**TESIS DE DOCTORADO DE DOCENTES E
INVESTIGADORES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
NATURALES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA
PATAGONIA SAN JUAN BOSCO**

2007

**ESTUDIO ANATOMICO COMPARADO DE ESPECIES PATAGONICAS DEL
GENERO *ELEOCHARIS* (CYPERACEAE). EVALUACION PRIMARIA DE SU
CALIDAD FORRAJERA.**

Feijóo Mabel Sandra

Tesis para el grado de Doctor en Ciencias Biológicas realizada en el Departamento de Biología General, UNPSJB y en el Laboratorio de Anatomía Vegetal del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", presentada en la Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB. Director: Dra. Mirta Olga Arriaga. Consejero de Estudios: Dr. Miguel Angel Bertolami. Defensa: 28 de agosto de 2007. Número total de páginas de la tesis: 196.

Palabras claves: *Eleocharis*, *Cyperaceae*, Patagonia, anatomía, calidad forrajera, digestión ruminal, análisis cuantitativo de tejidos.

Introducción

El género *Eleocharis* R. Brown (Cyperaceae, Cyperoideae, Eleocharideae) habita regiones húmedas, en zonas frías o templadas y está constituido por alrededor de 200 especies. En la flora de Patagonia, Barros (1969) cita 6 especies. Guaglianone (1996) menciona para la República Argentina 42 especies, 12 de las cuales habitarían la zona patagónica. Está presente en "mallines", áreas de alta productividad, que muestran diferentes niveles de degradación y deterioro. Son plantas herbáceas, en general perennes, rizomatosas, áfilas, con tallos fotosintéticos. Presentan una propagación vegetativa muy vigorosa. Estudios de clasificación infragenérica para las floras de los distintos continentes fueron realizados por diferentes autores hasta los trabajos más actuales de González-Elizondo & Peterson (1997) que proponen una clave para los taxa supraespecíficos. Estudios anatómicos con enfoque taxonómico aportan a la separación de especies. En el género solo se registra lo

descrito por Govindarajalu (1975 y 1990) para especies de India.

Los modelos de degradación ruminal, influenciados por los componentes anatómicos, siguen un patrón característico descrito para las gramíneas y se relacionan con los valores forrajeros. El estudio de la anatomía cuantitativa para estimar el valor nutritivo de especies forrajeras ha sido desarrollado en Poaceae. El **objetivo general** es estudiar en forma comparada la anatomía de las especies patagónicas del género *Eleocharis* y realizar la evaluación primaria de su calidad forrajera. Son **objetivos específicos**: comparar las características anatómicas, ubicación e interrelación de los distintos tejidos, en especies patagónicas del género *Eleocharis*; analizar el ataque diferencial de la microbiota ruminal sobre los tejidos caulinares y estimar la degradabilidad de los mismos; realizar la evaluación primaria de la calidad forrajera potencial en las especies estudiadas a través del análisis cuantitativo de sus tejidos; relacionar, en una especie de importancia forrajera

conocida, la proporción de tejidos con el hábitat en que se desarrolla.

Metodología

En este trabajo se analizan las 8 especies de *Eleocharis* encontradas a campo en las campañas de colección. Los ejemplares de referencia se encuentran depositados en el Herbario Regional Patagónico (HRP) de la Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB.

Estudios morfoanatómicos: Las investigaciones se realizan sobre materiales fijados en FAA y conservados en alcohol 70°, o herborizados, previamente hidratados. Para los estudios anatómicos se siguen las técnicas tradicionales. Se utiliza microscopía óptica y electrónica de barrido. Se documentan los caracteres observados con dibujos a cámara clara y fotomicrografías. Se realizan análisis cuali y cuantitativos de los caracteres estructurales, aplicando análisis de la varianza con el programa STATISTICA.

Digestión ruminal: las muestras son incubadas en el rumen de tres novillos Hereford provistos de cánula ruminal permanente (Stritzler *et al.*, 1990) en la EEA INTA Anguil (La Pampa). Los tiempos de incubación son de 12, 24, 48 y 72 hs. Las muestras son lavadas y conservadas en freezer, luego se descongelan y fijan en FAA. Se efectúan cortes transversales en la zona media de los trozos de tallo, se colorea con safranina y se observan al MO, comprobándose los tejidos digeridos, no digeridos y digeridos parcialmente. Los resultados se documentan mediante fotomicrografías. Para el análisis se utiliza la técnica de clasificación UPGMA, con el

índice de Rogers y Tanimoto, aplicable a datos multiestado.

Proporción de tejidos: el análisis anatómico cuantitativo se realiza según lo describe Tivano *et al* (1990, 1996). Los porcentajes de tejido se calculan a partir de transcortes coloreados con safranina - alcian blue. Se toman imágenes digitales y el área representada por cada tejido es estimada utilizando software de medición, expresándose los resultados como porcentaje del total de tejidos en la sección transversal. Se agrupan de acuerdo a su degradación en rumen: tejidos rápidamente digeribles (TRD) y tejidos lentamente digeribles e indigeribles (TLDI). Se realiza ANOVA con el programa STATISTICA. El análisis de regresión con el programa BIOM. Para la técnica de ordenación PCA, se utiliza el programa CANOCO.

Valor nutritivo: Los análisis químicos fueron realizados en el laboratorio de la Facultad de Agronomía de la UNLPam. Se analizan las especies en las que se cuenta con la cantidad de material requerido, por disponibilidad de biomasa a campo. Se determina: digestibilidad *in Vitro* de materia seca (DIVMS); proteína bruta (PB); fibra en detergente neutro (FDN) y ácido (FDA); contenido de lignina sobre residuo de FDA.

Resultados y Conclusiones

Se analiza la presencia y distribución de las especies del género en Patagonia, comparando con las citas bibliográficas y materiales de herbario existentes. Se amplía el área de distribución para *E. bonariensis* a la provincia de Chubut, con una primera cita en la localidad de Trelew. Todas las especies de *Eleocharis* investigadas presentan vía fotosintética

C3, que se refleja en su anatomía caulinar. Las especies con mayor proporción de tejido asimilador son *E. pachycarpa*, *E. melanomphala* y *E. albibracteata*. En *E. macrostachya* coinciden el mayor diámetro del tallo con el mayor espesor y tamaño celular del clorénquima. Las variaciones en la anatomía del tallo, que son indicadoras de las condiciones ambientales, muestran a *E. macrostachya* como la especie más xeromórfica, mientras que *E. maculosa* y *E. radicans* constituirían las especies más hidrómorfas. Los caracteres comunes a todas las especies son: tipo y disposición de los estomas y forma de las células subsidiarias; presencia de cuerpos silíceos, ubicación y tipo dominante; distribución de las bandas estomáticas en relación con los cordones subepidérmicos de esclerénquima; número y naturaleza de las vainas vasculares; tejido medular central con cavidades aéreas, interrumpidas por diafragmas; presencia de un estrato endodermoide limitando la estela y de un anillo periférico formado por haces vasculares anfibasales, en el rizoma. A partir del análisis de los datos obtenidos surgen claves para la identificación de especies. En la primera, basada en caracteres epidérmicos y de la sección transversal de tallo aéreo, los atributos diferenciales a nivel interespecífico son: contorno del tallo; número de haces vasculares y cavidades aéreas; diámetro de tallo; forma de terminaciones de las células interestomáticas; forma y número de fibras de los cordones de esclerénquima subepidérmicos; grosor y forma de la pared anticlinal de las células epidérmicas; espesor de cutícula; forma de las células del diafragma; tipo de clorénquima; presencia de cuerpos silíceos pequeños. En la otra clave,

basada en la sección transversal del rizoma, los caracteres identificatorios utilizados son: diámetro total de rizoma y de la médula; tejido adyacente interno al estrato endodermoide; disposición de los haces vasculares periféricos; presencia de cavidades aéreas en corteza; disposición de esclerénquima próximo a los haces vasculares centrales; disposición de haces vasculares centrales; diámetro de vasos metaxilema; número de haces vasculares periféricos; presencia de haces vasculares centrales. Los caracteres anatómicos de tallo aéreo y rizoma son útiles para la diagnosis específica, pero apoyan parcialmente las categorías infragenéricas establecidas para *Eleocharis*, revelando la necesidad de profundizar los estudios taxonómicos del género.

Se establece el patrón de degradación ruminal para *Eleocharis*: clorénquima, floema, aerénquima y vaina parenquimática son tejidos rápidamente digeribles (TRD); mientras que epidermis, esclerénquima, vaina mestomática y xilema son lentamente digeribles y/o indigeribles (TLDI). Los componentes histológicos que permanecen indigeridos en las especies de *Eleocharis* estudiadas son: pared epidérmica externa y cutícula, fibras de cordones subepidérmicos y células disgregadas del xilema. Los modelos de digestión son similares en la mayoría de las especies estudiadas, mientras los grados y velocidad muestran algunas diferencias. La velocidad y el grado de digestión resultan mayores en *E. albibracteata*, *E. radicans*, *E. melanomphala* y *E. maculosa*. Las especies con digestión más lenta son *E. macrostachya*, *E. pachycarpa* y *E. melanostachys*. *E. bonariensis* ocupa una posición intermedia. *E. macrostachya* presenta diferencias en el modelo de

digestión y es la especie con menor degradación.

El análisis cuantitativo denota variación interespecífica con diferencias significativas para clorénquima, aerénquima, espacios aeríferos, vaina parenquimática, vaina mestomática y TLDI. La regresión es positiva y significativa entre TLDI y epidermis, esclerénquima y vaina mestomática. Los porcentajes totales de TLDI resultan siempre menores al 30 % y el esclerénquima representa valores inferiores al 7,5%. El clorénquima (TRD) representa entre el 40 y 55%. La relación entre TRD - TLDI permite predecir en forma confiable la calidad forrajera. Utilizando esta relación como pronosticadora, *E. albibracteata* y *E. maculosa* resultan las especies con mayor valor nutritivo. Considerando la baja proporción de tejidos indigeribles se puede calificar a las especies de *Eleocharis* estudiadas como buenas forrajeras. Los análisis químicos indican que las especies de mayor calidad nutritiva son *E. bonariensis* y *E. albibracteata*.

Los resultados de la digestión tisular en diferentes tiempos de permanencia en rumen, de *E. albibracteata* procedente de distintas localidades ubicadas de este a oeste y en las diferentes estaciones del año, no presentan diferencias y coinciden con los obtenidos en la comparación interespecífica. El análisis cuantitativo de los tejidos y espacios aeríferos de *E. albibracteata* indica que la variación es no significativa entre localidades, estaciones y disponibilidad hídrica. *E. albibracteata*, por ser la especie más abundante y de distribución más amplia, puede considerarse la de mejor condición como forrajera. La anatomía de *E. albibracteata* es estable en las diferentes condiciones

geográficas, estacionales y ambientales analizadas.

Publicaciones

Barros, M. 1969. *Cyperaceae*. En: Correa, M. Flora patagónica. *Col. Ci. Inta. VIII* (II). Buenos Aires. :38 – 92.

Gonzalez-Elizondo, M. S. & Peterson, P. M. 1997. A classification of and key to the supraspecific taxa in *Eleocharis* (Cyperaceae). *Taxon* **46**:433-449.

Govindarajalu, E. 1975. The systematic anatomy of South Indian Cyperaceae: *Eleocharis* R. Br., *Rhynchospora* vahl and *Scleria* Bergius. *Adansonia*, ser.2, **14** (4):581-632.

----- 1990. Cyperaceae Indiae Australis Precursores. A novelty in *Eleocharis* R. Br. and its vegetative anatomy. *Proc. Indian Acad. Sci., Plant Sci.* **100** (1):71-75.

Guaglianone, E. R. 1996. Cyperaceae p. p., En: Zuloaga, F. O. & O. Morrone (eds.). Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. I. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* **60**:128-197.

Stritzler, N. P.; Hvelplund, T. & Wolstrup, J. 1990. The influence of the position in the rumen on dry matter disappearance from nylon bags. *Acta Agriculturae Scandinavica* **40**: 363-366.

Tivano, J. C., Vegetti, A. C. & Brollo, M. E. 1990. Utilización de los caracteres histofoliales en la evaluación de la calidad forrajera de 7 líneas de *Paspalum dilatatum* poir (Poaceae). *Rev. Arg. Prod. Anim.*, **10** (1):13-17.

----- & Heinzen, F. A. 1996. Anatomía cuantitativa en 3 cultivares de *Dichanthium aristatum* (Poiret) C.E.Hulbard (Poaceae) para inferir su valor forrajero. *Rev. Fac. Agron., La Plata*, **101** (1):15-23.

pescado en la ración de cerdos, para disminuir costos de alimentación, pero en ninguno de los casos, esa incorporación ha superado el 35 % del alimento (Otatti y Bello, 1990 a; Otatti y Bello, 1990 b; Guevara *et al.*, 1991; Bertullo, 1992; Espe *et al.*, 1992; Silva y Filho, 2003; Sakthivel *et al.*, 2005; Carvalho *et al.*, 2006). En este trabajo se evalúa el rendimiento de un alimento que incluye por primera vez 50 % de EQP y su efecto sobre la calidad de la carne de cerdos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Elaboración de Alimento Experimental con Ensilado Químico de Pescado.

Para elaborar el Ensilado Químico de Pescado (EQP) se tritararon los restos del fileteado de merluza en estadio no reproductivo (32 % cabeza, 23 % espinazo, 29 % vísceras y 16 % restos musculares) en partículas de entre 10 y 40 mm y se le adicionó una mezcla de ácidos inorgánicos y orgánicos (ácido sulfúrico, ácido fórmico y benzoato de sodio), en una proporción equivalente al 5 % v/p de la biomasa de pescado. Se mezcló, homogeneizó y controló el pH hasta la licuefacción total del material. Se almacenó durante 6 meses a temperatura ambiente (entre 11 y 24 °C). También, fue realizado un análisis bacteriológico por recuento total estándar a 30 °C y fue estimado el Número más Probable (NMP) de bacterias Coliformes Fecales. Se detectó posible rancidez por la reacción coloreada de Kreiss frente al reactivo de fluoroglucinol.

El Alimento Experimental (AE), se elaboró manualmente con 50 % de EQP, 24,75 % de maíz triturado, 24,75% de

harinilla de trigo y 0,5 % de corrector vitamínico mineral Polivitaminol polvo marca Rosenbusch y se midió su pH.

La composición química del EQP y de AE fue caracterizada por: a) humedad por desecación a 103 - 105 °C hasta peso constante, b) proteínas totales mediante digestión micro Kjeldahl, destilación y valoración del amonio por acidimetría (N x 6.25), c) lípidos totales por extracción Soxhlet, d) fibra por fibra neutro detergente (FND), e) cenizas por calcinación en mufla a 550 - 600 °C hasta peso constante, f) calcio por espectrofotometría de absorción atómica y g) fósforo por colorimetría con azul de Molibdeno. El valor energético de EQP y AE fue calculado mediante la suma de la energía bruta de proteínas, lípidos y extracto libre de nitrógeno (ITP, 1997).

2. Ensayo de alimentación

Durante 16 semanas se alimentaron 12 cerdos, con pesos iniciales comprendidos entre 18,2 y 28,9 Kg, provenientes de dos camadas hermanas del mismo criadero (cruza entre las razas Yorkshire y Duroc), cuyo estado sanitario fue bueno según examen médico veterinario. Los cerdos fueron organizados en 2 lotes: Control (C) (n = 6) y Tratamiento (T) (n = 6), distribuidos en cuatro corrales. Los Corrales 1 y 2 pertenecieron al lote T, los corrales 3 y 4 al lote C y fueron provistos con AE y Alimento Control comercial Vitabul (AC), respectivamente. En cada corral hubo un macho (A) y dos hembras (B y C) (Tabla II).

La ración de alimento fue definida considerando el peso de cada individuo, según requerimientos establecidos por McDonald *et al.*, (1999) y el agua fue suministrado *ad libitum*. Para conocer el consumo diario se calculó la diferencia

Presentaciones relacionadas con el trabajo de tesis

- Caracteres estructurales comparados en especies de *Eleocharis* (Cyperaceae). Feijóo, M. S. y Arriaga, M. O. XXIX Jornadas Argentinas de Botánica y XV Reunión Anual de la Sociedad de Botánica de Chile. Octubre 2003, San Luís, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot. (Supl.)* ISSN 0373-580X. **38**:289.
- Especies patagónicas de *Eleocharis* (Cyperaceae): técnica analítica para evaluar su calidad forrajera. Feijóo, M. S. y Arriaga, M. O. XXX Jornadas Argentinas de Botánica. Noviembre 2005, Rosario, Santa Fe, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot. (Supl.)* ISSN 0373-580X. **40**:43.
- Análisis histológico en especies de *Eleocharis* (Cyperaceae) sometidas a digestión ruminal. Feijóo, M. S., Stritzler, N. P., Peralta, R. V., Rabotnikof, C. M. y Petruzzi, H. J. XXX Jornadas Argentinas de Botánica. Noviembre 2005, Rosario, Santa Fe, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot. (Supl.)* ISSN 0373-580X. **40**:44.
- Área de distribución de *Eleocharis* (Cyperaceae) en Patagonia. Feijóo, M. S., Peralta, R. V. y Arriaga, M. O. XXXI Jornadas Argentinas de Botánica. Setiembre 2007, Corrientes, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot. (Supl.)* ISSN 0373-580X. **42**:93.
- Estudio anatómico comparado del rizoma en especies de *Eleocharis* (Cyperaceae). Feijóo, M. S., Peralta, R. V. y Arriaga, M. O. XXXI Jornadas Argentinas de Botánica. Setiembre 2007, Corrientes, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot. (Supl.)* ISSN 0373-580X. **42**:22.

LAS ESPECIES DEL GÉNERO SCHINUS L. (ANACARDIACEAE) EN PATAGONIA. UN ESTUDIO ANATÓMICO APLICADO AL DISEÑO DE ESTRATEGIAS DE MONITOREO FITOSANITARIO Y AMBIENTAL.

Fernández Sara E.

Tesis para el grado de Doctor en Ciencias Biológicas realizada en el Departamento de Biología General. UNPSJB- presentada en la Facultad de Ciencias Naturales. Directora: Dra. María Águeda Castro (FCEN-UBA), Consejero de estudios: Dr. Miguel Bertolami. Defensa 28 de agosto de 2007. Número total de páginas de la tesis: 265. Número de láminas: 100

Palabras claves: *Anacardiaceae* - *Schinus-Patagonia* – *Morfoanatomía* - *Agallas-Hidrocarburos*.

Introducción

La familia Anacardiaceae Lindl. de distribución tropical y subtropical, aunque menos abundante en las zonas templadas, incluye aproximadamente unas 600 especies. El área de distribución abarca ambientes tan variados como, selvas altas perennifolias y bajas caducifolias, zonas áridas, costeras tipo manglar y áreas afectadas donde existen como colonizadoras tempranas. Los sistemas de clasificación tradicionales más utilizados (Cronquist, 1981; Thorne, 1992) incluyen a la familia Anacardiaceae en el Orden Rutales y el más reciente APG (1998, 2003), sitúan la familia Anacardiaceae en el orden Sapindales. En el presente estudio se sigue la clasificación de Thorne (1992). Para Argentina, según el Catálogo de las Plantas Vasculares (Muñoz, 1997), figuran citados 6 géneros y 32 especies. El género *Schinus* L. es un taxón relevante en la flora dendrológica

argentina. La distribución y taxonomía del género fue tratada por diferentes autores (Cabrera, 1939; Barkley, 1957; Múlgura de Romero, 1988). Múlgura de Romero (1988), definió para la región patagónica en estudio, los siguientes taxones: *Schinus johnstonii* F. A. Barkley, *Schinus fasciculatus* (Griseb.) Johnston var. *arenicola* (Hauman) F. A. Barkley, *Schinus roigii* Ruiz Leal & Cabrera, *Schinus marchandii* F. A. Barkley, *Schinus o'donelli* F. A. Barkley, *Schinus patagonicus* (Phil.) I.M. Johnst. & Cabrera.

La región de la estepa patagónica en estudio, abarca diferentes ambientes, bajos, cañadones costeros, mesetas, ecotono estepa-bosque. Son áreas sometidas a considerable acción antrópica, agravada por el efecto prolongado de la actividad ganadera y no sostenible de las prácticas minera, petrolera y vial. En consecuencia las comunidades vegetales que habitan la región están en parte sometidas a

presiones que afectan su dinámica poblacional. Desde el punto de vista fitopatológico, en algunas poblaciones se ha detectado la formación de agallas foliares blandas y leñosas, en tallos (matecitos del molle), Estos hallazgos constituyen un potencial riesgo que altera la dinámica de crecimiento en las poblaciones afectadas.

En virtud de lo expuesto, en el presente estudio, se plantearon los siguientes objetivos:

1. Aportar información sobre aspectos morfoanatómicos de las especies del género que crecen en la región patagónica.

2. Realizar el estudio anatómico ontogénico que permita interpretar el proceso de formación de agallas blandas y leñosas (cecidios).

3. Identificar posibles alteraciones estructurales y ultraestructurales en raíz y vástago (tallo y hojas) en individuos que crecen en áreas empetrodadas.

4. Evaluar la posible incorporación en los tejidos vegetales, de compuestos orgánicos y/o metales pesados a través de técnicas de análisis. Aportar datos que contribuyan al conocimiento de las especies del género *Schinus* L. contribuirá a conocer, valorar y conservar este potencial recurso que crece en un área sometida a la progresiva desertificación.

Metodología

1- **Metodología para estudios anatómicos:** A- Estudios anatómicos estructurales de hoja y tallo con **MO**, se realizaron a partir de material fresco, herborizado y fijado en FAA. Se aplicaron las técnicas histológicas convencionales según los protocolos de O'Brien and McCully (1981), D'Ambrogio (1986), Cutler (1987). El material leñoso fue

macerado según la Técnica de Boodle. Se aplicaron técnicas de polarización para la detección y observación de cristales de oxalato de calcio y el test histoquímico para detectar taninos (D'Ambrogio, 1986). Para estudios de vascularización y análisis de caracteres epidérmicos de hojas en vista superficial, se realizaron diafanizados según la técnica de Dizeo de Strittmater (1973). Para describir el patrón de venación se siguió la terminología propuesta por Hickey (1974). Los caracteres epidérmicos analizados incluyeron: largo de las células epidérmicas, largo, ancho y densidad de estomas y longitud de los tricomas y espesor de la lámina foliar (Softwar IM50 de Leitz). El análisis estadístico mediante ANOVA (STATISTICA). B- Estudio ultraestructural con Microscopio Electrónico de Transmisión (MET), CMA (FCEN-UBA). Estudio ultraestructural en vista superficial con Microscopio Electrónico de Barrido Ambiental (MEBA), ElectroScan 2010 (Departamento de Materiales – CITEFA).

2- En el estudio del impacto producido por derrame de petróleo en especímenes de *Schinus marchandii* se realizó el análisis de los elementos minerales con microscopio electrónico de barrido (MEB) y sonda de energía dispersiva de rayos X (EDAX), (CITEFA). Para el estudio químico, se aplicó la Técnica analítica de extracción de Hidrocarburos bajo Norma ASTM 5368, Norma EPA 846.

Resultados y Conclusiones

En la estepa patagónica las especies del género *Schinus* L, son en su mayoría arbustivas. En particular *Schinus johnstonii*, *Schinus marchandii* y *Schinus*

patagonicus adquieren porte de arbustos arborescentes que alcanzan alturas de hasta más de 2,5 metros, en especial *Schinus patagonicus* (hasta 5 m). En cuanto a la exomorfológica, las especies del género poseen follaje persistente, hojas simples, con disposición alterna o dispuesta en fascículos sobre braquiblastos.

Las ramas son espiniformes en todas las especies estudiadas, excepto en *Schinus patagonicus* cuya característica principal es la ausencia de éstas. En general, los caracteres morfológicos foliares permiten la identificación de las especies estudiadas del género *Schinus* L. En particular, la forma de la hoja, dada su variabilidad ha resultado ser un carácter fenotípico de relativa validez taxonómica.

El estudio anatómico foliar revela que en las especies analizadas, se corrobora la presencia de ceras epicuticulares conformando una capa lisa o granular, cutícula lisa a estriada, células epidérmicas con pared tangencial externa gruesa, registrando en *S. johnstonii*, el valor promedio más alto y en *Schinus o'donellii* el valor promedio más bajo (superficie adaxial y abaxial respectivamente) (Tabla 1). *S. johnstonii*, *S. marchandii*, *S. roigii*, *S. o'donellii* y *S. fasciculatus* var. *arenicola* presentan mesófilo isolateral, siendo *S. patagonicus* la única especie con mesófilo dorsiventral. Las seis especies estudiadas presentan canales resiníferos, idioblastos con taninos y drusas, estomas anomocíticos y pelos simples unicelulares y glandulares. Excepcionalmente *Schinus fasciculatus* var. *arenicola* exhibe, además, tricomas simples bicelulares (Tabla 1). El estudio anatómico del xilema secundario confirma para los especímenes analizados la ausencia de estratificación en el leño y la

presencia de anillos de crecimiento delimitados por fibras y parénquima terminal, porosidad semicircular a difusa, poros distribuidos en patrón diagonal, parénquima axial paratraqueal vasicéntrico escaso, taninos en parénquima radial y axial, fibras septadas, no septadas y gelatinosas, elemento de vaso con engrosamientos helicoidales, puntuaciones intervasculares areoladas no ornada y placa de perforación simple, radios heterocelulares, uni- y pluriseriados. Excepcionalmente, en los radios de *S. o'donellii* se constata la ausencia de canales resiníferos y cristales y la presencia de células disyuntas.

Desde el punto de vista fitopatológico, se observó en las especies analizadas, la presencia de dos tipos de agallas entomógenas: las agallas leñosas en *S. marchandii* y las agallas foliares en *S. johnstonii*, *S. fasciculatus* var. *arenicola*, *S. roigii* y *S. patagonicus* (Tabla 1). El estudio ontogénico de las agallas leñosas "matecitos del molle", se realizó en *S. marchandii*, y las agallas foliares en *S. johnstonii*. Las mismas son inducidas por la acción ovopositora de un insecto, un lepidóptero *Cecidosea eremita* Curtis y un homóptero *Psyllidae*, respectivamente, afectando la producción de biomasa del hospedante. Son del **Tipo Prosoplás-mico**. Se desarrollan en tres etapas claramente delimitadas (Iniciación, diferenciación-maduración y dehiscencia). Según el grado de infección, afectan la producción de hojas, floración y fructificación. La información aportada constituye el primer trabajo que se realiza en patagonia, sobre la anatomía de las agallas en ***Schinus johnstonii*** y ***Schinus marchandii***, brindando información inédita acerca de esta peculiar interrelación planta-insecto. En particular, en el área sujeta a sucesivos derrames de

petróleo, la evaluación de impacto sobre las poblaciones de *Schinus marchandii* permite corroborar en los especímenes analizados, la ausencia de alteraciones

morfológicas y anatómicas, y confirma el considerable grado de tolerancia de los mismos cuando crecen en zonas contaminadas por hidrocarburos.

Tabla 1. Aspecto general del porte y principales caracteres anatómicos foliares de las especies de *Schinus* estudiadas

Especie	<i>S. johnstonii</i>	<i>S. marchandii</i>	<i>S. o'donellii</i>	<i>S. roigii</i>	<i>S. fasciculatus var. arenicola</i>	<i>S. patagonicus</i>
Carácter						
Aspecto General						
HOJA						
MARGEN	entero-dentado	entero-dentado	repando-ondulo	entero-dentado	entero-dentado	liso-crenado
ESPELOR DE PTE	Adx. 12.9(±1.29)	11.1(±1.7)	4.1(±0.7)	11.7(±1.3)	6.2(±1.4)	6.4(±1)
(µm)	Abx. 10.8(±1.97)	10.5(±2.1)	4.2(±0.6)	10.2(±1.1)	6.7(±1.8)	7.3(±0.7)
TRICOMAS						
MESÓFILO	isolateral	isolateral	isolateral	isolateral	isolateral	dorsiventral
ABUNDANCIA DE CRISTALES						
CONDUCTOS RESINÍFEROS						
NÚMERO	2-4	2-4	2-3	2-3	2-3	2-5
ESTOMAS	anomocíticos	anomocíticos	anomocíticos	anomocíticos	anomocíticos	anomocíticos
TIPO / POSICIÓN	adaxial - abaxial	adaxial - abaxial	adaxial - abaxial	adaxial - abaxial	adaxial - abaxial	abaxial
TIPO AGALLA	foliar	leñosa (matecitos del molle)	-----	foliar	foliar	foliar

Bibliografía

- APG (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP) 1998. An ordinal classification of the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 531-553.
- APG (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP) 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.
- BARKLEY, F. A. 1944. *Schinus* L. *Brittonia* 5(2): 160-198.
- BARKLEY F. A. 1957. Anacardiaceas *Schinus*. *Lilloa* 28:5-110.
- CABRERA, A. L. 1938. Revisión de las Anacardiaceas austroamericanas. *Revista Mus. La Plata Secc. Bot.* 2 : II:3-64.
- CABRERA, A. L. 1939. Sinopsis de las Anacardiaceas Argentinas. *Revista Argent. Agron.* 6:85-113.
- CUTLER, D. F. 1987. *Anatomía Vegetal Aplicada*. Librería Agropecuaria S. A. Buenos Aires. Argentina.
- CRONQUIST, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York. 1262 pp.
- D'AMBROGIO, A. 1986. *Manual de técnicas en histología vegetal*. Hemisferio Sur S.A. pp 83.
- DIZEO De STRITTMATER, C. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 15 (1): 126 – 129.
- HICKEY, L. J. 1974. Clasificación de la arquitectura de las hojas de las Dicotiledóneas. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 16 (1-2): 1-26.
- MÚLGURA DE ROMERO, M.1988. Dicotiledóneas Dialipétalas (Oxalidaceae a Cornaceae).In: CORREA, M. N. (Dir.) *Flora Patagónica. 8 Parte 5* 96-102. INTA, Buenos Aires
- MUÑOZ, J. DE D. 1997. *Anacardiaceae*. En: F. Zoloaga & O. Morrone (eds.) Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II. *Monogr. Sys. Bot. Missouri Bot. Gard.*
- O'BRIEN, T. P. & M. E. MCCULLY. 1981. The study of plant structure principles and selected methods. *Termarkarphi Pty Ltd.*, Melbourne Australia.
- THORNE R. F. 1992. Classification and geography of flowering plants. *The Botanical Review* 58: 225-348.

Publicaciones y Presentaciones a Congresos

Fernández Sara, D' Ámbrogio Ana., Múlgura de Romero, M. Anatomía y arquitectura foliar de especies

- patagónicas del género *Schinus* L. (Anacardiaceae). XII Reunión anual de la Sociedad Botánica de Chile-XXVII Jornadas Argentinas de Botánica. Concepción, Chile. GAYANA BOTANICA. XII Reunión anual de la Sociedad Botánica de Chile-XXVII Jornadas Argentinas de Botánica. Vol 57 –pág 29 . 5-8 enero 2000
- D'Ambrogio, Ana. Fernández, Sara. Estructura de agallas foliaceas en *Schinus* (Anacardiaceae). Iº Reunión Binacional de Ecología. Bariloche. Argentina. 2001.
- Fernández, S. & M. A. Castro. Anatomía y Arquitectura foliar de *Schinus patagonicus* (Anacardiaceae). XXIX Jornadas Argentinas de Botánica & Reunión Anual Sociedad Botánica de Chile-San Luis. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica (Suplemento) Vol. 38: 84(2003). octubre 2003.
- Fernández Sara, Castro María Águeda. Anatomía foliar y caulinar de *Schinus o'donellii*. Barkley. (Anacardiaceae).(Leaf and word anatomy of *Schinus o'donelli* Barkley (Anacardiaceae). XXX Jornadas Argentinas de Botánica. Rosario Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica (Suplemento):Vol. 40: 84. 6 al 10 de noviembre 2005.
- Fernández S., Quagliano J., Castro M. A. *Schinus marchandii* creciendo en suelos empetroados de la provincia del Chubut (ARGENTINA). Un Estudio anatómico. XXX Jornadas Argentinas de Botánica. Corrientes. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica (Suplemento):Vol. 41: 84. 20 al 24 de setiembre 2007.

ESTUDIO DE REACCIONES DEL TIOFENO Y DERIVADOS CON RADICALES EN FASE GASEOSA Y EN SOLUCIÓN.

Herrera Olga Susana

Tesis para acceder al grado de Doctor en Química realizada en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), sede Comodoro Rivadavia y en el Departamento de Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC) y presentada en la Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB. Director: Prof. Dra. Silvia Irene Lane (UNC). Co-director: Prof. Dra. María Isela Gutiérrez (UNPSJB). Defensa: 22 de marzo de 2007. Número total de páginas de la tesis: 156.

Palabras claves: ensayo tiofeno, radical trifluorometilo, 2-iodotiofeno, mecanismo de reacción, cinética química.

RESUMEN

Esta tesis abordó el estudio de la reacción de tiofeno con el radical trifluorometilo (CF_3) en fase gaseosa y la reacción fotoinducida del 2-iodotiofeno en solución. Los objetivos fueron la determinación de: los productos de reacción, los factores de los cuales depende la formación de los mismos, los parámetros cinéticos y mecanismos de reacción, como así también correlacionar las reactividades con algunas propiedades moleculares de los compuestos involucrados y sistemas ya estudiados. Se realizaron, además, cálculos teóricos a efectos de convalidar la interpretación de los resultados experimentales y los mecanismos de reacción propuestos.

Los radicales CF_3 se forman en la atmósfera por fotodegradación de numerosos hidrofluorcarbonos (HFCs) e hidroclorofluorcarbonos (HCFCs) tales como HFC-134a, HFC-125, HFC-143a, HCFC-123 y HCFC-124 (Ko et al., 1994). El tiofeno, como muchos de los compuestos aromáticos, provendría de

procesos industriales de combustión concentrándose apreciablemente en regiones contaminadas de la tropósfera, por lo que, la reacción que se estudió en este trabajo sería significativa en la química de la atmósfera.

En particular, las reacciones en fase gaseosa de los radicales perfluoralquilo, como el radical CF_3 , han sido estudiadas con una gran variedad de compuestos olefínicos, en menor extensión con compuestos aromáticos (Nieto et al., 1998) y algunos compuestos heteroaromáticos. La información cinética existente sobre las reacciones del tiofeno y sus derivados es escasa. En general, sólo se han reportado en la literatura estudios con átomos y moléculas de oxígeno y ozono, con radicales nitrato e hidroxilo. En particular, la investigación realizada suministra los primeros datos cinéticos de la reacción de adición de los radicales CF_3 al tiofeno.

El estudio de la reacción del radical CF_3 con tiofeno, en fase gaseosa, se realizó en un sistema estático de alto vacío a 25°C. Los radicales se generaron a partir de la fotodisociación de

iodotrifluorometano (CF_3I) o de hexafluoracetona (CF_3COCF_3). Para ello se empleó radiación proveniente de una lámpara de mercurio de alta presión que se filtró para remover las longitudes de onda menores que 275 nm, evitándose así la absorción por parte del tiofeno.

En presencia de tiofeno, los radicales CF_3 reaccionan formando principalmente iodotrifluorometano (CF_3H), hexafluoretano (C_2F_6) y compuestos de adición. La caracterización de los productos de reacción se realizó por cromatografía gaseosa y espectrometría de masas. Se identificó el isómero principal 2- CF_3 -tiofeno y el minoritario 3- CF_3 -tiofeno y pequeñas cantidades de dihidro- CF_3 -tiofeno monosustituído, con ambos precursores de radicales CF_3 . Cuando se utilizó CF_3I , como fuente de radicales CF_3 se identificó además 2-iodotiofeno y iodo en baja proporción y cuando se utilizó CF_3COCF_3 como precursor, un producto tentativamente identificado como dihidro- CF_3 -tiofeno disustituído, en experimentos realizados a alta conversión.

Los resultados experimentales se interpretaron en términos de un mecanismo cuyas etapas principales son la adición de radicales CF_3 al tiofeno (con constante de velocidad k_{ad}), la abstracción de átomos de hidrógeno del tiofeno con formación de CF_3H (con constante de velocidad k_{H}), la recombinación de radicales CF_3 con formación de C_2F_6 (con constante de velocidad k_{c}) y la pseudo-abstracción de hidrógeno por parte de los radicales CF_3 del aducto formado en la etapa de adición con formación de 2- CF_3 -tiofeno y 3- CF_3 -tiofeno.

Se determinaron las velocidades de formación de CF_3H relativas a la velocidad de recombinación de radicales CF_3 , y a partir del mecanismo de reacción propuesto y la aplicación del método

cinético competitivo, se obtuvo la relación de constantes de velocidad $(k_{\text{H}} + k_{\text{ad}})/k_{\text{c}}^{1/2} = 106 \pm 4 \text{ cm}^{3/2} \text{ mol}^{-1/2} \text{ s}^{-1/2}$, independiente de la fuente de radicales CF_3 (CF_3I o CF_3COCF_3) y de la concentración del precursor.

El método empleado no permitió determinar separadamente las constantes de velocidad k_{H} y k_{ad} , por tal motivo y ante la ausencia de información sobre las mismas, la k_{H} se estimó teóricamente. Se aplicó para tal fin el método *Bond Strength-Bond Length* (BSBL), desarrollado por Bérces y Dombi (1980), que permite estimar razonablemente los parámetros de Arrhenius (factor preexponencial y energía de activación) a partir del cálculo del perfil de la reacción a lo largo del camino de mínima energía. A partir de este resultado se infirió que la etapa de abstracción de átomos de hidrógeno por parte del radical CF_3 no es significativa a 25 °C y que la reacción de adición es la etapa más importante en la formación de CF_3H . Así, la constante de velocidad medida corresponde al cociente $k_{\text{ad}}/k_{\text{c}}^{1/2}$.

Se comparó la reactividad del tiofeno hacia el radical CF_3 con otros compuestos no saturados, encontrándose que la constante de velocidad de adición es intermedia entre la de alquenos y benceno, una secuencia similar de reactividad hacia la adición del radical OH, también de carácter electrofílico.

El estudio de la reacción de tiofeno con el radical CF_3 permitió inferir la participación del radical tienilo en la formación de los productos de reacción. El radical tienilo es un intermediario muy importante en la síntesis de compuestos bioactivos y también es precursor de polímeros conductores, eso nos motivó a desarrollar el estudio de la reacción

fotoinducida del 2-iodotiofeno en diferentes solventes.

Según estudios previos de la reacción fotoinducida de haluros orgánicos (Kropp, 1984), el proceso inicial conduce a la ruptura homolítica del enlace carbono-halógeno (C-X) con la formación de un par, radical-átomo de halógeno. Luego, pueden obtenerse productos de reacción del radical, o puede ocurrir la transferencia de electrones en el par radical dentro de la "jaula" del solvente, dando lugar al par iónico y finalmente productos característicos del carbocación como intermediario. En muchos ioduros primarios y secundarios los productos no saturados se obtienen a partir de un carbeno.

Los experimentos se realizaron en condiciones de fotólisis estacionaria a temperatura ambiente. Ya que el 2-iodotiofeno presenta un espectro de absorción con una banda centrada en 244 nm, se usó como fuente de radiación una lámpara de mercurio de baja presión que emite en 254 nm. Los solventes utilizados fueron n-heptano, diclorometano y metanol. Los fotoproductos de la reacción, identificados por cromatografía gaseosa y espectrometría de masas fueron mayoritariamente tiofeno y pequeñas cantidades de iodo en todos los solventes. Cuando el solvente usado fue n-heptano se identificó además 1-iodoheptano y en diclorometano iododiclorometano. Las concentraciones de tiofeno y 2-iodotiofeno durante la fotólisis fueron determinadas por espectrofotometría UV-visible de derivada del espectro cociente de primero y segundo orden (Salinas et al., 1990).

La concentración de 2-iodotiofeno disminuye durante la fotólisis siguiendo una ley de primer orden en todas las condiciones experimentales. Las constantes de pseudo-primer orden,

determinadas a partir de experimentos realizados con soluciones desgasificadas, no muestran diferencia significativa en los solventes estudiados, aún en los más polares.

La fotoquímica del sistema se cuantificó determinando rendimientos cuánticos de consumo de 2-iodotiofeno, y de formación de iodo y tiofeno en soluciones de n-heptano sometidas previamente a burbujeo con diferentes gases. La cantidad de luz absorbida a la longitud de onda de fotólisis se determinó usando como actinómetro ferrioxalato de potasio.

Los resultados muestran que en las condiciones experimentales de este trabajo, se obtuvieron productos provenientes de la reacción del radical tienilo, y no se obtuvieron productos de sustitución aún en solventes más polares que n-heptano.

Para convalidar los resultados experimentales, se realizaron cálculos que permitieron analizar la factibilidad de que ocurriera la transferencia del electrón en el par radical generado originalmente, por la ruptura homolítica del enlace carbono-iodo (C-I) en el 2-iodotiofeno, en los distintos solventes utilizados.

Con la colaboración de la Dra. Adriana Olleta, integrante del grupo de investigación del INFIQC (Departamento de Físicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, UNC), se realizaron cálculos de potenciales de ionización (P.I.) del radical tienilo, afinidad electrónica del átomo de iodo y energía libre de solvatación del ioduro y carbocación correspondientes, en los tres solventes utilizados. Los cálculos se realizaron a nivel de teoría B3LYP con el conjunto de base interno LANL2DZ Extra Basis. Las energías de solvatación fueron calculadas por el método Campo de Reacción Auto

Consistente basadas en el Modelo Continuo Polarizado (SCRF=PMC) (Barone et al., 1997).

Los resultados mostraron que el proceso de formación del carbocatión y yoduro no sería termodinámicamente favorable para el 2-iodotiofeno en ninguno de los tres solventes.

Se propuso un mecanismo de reacción, en todos los solventes investigados, que se inicia por un proceso fotoquímico primario, seguido por la reacción de abstracción de un átomo de

hidrógeno de los mismos por parte del radical tienilo. Los átomos de yodo se recombinan generando I_2 , que luego interviene en reacciones secundarias.

Publicaciones

Herrera, O. S.; Nieto, J. D.; Lane, S. I. and Oexler, E. V. 2003. The Gas-Phase Reaction of the CF_3 Radical with Thiophene. *Can. J. Chem.*, **81** : 1477-1481.

**ULTRASONOMETRÍA EN ADULTOS JÓVENES DE TRES ÁREAS
GEOGRÁFICAS DE ARGENTINA: SU RELACIÓN CON MARCADORES ÓSEOS
EN ORINA BASAL Y CON LA INGESTA DE CALCIO.**

Ortiz Susana Raquel

Tesis para el grado de Doctor en Bioquímica realizada y presentada en la Facultad de Ciencias Naturales UNPSJB. Director: Dra. María Luz Pita Martin de Portela, Consejero de estudio: Dra. María Angélica Fajardo. Fecha de Defensa: 2 de Noviembre 2007. Número total de páginas de la tesis: 231

Palabras claves: ingesta de calcio, ultrasonometría de calcáneo, adultos jóvenes.

Introducción

La adquisición y mantenimiento de la máxima densidad mineral ósea alcanzada en un individuo se atribuye a factores genéticos y estilo de vida, pero también está demostrado que está condicionada por aspectos metabólicos y nutricionales.

La pérdida de la densidad mineral ósea, que conduce a osteopenia y osteoporosis, se confirma mediante la determinación de la densidad mineral ósea. El estudio de la osteoporosis está centrado fundamentalmente en la población más susceptible de padecerla como son las mujeres menopaúsicas y posmenopáusicas. Como medida adicional dinámica para determinar el grado de remodelamiento óseo se utilizan marcadores bioquímicos de recambio óseo, de formación como de resorción, los cuales además son importantes para efectuar el seguimiento y la eficacia de los tratamientos antiresortivos.

La Organización Mundial de la Salud aconseja para el diagnóstico de

osteoporosis el uso de la densitometría ósea, aunque reconoce que pueden utilizarse otros métodos como la ultrasonometría (US).

Los estudios realizados por la Food and Drug Administration (FDA), con diferentes equipos de US, han determinado que los resultados obtenidos en éstos son comparables a los densitométricos en la evaluación de la osteoporosis y predicción del riesgo de fracturas (FDA, 1998). El equipo de ultrasonometría es portátil y no precisa una instalación especial, ni personal autorizado, ya que no presenta emisión de rayos X; es de bajo costo y requiere unos pocos minutos para realizar una medición. Las desventajas que presenta, son la falta de estandarización de las medidas entre los diferentes modelos y los elevados coeficientes de variación de atenuación de banda ancha (BUA), que corresponde a la energía perdida durante la propagación a través del tejido. Además, según el fabricante se pueden

expresar los resultados utilizando otros parámetros como la velocidad del sonido (SOS), midiendo la velocidad de transmisión del ultrasonido.

Esta técnica se ha utilizado mayormente en investigación, por lo que existe poca experiencia en la práctica clínica; los estudios sobre su utilidad para diagnosticar osteopenia y osteoporosis son escasos y la mayoría de ellos están dirigidos a población osteoporótica de edad avanzada, lo que dificulta su extrapolación a una población de edades inferiores (adultos jóvenes). Sin embargo, el ultrasonido ha revelado ser efectivo al estudiar su relación costo-efectividad en el diagnóstico de osteoporosis, frente a la lista de factores de riesgo (historia familiar de osteoporosis, osteopenia radiológica, enfermedades o tratamientos osteopenizantes, menopausia temprana).

La osteoporosis no debería formar parte del envejecimiento normal, por lo que se necesita un plan que efectúe la prevención en edades tempranas, mediante educación, para que las generaciones más jóvenes tengan la oportunidad de alcanzar y mantener la masa ósea pico óptima y reducir el riesgo de posteriores fracturas osteoporóticas. Sin embargo, esta prevención es deficiente en adultos jóvenes, en parte condicionada por la dificultad en el acceso a las pruebas diagnósticas, por los costos que éstos representan y, en segundo lugar, por la poca importancia que en general se le presta a las medidas preventivas.

La utilización en adultos jóvenes de medios diagnósticos alternativos, entre los que se destacan los ultrasonidos, contribuiría a nivel poblacional a prevenir este problema de salud de gran repercusión en la morbimortalidad de los

pacientes y en los costos de los sistemas de salud.

OBJETIVOS

Teniendo en cuenta las consideraciones expuestas, y dado que no es habitual realizar estudios de rutina para evaluar el tejido óseo en mujeres adultas jóvenes, y mucho menos aún en varones, en el presente estudio se convocaron mujeres y varones, voluntarios, sanos, de 20 a 40 años, de tres áreas geográficas de Argentina (Comodoro Rivadavia, Buenos Aires y Tucumán), estableciendo los siguientes objetivos del presente trabajo:

a) Recopilación de datos de ingesta diaria habitual de calcio (ICa).

b) Determinación de marcadores bioquímicos Ca/Crea y Dpir/Crea en orina basal.

d) Obtención de valores de ultrasonometría de calcáneo, que pudieran ser propuestos como valores de referencia.

c) Evaluación de las interrelaciones entre BUA, ICa, Calcio/Creatinina (Ca/Crea) y Deoxipiridinolina/Creatinina (Dpir/Crea).

Los voluntarios debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión:

- Adultos jóvenes de ambos sexos (20-40 años).

- Permanencia en cada zona geográfica por más de 5 años.

- Ausencia de diabetes, trastornos tiroideos, tratamiento con corticoides, anticonvulsivantes, diuréticos, antecedentes de fracturas espontáneas y traumáticas o inmovilización prolongada (más de 3 meses).

- En las mujeres, ausencia de embarazo o lactancia en los dos últimos años, o síntomas de menopausia precoz, según interrogatorio acerca de la

regularidad de los ciclos menstruales y, eventualmente, determinación de LH y FSH.

Los voluntarios dieron su consentimiento por escrito para participar en el estudio, de acuerdo a las Normas Éticas Internacionales en vigencia, y a las del Comité de Investigación y Docencia del Hospital Regional de Comodoro Rivadavia. A continuación se les entregaron las instrucciones pertinentes para la recolección de la muestra de orina.

Los grupos quedaron constituidos por: 132 mujeres y 52 varones en Comodoro Rivadavia (CR), 52 mujeres y 13 varones en Buenos Aires (BA) y 56 mujeres y 30 varones en Tucumán (T).

MATERIALES Y METODOS

Se realizó una encuesta alimentaria, por recordatorio de la frecuencia de consumo de alimentos durante 7 días. Se calculó la ingesta de calcio (ICa) utilizando las Tablas Nacionales de Composición Química de Alimentos, las Alemanas, las de Cenexa o los rótulos de los alimentos envasados.

También se encuestó la actividad física teniendo en cuenta el tipo y la frecuencia de la actividad realizada, y el hábito de fumar, registrando la cantidad de cigarrillos fumados por día, datos que sólo fueron obtenidos en Comodoro Rivadavia y Tucumán; asimismo, se registró peso, talla y se calculó el índice de masa corporal (IMC).

Los voluntarios recolectaron la orina basal, la segunda micción luego de descartar la primera de la mañana, en ayunas de líquidos y sólidos. En esta muestra se determinó: Ca (método calorimétrico), Crea (método cinético), Dpir (enzimoinmunoensayo de

competencia), Na (método ion selectivo) y urea (método cinético).

La ultrasonometría se realizó con un equipo portátil QUS-2TM de Metra Biosystems, que mide el BUA y lo expresa en decibeles por megahertz (dB/mHz) (FDA, 2000).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Al analizar la ICa, se encontró que, un elevado porcentaje de las mujeres de CR y BA presentaban bajas ingestas de calcio; sin embargo, los porcentajes fueron menores en la ciudad de Tucumán, probablemente por la acción educativa del CERELA (Centro de Referencia de Lactobacilos) y la difusión de sus conocimientos e investigaciones a nivel de la población. Por otra parte, el porcentaje de cobertura de la IA de Ca fue mayor en los varones que en las mujeres.

No se encontró correlación entre BUA e ICa en el total de mujeres y varones estudiados.

No existió correlación entre los marcadores bioquímicos Ca/Crea y Dpir/Crea y la ICa ni tampoco con la ultrasonometría.

Se encontró que los valores de Dpir/Crea varían en función de la edad, y se establecieron ecuaciones que permitirían predecirlo; hallando un valor mínimo de Dpir/Crea (nmol/mmol), de 5,01 para las mujeres a la edad de 30 años y de 3,78, para los varones a la edad de 31 años.

En función de la edad correspondiente al valor mínimo de Dpir/Crea, se establecieron los rangos de edad y se calculó la Mediana (Q₁-Q₃) de Dpir/Crea, cuyos valores fueron en las mujeres de 20-29 años de 6,28 (5,28 - 8,05), y de 5,93 (5,05 - 7,43) en las de 31-40 años; y para los varones de 20-30 y

32-40 años de 4,71 (4,10 – 6,48), y de 3,75 (3,52 – 5,06) respectivamente.

Con respecto al rango de edad de los individuos estudiados se comprobó que dicha variable no tuvo influencia sobre el valor del BUA, a diferencia del peso e IMC en las mujeres, no así en los varones.

Por otra parte, la evaluación de la ultrasonometría en función de la actividad física, demostró que los valores de BUA fueron mayores cuando se realizaba actividad física en las mujeres, no encontrando lo mismo en los varones.

Con respecto al hábito de fumar, el BUA de las mujeres fumadoras fue menor que aquellas no fumadoras, y en los varones no se encontraron diferencias significativas entre fumadores y no fumadores.

Debido a esta influencia sobre los valores del BUA, tanto de la actividad física como el hábito de fumar, en las mujeres, se analizó el grupo de las no fumadoras (n=135), en función de que realizaran o no actividad física, para proponer como valores de referencia

provisionales de BUA (dB/mHz): Promedio (P5 – P95): 85 (70 – 102) (dB/mHz).

Con respecto a los varones, como no se encontraron diferencias entre los valores del BUA en función de la actividad física ni el hábito de fumar (n= 91), se consideraron como valores de referencia provisionales para el BUA (dB/mHz) Promedio (P5 – P95): 97 (76 – 117) (dB/mHz).

BIBLIOGRAFÍA

- FDA. Center for Devices and Radiological Health of the Food and Drug Administration. Premarket Approval Application (PMA); 1998 Report N°: P970017. p. 1-46.
- FDA. Center for Devices and Radiological Health of the Food and Drug Administration. Premarket Approval Application (PMA); 2000 Report N°: P990039. p. 1-19.

MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS QUINOLONAS ANTIBACTERIANAS

Pinto Vitorino.Graciela

Tesis para el grado de Doctor en Farmacia realizada en el Departamento de Farmacia y Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB) y Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba (UNC). Presentada en la Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB. Director: Dr. Gustavo Daniel Barrera, Co-Directora: Dra. María Rosa Mazzieri Fecha de Defensa: 17 de Diciembre de 2007. Número total de páginas de la tesis: 229

Palabras claves: quinolonas, ciprofloxacino, norfloxacino, mecanismo de acción.

Introducción

La *Química Medicinal* fue definida por la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), en 1997, como la disciplina basada en la química, que involucra aspectos de las ciencias biológicas, médicas y farmacéuticas. Estudia a los compuestos biológicamente activos, en los aspectos concernientes a la invención, descubrimiento, diseño, identificación y preparación, al metabolismo, a la interpretación del modo de acción a nivel molecular y a la construcción de las relaciones estructura-actividad. En este marco conceptual y metodológico se ubica el presente Trabajo de Tesis, que tiene como objetivo principal realizar aportes a la interpretación del mecanismo de acción a nivel molecular de las quinolonas antibacterianas.

Las quinolonas son compuestos antimicrobianos de origen sintético que

presentan rápida acción bactericida, amplio espectro, importante eficacia terapéutica, buena penetración tisular y efectos adversos tolerables. Las propiedades químicas, físicas y de actividad antibacteriana *in vitro* e *in vivo* de estas drogas han sido ampliamente estudiadas. Actúan inhibiendo la actividad de ADN girasa y/o topoisomerasa IV, enzimas involucradas en la conservación de la topología del ADN. Existen diversas propuestas respecto al mecanismo de acción a nivel molecular de estas drogas. Un modelo plantea la unión cooperativa de cuatro quinolonas a una zona del ADN, cuya estructura se encuentra distorsionada por acción de la ADN girasa (Shen, 1989). Otra propuesta consistiría en la unión de dos quinolonas, de forma independiente, al ADN desplazando cada una de ellas a una molécula de citosina (Heddle, 2002). Por otra parte, se ha planteado que en un complejo ternario,

constituido por quinolona, ADN y girasa, la primera se uniría al ADN mediante un puente Mg^{2+} (Llorente, 1996). Sin embargo, estas hipótesis son cualitativas y requieren estudios más profundos considerando que el conocimiento de los mecanismos de acción tiene un alto impacto en el descubrimiento y diseño de nuevos compuestos con propiedades terapéuticas mejoradas tales como, mayor selectividad, menor toxicidad, mayor potencia, entre otros.

Entonces, teniendo en cuenta que:

- han sido sugeridos diversos modelos para justificar el modo de acción de las FQs a nivel molecular,
- no ha sido posible hasta el momento la obtención de una estructura cristalina de alta resolución del complejo enzima-FQ-ADN,
- es dificultoso comprobar experimentalmente la autoasociación de moléculas de FQ, se consideró de gran importancia plantear diseños experimentales alternativos para contribuir a una mejor comprensión del mecanismo de acción de estos antibacterianos, particularmente al que propone un efecto cooperativo. Éste panorama ha servido de motivación para el planteamiento de la hipótesis del presente trabajo de Tesis: "La existencia de heterodímeros formados por moléculas de fluorquinolonas, con ligeras diferencias estructurales entre ellas e igual mecanismo de acción microbiológico, puede contribuir a apoyar el modelo cooperativo de actividad".

Además, dado que los compuestos en estudio presentan acción antibacteriana, se pretendió estudiar no sólo las interacciones intermoleculares, sino también los efectos de estas interacciones en los microorganismos. Se sabe que la combinación de dos drogas antibacterianas puede actuar sobre las

células generando respuestas que no se explican por la suma de actividades individuales, es decir, interacciones entre las moléculas podrían ocasionar sinergismo.

Es así que se planteó el estudio desde tres enfoques diferentes y complementarios como son el microbiológico, el fisicoquímico y el químico-teórico, que permitieran describir la posible heteroasociación entre FQs, en el estado sólido, líquido y gaseoso.

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- determinar la actividad antimicrobiana de mezclas binarias de FQs (Concentración Inhibitoria Mínima, Concentración Inhibitoria Fraccionaria, Curva de Muerte, Estrés Oxidativo) y compararla con la actividad de las drogas individuales.
- realizar el estudio conformacional y el modelado molecular de las FQs y sus posibles heteroasociaciones, mediante cálculos moleculares de estructura electrónica.
- estudiar la asociación molecular, a partir del comportamiento de las FQs en solución.
- estudiar la formación de heterodímeros, a partir del comportamiento de las FQs en el estado sólido.

En función de ellos se realizaron las siguientes actividades experimentales o metodológicas:

- ✓ se determinó la actividad antimicrobiana de mezclas binarias de FQs (Concentración Inhibitoria Mínima, Concentración Inhibitoria Fraccionaria, Curva de Muerte, Estres Oxidativo) y se realizó la comparación con la actividad de las drogas individuales;

✓ se efectuó el estudio conformacional y el modelado molecular de las FQs, la interacción con agua y sus posibles homo y heteroasociaciones, aplicando los métodos PM3, B3-LYP/6-31+G* y B3-LYP/6-31+G* + PCM;

✓ se evaluó la factibilidad de la formación de heterodímeros, a partir del comportamiento de las FQs en solución, mediante espectrofotometría UV-Vis (con variación de pH, concentración, temperatura y composición del solvente) y de fluorescencia;

✓ se estudió la formación de heterodímeros, a partir del comportamiento de las FQs solas y en combinación, en el estado sólido, mediante de las siguientes técnicas: microscopía óptica, microscopía de platina calentable, microscopía de luz polarizada, calorimetría diferencial de barrido, espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier, resonancia magnética nuclear de ¹³C en estado sólido y difracción de Rayos X de polvo.

Los resultados obtenidos se resumen en los siguientes ítems:

✓ Observación de efecto sinérgico o parcialmente sinérgico y, principalmente, falta de efecto de indiferencia en los estudios de actividad microbiológica de combinaciones de ciprofloxacino (CIP) y norfloxacino (NOR).

✓ Evidencia de la capacidad de interacción entre monómeros, dando lugar a homodímeros más estables que monómeros y a heterodímeros más estables que homodímeros, mediante formación de uniones puente hidrógeno, evaluada por cálculos teóricos.

✓ Obtención de un coprecipitado constituido por cantidades equimoleculares de CIP y NOR con características de "cocrystal". A partir de una solución de pH fisiológico y fuerza

iónica 2,0 ó 0,15, CIP y NOR coprecipitan. Todos los resultados experimentales obtenidos, tales como temperaturas de fusión, perfiles CDB, espectros de ¹³C RMN CP-MAS del estado sólido y, fundamentalmente los patrones de difracción de Rayos X indican claramente que el coprecipitado de CIP y NOR (COP) posee propiedades físicas diferentes no sólo de las drogas puras, sino también de la mezcla equimolecular de las mismas, es decir, se trataría de un cocrystal. Sumado a ello, los datos de ¹H NMR en solución demuestran que COP es un complejo formado por la heteroasociación 1:1 de CIP y NOR.

Si bien los resultados de los estudios del comportamiento en solución no son concluyentes y necesitarán de futuras investigaciones, todos los demás resultados logrados suman evidencias de la capacidad de las FQs de auto y heteroasociación y serían consistentes con la idea de que un efecto cooperativo entre FQs interviene en el mecanismo de acción de estas moléculas, al interactuar con sus dianas moleculares (complejos DNA-girasa o DNA-topo IV).

BIBLIOGRAFÍA

- Heddle, J.G. & Maxwell, A. 2002. Quinolone-Binding Pocket of DNA Gyrase: Role of GyrB. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**: 1805-1815.
- Llorente, B., Leclerc, F. & Cedergren, R. 1996. Using SAR and QSAR Analysis to Model the Activity and Structure of the Quinolone-DNA Complex. *Bioorg. Med. Chem.* **4**: 61-71.
- Shen, L.L., Mitscher, L.A., Sharma, P.N., O'Donnell, T.J., Chu, D., Cooper, C.S., Rosen, T. & Pernet, A.G. 1989. Mechanism of Inhibition of

Pinto Vitorino Graciela: Resumen de Tesis

DNA Gyrase by Quinolone
Antibacterials: A Cooperative Drug-
DNA Binding Model. *Biochem.* **28**:
3886-3894.

Publicación alcanzada durante el trabajo
de Tesis:

Pinto Vitorino, G., Barrera, G.D., Mazzieri,
M.R., Binning Jr., R.C. & Babelo,
D.E. 2006. A DFT Study of
Microhydration in Norfloxacin.
Chem. Phys. Lett. **432**: 538–544.

**ESTUDIO DEL SISTEMA DE POLISACÁRIDOS DE *ADENOCYSTIS*
UTRICULARIS, UN ALGA PARDA DE LAS COSTAS PATAGÓNICAS ARGENTINAS
DE POSIBLE UTILIZACIÓN FARMACOLÓGICA Y/O INDUSTRIAL**

Ponce Nora Marta Andrea.

Tesis para el grado de Doctor en Farmacia realizada en el Depto. de Química Orgánica (FCEN – UBA) en su mayor parte, y Depto. de Farmacia (FCN – UNPSJB). Presentada en la Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB. Director: Dr. Carlos Arturo Stortz (FCEN – UBA). Co-Directora: Dra. María Luján Flores (FCN – UNPSJB). Fecha de Defensa: 23 de marzo de 2007. Número total de páginas de la tesis: 299

INTRODUCCIÓN

Las algas pardas biosintetizan polisacáridos tales como laminaranos, alginatos y fucoidanos. El estudio estructural de estos últimos ha resultado muy complejo, por lo que existe poca referencia al respecto a nivel mundial, pese a que han demostrado importantes actividades biológicas. En las costas patagónicas, es abundante el alga parda *Adenocystis utricularis*, la cual no había sido estudiada desde el punto de vista de sus fucoidanos. Este hecho, sumado a la posibilidad de obtener compuestos con potencialidad farmacológica, motivó el estudio de los polisacáridos de dicha especie.

OBJETIVOS

Estudiar distintos modos de extracción de los polisacáridos, analizando la influencia que pueden tener los mismos en la pureza del material aislado y efectuar la elucidación estructural de los polisacáridos

purificados. Además, evaluar distintas actividades biológicas de los fucoidanos y llevar a cabo un análisis de relación estructura-actividad.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El alga parda *Adenocystis utricularis* fue colectada en "La Lobería" (Santa Cruz), en las épocas de verano y otoño. Los ejemplares secos fueron molidos y sometidos a distintas secuencias extractivas. En todos los casos, el primer solvente de extracción fue etanol acuoso al 80 % y posteriormente se utilizaron distintos solventes (H₂O destilada, solución de CaCl₂ al 2 %, HCl pH 2). Sobre los extractos obtenidos se determinó el contenido de azúcares totales, ácidos urónicos, ésteres sulfato, proteínas totales, peso molecular, y aminoazúcares en algunos casos. Además se analizó la composición monosacáridica. El fraccionamiento de los extractos se realizó por precipitación con cetrimide.

Sobre las fracciones obtenidas se efectuaron los análisis arriba descritos y las mayoritarias se estudiaron estructuralmente mediante metilación, desulfatación y CGL-MS. Sobre las obtenidas con NaCl 2 M se realizó ^1H -RMN y ^{13}C -RMN. Se evaluó la actividad antiviral de los extractos y algunas fracciones frente a los virus Herpes Simplex tipos 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) y de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Además se determinó la actividad anticoagulante en algunos casos. Se estudió el alga utilizando Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) y los polisacáridos de la pared celular se localizaron mediante histoquímica utilizando Microscopía Óptica (MO).

Además se efectuó un estudio preliminar sobre los extractos alcohólicos. Los compuestos fenólicos se cuantificaron y se analizó su composición mediante cromatografía planar y EFM UV-Vis. Finalmente se evaluaron distintas actividades biológicas de estos extractos (citotoxicidad mediante el Test de la *Artemia salina* y bioensayo de inhibición de la elongación de raíces de semillas de trigo, mecanismo de acción a través del método del metil green-ADN y actividad antibacteriana y antioxidante).

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Se presenta una descripción general de las algas, teorías sobre su origen y clasificación, y algunos detalles de índole botánica. Además se hace una revisión taxonómica a nivel ordinal y específicamente del género *Adenocystis*. Se describen distintos modelos propuestos para la estructura de la pared celular de las algas pardas, y el rol fisiológico de los polisacáridos de las mismas. Además se presenta una recopilación acerca de los antecedentes

de fucoidanos aislados de distintas algas e invertebrados. Se resumen las características de los virus Herpes Simplex tipos I y II (VHS I y II), y virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). Respecto de ambos virus, también se mencionan los agentes terapéuticos utilizados para combatirlos y los antecedentes de la actividad de polisacáridos de algas frente a dichos virus. También se describen los antecedentes existentes de actividad anticoagulante, antitrombótica y otras relacionadas con fucoidanos.

Las observaciones al MET permitieron distinguir en la pared celular; una capa más interna de aspecto fibrilar que se dispone adyacente al plasmalema, y otra externa, más amorfa debido a una disposición desordenada del material fibrilar. Las coloraciones sugirieron un bajo contenido de alginato en las secciones. Con el fin de localizar este polisacárido en las paredes celulares, se sintetizó una sonda fluorescente para hibridización *in situ* con ácido alginico en presencia de calcio. La hibridización con la sonda en las células corticales internas se pudo correlacionar con el tipo de crecimiento algal. Los fisodes reaccionaron con distintos colorantes.

En base a experiencias realizadas en pequeña escala, se diseñó una extracción de tipo preparativa a los fines de obtener mayor cantidad de material para proceder a su purificación y elucidación estructural. Los solventes utilizados en forma paralela fueron H_2O , solución de CaCl_2 , y HCl diluido. Los extractos etanólicos (EO1 y EO2) presentaron bajos porcentajes de hidratos de carbono y proteínas (1 %) y sólo trazas de grupos iónicos. Además presentaron importantes porcentajes de

sales. Los restantes extractos obtenidos en frío (**EW1**, **EC1** y **EA1**) presentaron proporciones similares de grupos iónicos (8 % de ácidos urónicos y 30-34 % de sulfato). El agua en frío extrajo un importante porcentaje de proteínas. La fucosa y la galactosa fueron en todos los casos los monosacáridos mayoritarios. A diferencia de los anteriores, en los tres extractos obtenidos en caliente (**EW2**, **EC2** y **EA2**) hubo diferencias; mientras que los extractos **EW2** y **EA2** presentaron semejanzas entre sí, el extracto obtenido con la sal de calcio (**EC2**) presentó similitudes con los extraídos a temperatura ambiente. En **EW2** y **EA2** la relación de grupos iónicos se vio invertida respecto de los extractos obtenidos en frío y **EC2**. La fucosa y la galactosa también fueron los componentes mayoritarios en todos los extractos obtenidos en caliente. En **EW2** y **EA2** se observaron importantes cantidades de manosa (9 %) acompañando a la fucosa y a la galactosa. Se determinó que toda la fucosa pertenece a la serie L y que toda la galactosa pertenece a la serie D. Se pudo determinar además la presencia de ácido algínico.

Los intentos de fraccionar los extractos utilizando cromatografía fueron infructuosos. En consecuencia se procedió a efectuar el fraccionamiento utilizando precipitación con cetrimide. De esta manera se obtuvieron cinco fracciones de los seis extractos, de las cuales aquellas obtenidas con NaCl 0,5 y 2 M resultaron mayoritarias. Las primeras (fracciones **-5**) fueron más importantes para los extractos **EW2** y **EA2**, mientras que las segundas (fracciones **-20**) predominaron en los fraccionamientos de los extractos en frío y **EC2**. Si bien en todas las fracciones

predominaba la fucosa, las fracciones **-5** presentaron importantes cantidades de manosa y ácidos urónicos, acompañadas de menores cantidades de xilosa y éster sulfato, y pesos moleculares relativamente bajos. Por sus características estas fracciones fueron denominadas "uronofucoidanos". En cambio, las fracciones **-20** presentaron importantes proporciones de sulfato y estaban compuestas básicamente por fucosa y galactosa, por lo que fueron denominados "galactofucanos".

Las fracciones **-5** mostraron un patrón de metilación muy complejo, con gran heterogeneidad de unidades metiladas.

En las fracciones **-20** se determinó que el componente "fucano" estaba compuesto fundamentalmente de una cadena de α -L-fucopiranosas enlazadas en posición 3, principalmente sulfatadas en C-4 y ramificadas en C-2, con unidades terminales de fucopiranosas y fucofuranosas no sulfatadas y unidades de fucopiranosas sulfatadas en C-2. La porción de "galactano" presentó algunas unidades de galactosa con configuración β - y otras probablemente α -. Predominaron las unidades de D-galactopiranosas unidas a través de C-3 y C-6 y sulfatadas principalmente en C-4, incluso en unidades terminales no reductoras.

En los extractos **EO1** y **EO2** se evidenció la presencia de proteínas, cerca de 1 % de taninos y/o polifenoles (en ambos extractos) y la presencia de los ácidos clorogénico, cumárico y gálico en **EO1** (solamente de este último en **EO2**).

Se efectuaron distintos ensayos de actividad biológica:

1- Se evaluó la actividad frente a HSV-1 y HSV-2 de los extractos

procedentes de la extracción preparativa y de las fracciones mayoritarias. Salvo los etanólicos, los demás extractos no fueron citotóxicos. Aquellos obtenidos en frío fueron los más activos frente a dichos virus (CI_{50} 1,25 - 2,16 $\mu\text{g/ml}$). Las fracciones enriquecidas en galactofucanos (-20) presentaron el mayor poder inhibitorio (CI_{50} 0,28 a 1,36 $\mu\text{g/ml}$).

2- Las fracciones de galactofucano se evaluaron frente al VIH. Se observó un efecto citotóxico reducido. Respecto de la inhibición de la replicación del virus las más activas fueron las fracciones provenientes de los extractos obtenidos con ácido clorhídrico en frío (EA1-20, CI_{50} 0,6 $\mu\text{g/ml}$) y las obtenidas a 70 °C con ácido diluido y solución de calcio (CI_{50} 3 $\mu\text{g/ml}$ y 0,9 $\mu\text{g/ml}$ para EA2-20 y EC2-20, respectivamente). Se determinó que el mecanismo de acción anti-VIH es mediante la inhibición de la adsorción viral. Se determinó un débil efecto

anticoagulante de las fracciones de galactofucano ensayadas.

3- Todos los extractos resultaron citotóxicos. Aquellos obtenidos con ácido fueron los más activos frente a la *Artemia salina*. El método de metil green-ADN permitió concluir que la citotoxicidad ocurre por un mecanismo distinto de la intercalación en el ADN.

4- Los extractos EO1 y EO2 no presentaron actividad frente a las bacterias *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, y mostraron capacidades antioxidantes demasiado bajas (1,1 y 2,1 % de inhibición, para EO1 y EO2, respectivamente).

Palabras claves: *Adenocystis utricularis* – algas pardas – pared celular – fucoidanos – alginatos – laminaranos - taninos.

Publicaciones logradas durante el desarrollo de la Tesis: 2.

**TESIS DE MAESTRIA DE DOCENTES E
INVESTIGADORES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
NATURALES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA
PATAGONIA SAN JUAN BOSCO**

2007

Naturalia patagónica, 4(1): 154-157 (2008)

ASOCIACIONES DE CIANOFÍCEAS MARINAS BENTÓNICAS EN PUNTA MAQUEDA (SANTA CRUZ).

Zalazar Hilda del Valle

Tesis para el grado de Magíster en Ecología Marina Bentónica realizada y presentada en la Facultad de Ciencias Naturales UNPSJB. Director: Dra. Alicia Boraso de Zaixso. Fecha de Defensa: 17 de abril de 2007. Número total de páginas de la tesis: 99

Palabras claves: cianofíceas bentónicas, intermareal, composición estacional, factores ambientales.

Introducción

El conocimiento sobre las cianofíceas marinas del litoral patagónico argentino se debe exclusivamente al trabajo realizado por Halperín (1964, 1967, 1969, 1970, 1974) en Puerto Deseado (Santa Cruz) y en Golfo San José, el Golfo Nuevo y en los alrededores de Rawson (Chubut) y por Halperín & Wenzel (1987) en la provincia de Río Negro. La mayoría de estos trabajos se refieren principalmente a aspectos taxonómicos y mencionan el hábitat de las especies. No existen otros estudios sobre la composición de las asociaciones de cianofíceas marinas para la costa argentina y tampoco sobre la distribución vertical en el intermareal ni sobre los factores que afecten a la misma. Por tal motivo, el objetivo general de este trabajo fue analizar la composición de las taxocenosis de cianofíceas bentónicas en biodermas de Punta Maqueda (Santa Cruz) y su distribución en el litoral rocoso

en función de su altura en el intermareal y gradientes de irradiancia.

En el área de estudio (46° 3' S, 67° 35' W) se realizaron muestreos trimestrales en los niveles medio y superior del piso Mesolitoral y dentro de cuevas, durante el año 1998. Además, con fines comparativos se tomaron seis muestras del piso Supralitoral en el tercer punto de muestreo donde el Supralitoral estaba muy representado.

Se utilizó un cuadrado de 5 x 5 cm de lado para delimitar la superficie de la unidad muestreal (21 u.m. por estación del año), con 3 repeticiones en cada nivel y en tres situaciones de iluminación dentro de la cueva. Las muestras fueron recolectadas manualmente, mediante raspado superficial del sustrato. Las algas se colocaron en sobres de papel vegetal rotulados y conservadas secas o en formaldehído neutralizado al 3% en agua de mar.

De cada unidad muestral se realizaron cinco preparados microscópicos los cuales fueron analizados sistemáticamente. En cada uno se estimó la cobertura porcentual de cada especie volcándose en las planillas el promedio de las mismas como estimación de su abundancia en la unidad muestral.

Para el análisis taxonómico se utilizaron los siguientes criterios morfológicos y citológicos de acuerdo a Geitler (1932), Komárek & Anagnostidis (1986, 1989, 1998, 2005) y Anagnostidis & Komárek (1988): forma celular, largo y ancho de las células, forma de las células del tricoma y forma de la célula terminal o apical del tricoma, constricción de las paredes transversales, inclusiones celulares (gránulos), características de la vaina (grosor, color, estructura) y presencia o ausencia de nanocitos.

La determinación de los grupos y de las especies indicadoras de los mismos se realizó, respectivamente, con los métodos K-medias e Indval versión 2.0. El programa EstimateS versión 5 (Colwell, 1997) se usó para analizar la biodiversidad de los grupos. Para cada grupo se calculó "Abundance Based Coverage Estimator" (ACE) de riqueza específica (Chazdon *et al.*, 1998) y el índice de diversidad de Shannon-Wiener. Para relacionar los grupos obtenidos con los factores ambientales abióticos se utilizó el programa CANOCO (método CCA) empleando los datos originales con transformación logarítmica, preservando en forma intermedia la distancia entre especies y entre unidades muestrales (u.m.). El número de u.m. totales ingresadas para el análisis fue de 86. Los factores ambientales considerados fueron: luz, longitud del día, temperatura, inclinación y nivel. Para seleccionar los factores ambientales que influyen en la

variación de los grupos se utilizó el test de Monte Carlo (999 permutaciones; $p < 0,05$). Previamente, se realizó un análisis de correspondencia sin tendencias (DCA) para calcular la longitud del gradiente y verificar que el CCA era el procedimiento correcto (ter Braak, 1995).

Dentro de los 24 taxa identificados, el 46% correspondió al Orden Oscillatoriales con

5 especies de la familia Phormidiaceae,
5 especies de Pseudanabaenaceae,
1 especie de Schizothrichaceae,
4% al Orden Nostocales con
1 especie de Rivulariaceae,
50% a Chroococcales con
1 especie de Chamaesiphonaceae,
3 especies de Chroococcaceae,
2 especies de Dermocarpellaceae,
2 especies de Microcystaceae,
1 especie de Synechococcaceae y
3 especies de Xenococcaceae.

Gloeocapsopsis crepidinum Xenococcus schousboei y *Leptolyngbya fragilis* se registran por primera vez en la provincia de Santa Cruz.

Xenococcus cladophorae y *Xenococcus pyriformis* constituyen nuevas citas para Argentina.

Gloeocapsa deusta se menciona por primera vez en América.

En las muestras correspondientes al horizonte medio del piso Mesolitoral el número de taxa identificados fue menor (20) en relación a las muestras del horizonte superior del piso Mesolitoral (23). Por otro lado, otoño fue la estación del año en la que se registró el mayor número de especies en las muestras analizadas (20).

Mediante el método K-medias quedaron determinados dos grupos tanto a través del análisis de datos cualitativos como cuantitativos con alto grado de coincidencia entre ambos.

Los resultados del análisis "IndVal" señalan como indicadoras del primer grupo a *Xenococcus pyriformis*, *Porphyrosiphon luteus*, *Leptolyngbya battersii*, *Simploca atlantica* y del segundo grupo a *Gloeocapsopsis crepidinum*, *Schizothrix calcicola* y *Calothrix crustacea*.

Mediante el programa EstimateS se generaron curvas de acumulación de especies e índices de estimación de diversidad.

La forma de las curvas de acumulación de especies y los cálculos de riqueza de cada grupo indican que el número de muestras recolectadas es suficiente para hacer inferencias sobre la riqueza específica de cada uno de ellos en los sitios estudiados. La diversidad del grupo 1 ($H = 2,5$) es mayor que en el grupo 2 ($H = 2$).

Las variables ambientales más importantes para explicar la distribución de los grupos de unidades muestrales fueron determinadas examinando su correlación con los ejes.

El primer eje fue el más importante, explicando el 50,1% de la variabilidad debida a la relación entre los factores ambientales y las especies. Las variables asociadas al primer eje fueron longitud del día, temperatura, luz (correlación positiva) y nivel (correlación negativa). El segundo eje explicó el 22,5% de la variabilidad y se asoció principalmente con la inclinación (correlación negativa). Las especies indicadoras del Grupo 1: *Xenococcus pyriformis*, *Porphyrosiphon luteus*, *Leptolyngbya battersii* y *Simploca*

atlantica se ubican hacia el lado negativo del eje 1 y positivo del eje 2 en tanto que las especies indicadoras del Grupo 2: *Gloeocapsopsis crepidinum*, *Schizothrix calcicola* y *Calothrix crustacea* tienden a ubicarse sobre el lado positivo del eje 1 y 2 indicando, respectivamente, sus afinidades con el nivel, la luz y la longitud del día.

El tercer eje explicó el 12,4% de la varianza y se asoció principalmente con la luz.

El cuarto eje explicó sólo el 8% de la varianza.

La distribución de las unidades muestrales del Grupo 1 está mayormente influenciada por el nivel y la inclinación y las del Grupo 2 por la luz y la longitud del día. El grupo 1 incluye, mayoritariamente, las muestras recolectadas dentro de la cueva en otoño e invierno mientras que en el grupo 2 son más abundantes las muestras recolectadas en los sitios externos a la cueva en verano y primavera.

El análisis multivariado de las taxocenosis estudiadas indica la presencia de dos asociaciones tanto sobre base cuantitativa como cualitativa relacionadas con poca iluminación en la cueva, el nivel y la estacionalidad.

En base a los resultados obtenidos se valida la hipótesis de que los gradientes de altura en el litoral e incidencia de la luz solar influyen en la composición cualitativa y cuantitativa de las taxocenosis de cianofíceas y/o en la distribución en abundancia de las especies.

Bibliografía

- ANAGNOSTIDIS, K. & KOMAREK, J. 1985. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 1- Introduction. Arch. Hydrobiol. Suppl. 71, Algological Studies 38-39: 291-302.
- COLWELL, R.K. 2004. EstimateS. Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples. Version 7. User's Guide and application at: <http://viceroy.eed.uconn.edu/estimateS>
- DUFRENE, M. 2004. IndVal. Instructions to users. Retrieved June 20, 2004, from Unité d'écologie et de biogéographie Web site: <http://mrw.wallonie.be/dgrne/sibw/outils/indval/indval.readme.html>
- HALPERIN, D.R. de. 1967. Cianofíceas marinas de Puerto Deseado (Provincia de Santa Cruz, Argentina).II. Darwiniana, 14 (2-3): 273-354.
- _____. 1970. Cianofíceas marinas del Chubut (Argentina).I. Golfo San José, Golfo Nuevo y alrededores de Rawson. Physis 30 (80): 33-96.
- _____. 1974. Cianofíceas marinas de Puerto Deseado (Provincia de Santa Cruz, Argentina).III. Physis 33 (87): 465-482.
- _____. 1976b. Cianofíceas marinas del Chubut (Argentina).II. Isla de los Pájaros. Bol. Soc. Argent. Bot. 17 (1/2): 133-189.
- HALPERIN, D.R. de & WENZEL, M.T. 1987. Cianofíceas marinas de la provincia de Río Negro (Argentina).I. Darwiniana 28 (1-4): 87-103.
- KOMAREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. 1989. 4-Nostocales. Arch. Hydrobiol. Suppl. 82, 3 Algological Studies 56: 247-345.
- _____. 1998. Cyanoprokariota.1.Chroococcales. In: Ettl, H.; Gärtner, G. & Heynig, H.; Mollenhauen, D. (eds.) SüBwasser flora von Mitteleuropa. Jena Stuttgart Lübeck Ulm. 548 pp.
- _____. 2005. Cyanoprokaryota.2. Oscillatoriales. In: Büdel, B.; Krienitz, L.; Gärtner, G.; Schagerl, M. (eds.) SüBwasser flora von Mitteleuropa. Spektrum Akademischer Verlag. 759 pp.
- LEGENDRE, P. 2004. K-means user's guide. Retrieved June 2, 2004, from Montreal University, Department of Biological Sciences Web site: www.fas.unmontreal.ca/biol/casgrain/fr/labo/k-means.html
- ter BRAAK, C.J.F. & SMILAUER, P. 1998. CANOCO reference manual and user's guide to Canoco for Windows. Software for canonical community ordination (version 4). Microcomputer Power, Ithaca, New York. 351pp.