



ESTUDIO CITOMETRICO EN LA HEMOLINFA DE GRANA COCHINILLA

Leticia Flores-Alatorre Hernández¹, Florencia del Carmen Salinas Pérez¹, Lorena Elizabeth Chávez Güitrón¹, Jorge Reyes Esparza². Universidad Tecnológica de Tecámac¹. Carretera Federal México-Pachuca Km 37.5, Col. Sierra Hermosa, C.P. 55740. Fax 59388453. Universidad Autónoma del Estado de Morelos².
floalaha@hotmail.com

Palabras clave: citometría de flujo, hemolinfa, ácido carmínico.

Introducción. El ácido carmínico es uno de los colorantes naturales que tiene aplicaciones diversas y por consiguiente una gran demanda. Éste es obtenido del insecto conocido como grana cochinilla, *Dactylopius coccus* Costa, la hembra produce este colorante. Es importante determinar la presencia del pigmento de acuerdo a su ciclo, específicamente en la hemolinfa cuya cantidad de células con colorante varían dependiendo de la etapa de maduración. El estudio citométrico permitirá determinar en qué momento del ciclo se identifica la mayor cantidad de células con colorante para poder definir la etapa de cosecha y extacción de ácido carmínico. El objetivo del trabajo es caracterizar células de la hemolinfa de grana cochinilla fina (*Dactylopius coccus* Costa), de acuerdo a su tamaño y granularidad mediante citometría de flujo.

Metodología. Se utilizaron 60 granas hembras, divididas en grupos de 20. Grupo 1, juveniles de 30 días de desarrollo, Grupo 2, oviplenas de 60 días, y Grupo 3, en oviposición de 90 días y con evidencia de haber ovipositado. La hemolinfa se extrajo de la parte posterior y dorsal del abdomen. Las muestras se procesaron y se realizó la lectura en el citómetro, FACS Calibur de Becton Dickinson. Se midieron cincuenta mil eventos de cada muestra y se identificaron las poblaciones celulares predominantes, agrupadas por tamaño, granularidad y presencia de color, integrando los grupos identificados a lo reportado por Aquino y Caselín (1,2). La presencia de color se determinó tomando como patrón de color las esferas de calibración del citómetro y para el patrón incoloro se utilizaron esferas patrón sin color del mismo equipo. El análisis estadístico se realizó en las variables de porcentaje de células por región y etapa de la grana con un análisis de varianza de dos vías de medias repetidas y con la prueba de Duncan se determinó diferencia de medias.

Resultados y discusión. En base al estudio citométrico se identificaron cinco poblaciones celulares, que se denominaron de R1 a R5, considerando tamaño, presencia de colorante y granularidad interna. Donde se distinguió a la región R5 con células grandes, de granularidad media y alta intensidad de colorante y que coincide con los hallazgos de Aquino (1), quien describe un tipo celular que se caracteriza por tener células grandes, cúmulos de glóbulos y colorante.

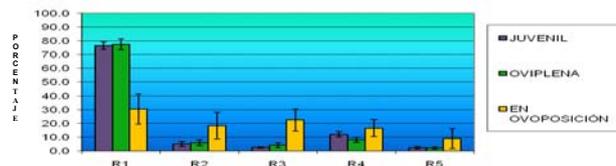


Figura 1. Distribución porcentual de células por región

Cuadro 1. Prueba de Duncan por etapa y región.

REGION	ETAPA		
	Juvenil	Oviplena	Oviposición
1	76.6 a	77.4 a	30.5 b
2	5.0 a	6.0 a	18.4 b
3	2.6 a	4.3 a	22.5 b
4	12.1 a	8.2 a	16.6 b
5	2.3 a	2.1 a	9.0 b

*Literales diferentes indican diferencia significativa $P < 0.05$.

Los datos de la figura 1 muestran valores promedio y la desviación estándar. En esta figura se observa que la etapa de oviposición tiene diferencias significativas con respecto a las etapas juvenil y oviplena $P < 0.05$.

En el cuadro 1 se aprecia en la región 1 diferencias estadísticamente significativas $P < 0.05$, las granas en oviposición tienen un menor porcentaje de células en esta región comparado con las otras etapas. Además se observa que de la región 2 a la 5 existen diferencias $P < 0.05$ entre las granas en oviposición y las etapas juvenil y oviplena; en estas regiones las granas en oviposición presentan un mayor porcentaje de células con colorante que en las otras etapas.

Conclusiones. La grana cochinilla presenta diferencias en los porcentajes celulares en las diversas etapas y la fase que presenta mayor porcentaje de células con colorante es en oviposición; por tanto el momento de cosecha deberá ser granas en esta etapa.

Agradecimiento. Centro de Producción Campo Carmín.

Bibliografía.

- 1.-Aquino P.G. et. al. 2002. Avances en la citología de la cochinilla del nopal *in vivo* e *in vitro* y su biología reproductiva. *Memorias del II Congreso Internacional de Grana Cochinilla*. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco 3-25 pp.
- 2.-Caselín C.S. et. al. 2008. Un vistazo al sistema celular de defensa de la grana cochinilla. *Memorias IV Congreso Internacional de Grana Cochinilla y colorantes naturales*, Colegio de Posgraduados, Montecillos Edo. de México, 123 pp.