



Encuentro
de JÓVENES
INVESTIGADORES

EVALUACIÓN DE PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANAS DE LA SOJA SOBRE LA DIETA DE YACARÉ OVERO (*Caiman latirostris*)

Cainelli, Julieta

Laboratorio de Zoología Aplicada: Anexo Vertebrados (FHUC -UNL /MMA), Santa Fe, Argentina

Directora: Parachú Marcó, María Virginia

Codirectora: Cordero Gil, Trinidad de los Ángeles

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Crocodilia, Alimento, Bacterias

INTRODUCCIÓN

El costo de alimentación de cocodrilianos en cautiverio es muy elevado por lo que se busca desarrollar suplementos alimenticios que complementen y enriquezcan las dietas disminuyendo costos (Hilevski & Siroski, 2021). Estudios recientes han demostrado que los cocodrilianos no presentan una dieta absolutamente carnívora, sino que poseen una dieta muy variada en la que incluyen ciertos vegetales (Hilevski & Siroski, 2021). La soja (*Glycine max*) es utilizada como un complemento alimenticio por su alto valor nutricional ya que posee excelentes propiedades nutricionales y antioxidantes (Siddhuraju, 2002; Romero et al., 2004; Hilevski & Siroski, 2021; Hilevski et al., 2022). En este sentido, algunas investigaciones han reportado que la calidad y valor nutricional de las carnes se pueden mejorar mediante la inclusión de antioxidantes vegetales naturales debido a que sus principales efectos son la reducción del desarrollo microbiano y el retardo en la oxidación de los lípidos (Velasco and Williams, 2011; Valencia et al., 2017; Guance et al., 2019; Serra Bisbal et al., 2020). Dicha actividad antioxidante está dada por sus metabolitos secundarios como los fenoles (Moktan et al., 2008; Serra Bisbal et al., 2020). Si bien existen diferentes estudios acerca de las propiedades antioxidantes de extractos vegetales, hasta el momento no se han evaluado los efectos de los compuestos antioxidantes de la soja en la nutrición de los animales y de los potenciales beneficios que éstos conllevan (Serra Bisbal et al., 2020).

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Evaluar las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de la soja en la dieta de individuos de *Caiman latirostris* criados en cautiverio.

Objetivos específicos:

- Evaluar los potenciales aportes nutricionales de ambos extractos en la dieta de *Caiman latirostris*.
- Evaluar las propiedades antimicrobianas de ambos extractos en la dieta de *Caiman latirostris*

Título del proyecto: EVALUACIÓN INTEGRAL DE HÁBITATS DEL YACARÉ OVERO CON DIFERENTES NIVELES DE PERTURBACIÓN MEDIANTE ESTUDIOS MOLECULARES

Instrumento: CAI+D 50620190100012LI

Año de convocatoria: 2022

Organismo financiador: UNL

Directora: Parachú Marcó, María Virginia



METODOLOGÍA

Elaboración de extractos de soja

En una primera instancia, se preparó un extracto crudo de soja mezclando 1000 ml de etanol al 75% con 100 g de harina de soja. Dicha mezcla se mantuvo en agitación constante durante 48 h y luego se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min. El sobrenadante se colocó sobre una plancha caliente a 75°C, a fin de evaporar el alcohol. Por otro lado, para la elaboración del extracto fermentado se esterilizaron 100 g de semillas de soja en autoclave a 121°C por 15 min. Pasadas 24 h se les añadió una suspensión de levadura activada (*Saccharomyces cerevisiae*) y se las incubó en estufa a 30°C por 24 h. Posteriormente, mediante la trituración de las semillas se procedió a la elaboración de una pasta de soja fermentada, la cual fue incubada nuevamente en estufa a 30°C por 48 h. Finalmente, se mezclaron 150 ml de etanol (75 % v/v) y 150 ml de agua con 2,6 g de la pasta de soja.

Selección y cría de neonatos de *Caiman latirostris*

Se utilizaron tres nidos de *Caiman latirostris* cosechados en la naturaleza los cuales fueron incubados bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. A partir de ellos, se seleccionaron 54 neonatos de *Caiman latirostris* (n=18 por tratamiento, incluyendo réplicas) que fueron distribuidos equitativa y homogéneamente en tres tratamientos: tratamiento control (TC), tratamiento de extracto fermentado de soja (TEFS) y tratamiento de extracto crudo de soja (TECS). Los animales fueron alojados en bateas plásticas bajo condiciones ambientales controladas y alimentados tres veces por semana durante 90 días con pollo molido y su extracto correspondiente: extracto crudo de soja y extracto fermentado de soja. Cada 30 días los individuos eran pesados y medidos, ajustando la cantidad de pollo y el extracto a suministrar dentro de cada dieta en función del crecimiento de los ejemplares.

Medios de cultivo selectivo

Se llevó a cabo el procesamiento del alimento para determinar la biota presente a través de medios de cultivo selectivos para hongos y bacterias, como mesófilos aerobios totales, *Pseudomonas aeruginosa*, coliformes fecales y totales, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.* Para ello, se obtuvo una muestra de 5 g de alimento y se la colocó en una solución de caldo nutritivo al 0,1%. Finalmente, se tomó una alícuota de dicha preparación y se sembró en cada uno de los agares correspondientes incubando todas las placas en estufa, a diferentes temperaturas, durante 48 h. Las placas que contenían los agares selectivos: Cetrimide, MacConkey, Nutritivo, Manitol salado y Salmonella fueron incubadas a 35°C y las placas con agar Sabouraud a 23°C. Actualmente, se encuentra en proceso la evaluación del potencial antimicrobiano de los extractos de soja fermentada y soja cruda.

RESULTADOS/CONCLUSIONES

A diferencia de los estudios previos realizados en alimentación con la incorporación de harina de soja, donde se ha observado un efecto nutricional similar a la dieta de origen animal, los extractos fermentados y crudos de soja no mostraron diferencias de crecimiento en peso ni en longitud total (Gráfico 1 y 2; $p = 0,458$ y $p = 0,294$ respectivamente). Sin embargo, se están llevando a cabo más pruebas para verificar estos resultados.

En cuanto a la determinación de los organismos presentes en el alimento del tratamiento control se encontró una considerable carga bacteriana: *Staphylococcus sp.* (Fig.1 A), coliformes fecales y totales (Fig. 1 B), *Pseudomonas aeruginosa* (Fig.1 C), mesófilos aerobios totales (Fig. 1 D), *Salmonella sp.* y *Escherichia coli* (Fig.1 E) y hongos (Fig. 1 F). Estas bacterias son de gran importancia sanitaria para la industria alimenticia ya que pueden ocasionar ciertas patologías como infecciones, gastroenteritis, neumonía, endocarditis, entre otras. Los cultivos microbiológicos de la dieta basada en la incorporación de los diferentes extractos de soja, aún se encuentran en proceso de elaboración.

Si bien en los medios de cultivo selectivo se evidenció una elevada carga bacteriana y fúngica, como puede observarse en la figura 1A, 1B, 1C, 1D, 1E y 1F; la presencia de estas bacterias y hongos no representan un factor de riesgo de enfermedad en cocodrilianos. Diversos estudios demuestran que los cocodrilianos se encuentran expuestos constantemente a microorganismos patógenos en el ambiente donde habitan. Hecho que podría explicar el desarrollado y complejo sistema inmunológico que estaría asociado a un sistema digestivo con una microbiota intestinal capaz de producir péptidos antimicrobianos.

En líneas generales, todos los neonatos de *Caiman latirostris* bajo experimentación presentaron un buen estado de salud. Al comparar el tratamiento control con los demás tratamientos dietarios se observó que todos los individuos presentaban características físicas similares, tales como: crecimiento constante, habilidades motoras óptimas, ausencia de laceraciones cutáneas, dermatitis y conjuntivitis. Por ende, se concluye que la implementación de extractos en la dieta no tuvo un efecto negativo sobre la salud de los individuos.

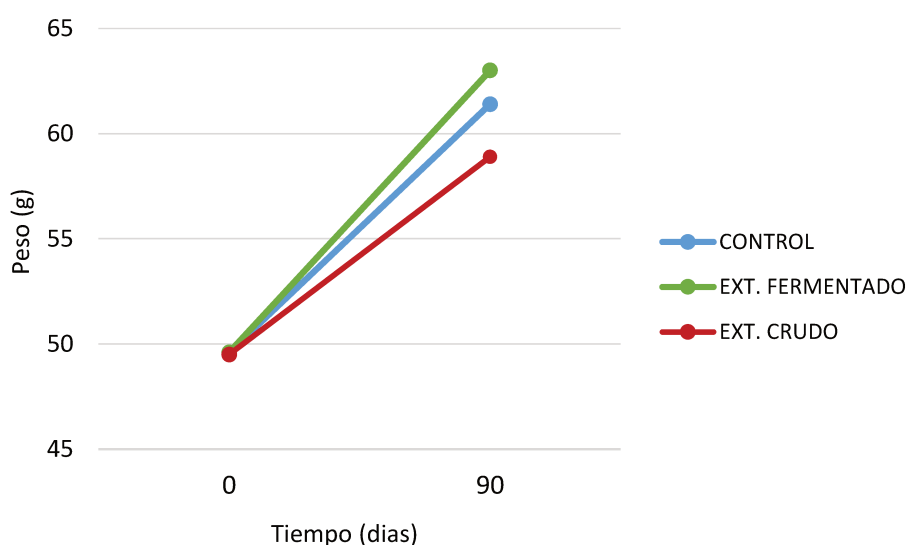


Gráfico 1. Peso inicial y final de los diferentes tratamientos

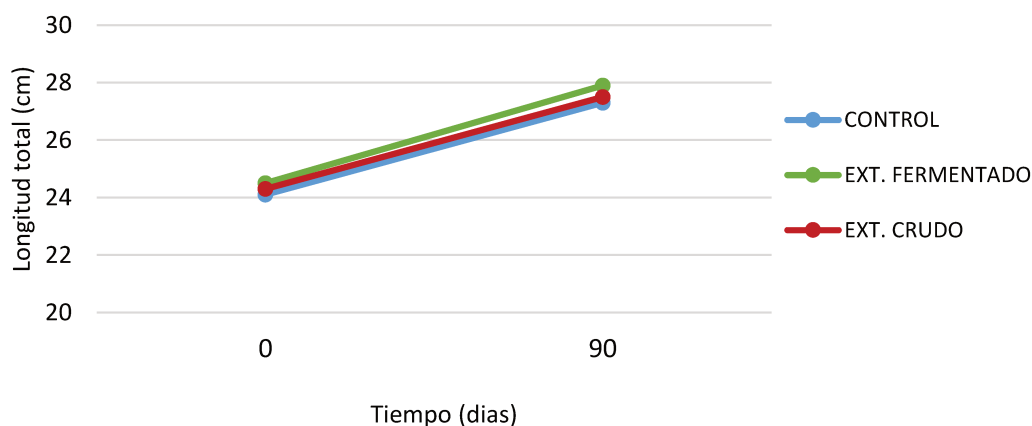


Gráfico 2. Longitud total inicial y final de los diferentes tratamientos

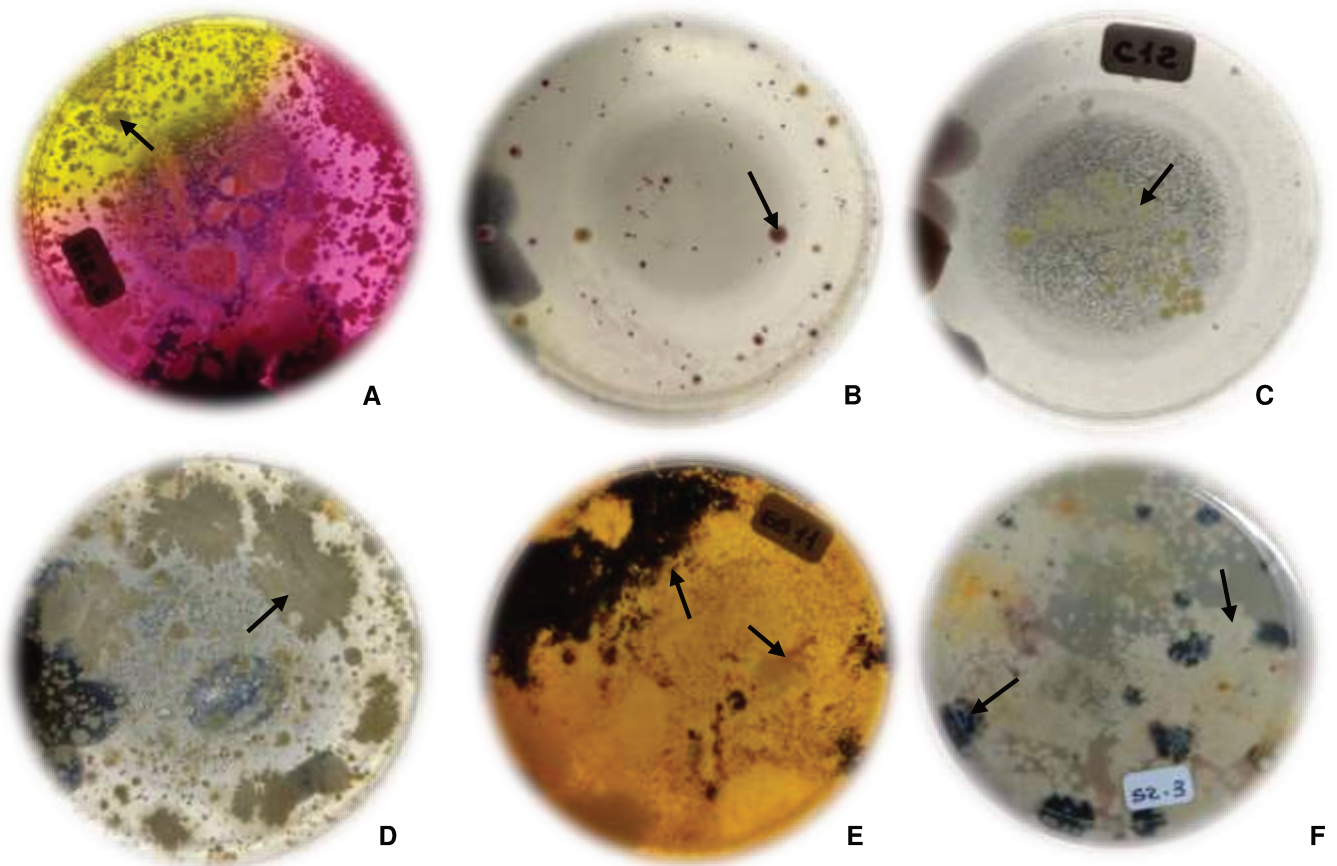


Figura 1. Medios de cultivos selectivos con presencia bacteriana y fúngica.
A. *Staphylococcus* sp. **B.** Coliformes fecales y totales. **C.** *Pseudomona aeruginosa*.
D. Mesofilos aerobios totales **E.** *Salmonella* sp y *Escherichia coli*. **F.** Hongos

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- **Guiance, S., & Isern, D.** (2019). Estudio cuantitativo y comparativo de la actividad antioxidante total en Soja por método FRAP. Revista de investigación académica, (40), 47-60.
- **Hilevski, S., and Siroski, P.** (2021). A novel laxative method for crocodilians and digestibility of soybean (*Glycine max*) in broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). Aquaculture, 533, 736137
- **Hilevski, S., Cordero, T., & Siroski, P.** (2022). Do crocodilians eat plant material? A review of plant nutrients consumed by captive crocodilians. South American Journal of Herpetology, 24(1), 19-25.
- **Moktan, B., Saha, J., and Sarkar, P.** (2008). Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema. Food Research International, 41: 586–593.
- **Romero, A., Doval, M., Sturla, M., & Judis, M.** (2004). Antioxidant properties of polyphenol-containing extract from soybean fermented with *Saccharomyces cerevisiae*. European Journal of Lipid Science and Technology, 106: 424-31.
- **Serra Bisbal, J., Melero Lloret, J., Martínez Lozano, G., & Fagoaga García, C.** (2020). Especies vegetales como antioxidantes de alimentos. Nereis, (12), 71-90.
- **Siddhuraju, P.; Mohan, P., & Becker, K.** (2002). Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L): A preliminary ssesment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers, and fruit pulp. Food Chemistry, 79: 61-67
- **Valencia, E., Figueroa, I., Sosa, E., Bartolomé, M., Martínez, H., & García, M.** (2017). Polyphenols: Antioxidant and toxicological properties. Revista de la Facultad de Ciencias Químicas, 16: 15-29.
- **Velasco, V., & Williams, P.** (2011). Improving meat quality through natural antioxidants. Chilean Journal of Agricultural Research, 71(2): 313-322.