

68
24.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**** DETERMINACION DE Glucósidos Cianogénicos EN
DIFERENTES PARTES DE LA PLANTA DE
SORGO CON TRES DIFERENTES TIPOS
DE PEDIGREE. CULTIVADA EN LA
REGION DE TEXCOCO ****

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
CARLOS ENRIQUE SALINAS JURADO**

**DIRIGIDA POR:
DR. JAQUES JACOB ADES TOTAH**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
SECRETARÍA ACADÉMICA
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Determinación de Glucósidos Cianogénicos en diferentes partes de la planta de Sango con tres diferentes tipos de plaguicidas, cultivada en la región de Texcoco".

que presenta el pasante: Carlos Enrique Salinas Jurado

con número de cuenta: 7858653-1 para obtener el TÍTULO de:
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 29 de Mayo de 1997

PRESIDENTE

Dr. Jacques J. Adé, Totah

VOCAL

Q.F.J. Leticia Zúñiga Ruzic

SECRETARIO

Q.F.B. Elizabeth Toriz Garcia

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. Virginia Oliva Arellano

SEGUNDO SUPLENTE

Q. Mario a. Morales Delgado

J. Adé
Leticia Zúñiga Ruzic
Elizabeth Toriz Garcia
Virginia Oliva A.
Mario A. Morales D.

Este trabajo se realizó en el Departamento de Postgrado de la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán, bajo la dirección del Dr. Jacques J. Adés Totah, a quién le agradezco su infinita ayuda y paciencia.

A Carlos mi padre

Por haberme enseñado el amor al trabajo y responsabilidad, y a quién ni dando mi vida podré pagarle todo lo que ha hecho por mí.

A Maria Eugenia mi madre

Por brindarme su amor y motivación para que mi ánimo no decayera en los obstáculos que se me han presentado en la vida.

A Lorena mi esposa

por su paciencia, comprensión y por ser una excelente compañera en mi vida.

A mis hijos Carlos Ehrlich y Giovanni Enrique

para que esto sirva de motivación y lleguen a culminar sus estudios aunque se les presenten obstáculos en la vida. Con todo mi amor para ustedes

A mis hermanos Fernando, Maru, Lucy y Victor

Por su apoyo, cariño y porque saben lo que representan para mi

En memoria del Ing. Benito Dehesa y la Señora Maria Jardón

A quienes me hicieron sentir que este trabajo valía la pena. Ahora saben realmente lo que siempre sentí por ustedes pero que nunca llegué a decirles.

A mis Familiares, Amigos y Maestros

Por animarme siempre a terminar este trabajo

Al Dr Compton Paul (Director del programa de "Sorgo" del CIMMYT)

Por su apoyo en la parte del cultivo y obtención de las muestras de sorgo

Al Ing. Fernando Beristain

Por su apoyo y adiestramiento en el uso de los micromolinos para la molienda de las muestras

A la Q.F.B. Elizabeth Toriz

Por su apoyo incondicional para la buena redacción de este trabajo

A los profesores y amigos del Departamento de Postgrado de la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán (El Dr. Abel, Susy, Oscar y Carlos), por haber facilitado el lugar, espacio y material para el análisis químico de las muestras

Al Ing. Joséln Espitia

Por su apoyo moral y por brindarme un espacio para la escritura de este trabajo

C O N T E N I D O

	Páginas
I. INTRODUCCION	
1. Generalidades	1
1.1 Usos del Sorgo	5
1.2 Glucósidos Cianogénicos	6
1.3 Mecanismo de Acción del Acido Cianhídrico en Organismos Animales	10
2. Objetivos	13
2.1 Objetivo General	13
2.2 Objetivos Específicos	13
II. MATERIALES Y METODOS.	
1. Muestras	14
2. Materiales y Reactivos	20
3. Métodos	20
3.1 Prueba Cualitativa	21
3.1.1 Fundamento de la Técnica	21
3.2 Prueba Cuantitativa	22
3.2.1 Fundamento de la Técnica	22
4. Observaciones	24
III. RESULTADOS Y DISCUSION	
1. Resultados de la Prueba Cualitativa	25
2. Resultados de la Prueba Cuantitativa	30
3. Discusión	41
IV. CONCLUSIONES	
1. Conclusión	44
2. Recomendaciones	46
V. BIBLIOGRAFIA	47

INDICE DE TABLAS

Título de la tabla	Tabla No.	Pag.
Glicósidos Cianogénicos encontrados en Gramíneas y Leguminosas	1	8
Muestras provenientes del CIMMYT	2	15
Pastos provenientes de Chiapas (CAECOCHI)	3	16
Pastos provenientes de Tabasco	4	17
Pastos provenientes de Veracruz	5	19
Resultados de la Prueba Cualitativa de las Muestras provenientes de Chiapas (CAECOCHI)	6	25
Resultados de la Prueba Cualitativa de las Muestras provenientes de Tabasco (CAEHUI)	7	27
Resultados de la Prueba Cualitativa de las Muestras provenientes de Veracruz (CAEPAP)	8	29
Resultados de la Prueba Cuantitativa de las Muestras provenientes de Chiapas, Tabasco y Veracruz	9	30
Etapas Fenológicas de los Forrajes provenientes del CIMMYT	10	32
Cantidad de HCN vs Tiempo. Hojas de Sorgo Variedad 1		33
Cantidad de HCN vs Tiempo. Hojas de Sorgo Variedad 2		34
Cantidad de HCN vs Tiempo. Hojas de Sorgo Variedad 3		35
Cantidad de HCN vs Tiempo. Raíz de Sorgo Variedad 1		36
Cantidad de HCN vs Tiempo. Raíz de Sorgo Variedad 2		37
Cantidad de HCN vs Tiempo. Raíz de Sorgo Variedad 3		38

Título de la tabla	Tabla No.	Pag.
Cantidad de HCN en Sorgo proveniente de Zumpango vs Tiempo de Secado	11	39
Cantidad de HCN en Sorgo Proveniente de Zumpango vs Tiempo de Secado		40

EL SORGO



I N T R O D U C C I O N

1. GENERALIDADES

La producción de pastos, tal como hoy la conocemos, es principalmente producto de la civilización europea y americana. Columela (romano) describió hacia el año 50 D.C., la producción de cosechas para heno, y la henificación adecuada.

La obtención de heno a partir de los forrajes cosechados, es sin duda, una práctica agrícola muy antigua, pero la transformación del forraje verde en un heno oreado capaz de ser conservado y utilizado durante un período de tiempo considerable, se cree que ha tenido en la evolución del mundo un papel más importante del que muchos pudieran pensar, ya que éste se asocia con un tipo de agricultura estabilizada.

Los antropólogos dividen la existencia del hombre en 3 millones de años de salvajismo y nivel muerto, es decir, sin intervención del hombre en la producción de los alimentos; 10,000 años de cultivo a mano, con pocos cambios; y 150 años de progreso científico, con rápido aumento de la población.

Se ha estimado que la población del mundo, a principios del siglo XX, era de 1,600 millones de habitantes. Se prevee que la población del mundo puede aumentar hasta 6,121 millones de habitantes o más, para el final de este siglo (18).

En cambio la producción mundial de alimentos no ha aumentado de esta misma forma. Lo cual ya preveía Thomas Malthus al decir: "la población aumenta geoméricamente mientras los alimentos aumentan aritméticamente" .

Esto ha ocasionado que desde los primeros siglos de la humanidad existan hambres y grandes tragedias debido a dichos fenómenos.

Las hambres se han debido principalmente a causas climatológicas, pero muchas civilizaciones han bajado de la grandeza a la penuria, y dicho desastre se ha debido a no haber sabido proteger los suelos que en un principio eran fértiles y productivos. Las poblaciones crecientes exigían mayor cantidad de cereales alimenticios y no se pensó en la conservación de los suelos. No se apreció el valor que tienen las cosechas forrajeras y su capacidad de retener el suelo contra la erosión destructora.

En la actualidad se acepta de un modo general que el principal alimento para la formación, el mejoramiento y la conservación de los suelos, son las gramíneas y leguminosas adaptadas a los mismos. Se han reunido muchas pruebas sobre el grado en que dichas cubiertas vegetales incluidas en la rotación aumentan la permeabilidad y la capacidad de retención del agua de un suelo dado. Se ha aprendido mucho sobre el efecto de las raíces de las plantas forrajeras en la granulación del suelo y la relación de esta característica con la resistencia de los suelos a los efectos de una erosión destructora.

El reconocimiento de la existencia de una necesidad mundial de mejor utilización de las tierras productoras de pastos, determinó la celebración de congresos mundiales y la creación de instituciones que se dediquen a un estudio profundo sobre los pastos, como es el caso del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), el cual se dedica al estudio y mejoramiento tanto de gramíneas y leguminosas, además de asesorar a los agricultores sobre el uso de dichas plantas.

Entre las ventajas de utilizar a los forrajes como conservadores del suelo están:

- Reducción del escurrimiento.
- Reducción de la erosión
- Intercepción de la lluvia por la cubierta vegetal
- Forman capas protectoras
- Las raíces de las plantas forman galerías cuando se secan.

Otra de las ventajas muy importantes de utilizar forrajes es su uso como alimento para el ganado y por consecuencia el valor nutritivo que éste pueda tener. Desde el punto de vista práctico el valor nutritivo de un forraje depende de su contenido en proteínas y carbohidratos, así como la disposición de estos compuestos como productos nutritivos digeribles (5) (20).

En los análisis químicos de los forrajes, los carbohidratos se dividen en dos clases principales, la celulosa bruta y los extractivos no nitrogenados. La celulosa bruta sólo puede ser digestible del 35 al 75%. Los extractivos no nitrogenados comprenden las partes solubles de los carbohidratos (almidones, azúcares, y especies que los forman).

Aproximadamente un 85 o 90% del contenido de nitrógeno celular en las plantas forrajeras es proteína pura sintetizada a partir de los aminoácidos. Cuando se analizan químicamente los forrajes, éstos pueden contener de un 3 a 25 % de proteína bruta digestible (33).

Dentro de los factores que afectan el valor nutritivo de un forraje se encuentra el proceso de maduración de la planta. La hierba aún no madura, en crecimiento activo, tiene un valor nutritivo alto. Durante la maduración se acumulan concentraciones crecientes de fibra lignificada (la lignina es una sustancia con estructura química aromática polimerizada que compone una parte sustancial de las porciones leñosas de las plantas), en la armadura estructural de las plantas forrajeras. La maduración después del alargamiento del tallo y de la floración va acompañada de una mayor lignificación de la celulosa y de menores valores digestibles de proteínas y carbohidratos (19).

Las leguminosas forrajeras suelen contener menos fibra y más proteína bruta que los forrajes de gramíneas, en las fases avanzadas de la maduración. El forraje de gramíneas de buena calidad es pobre relativamente en celulosa y lignina, cuyo contenido al tener la planta suficiente altura para ser pastada, puede ser respectivamente, como promedio, de 22 y 4% del peso seco (20).

Uno de los forrajes más utilizados como alimento para animales es el sorgo y sus diferentes variedades e híbridos. Se cree que el sorgo, *Sorghum vulgare*, es originario de África. Su propagación a otras partes del mundo es atribuida a la mano del hombre. En una gran parte de su área de producción en el mundo se cultiva principalmente como cosecha de grano para la alimentación del hombre. Las variedades e híbridos del sorgo se clasifican, de acuerdo a su forma de aprovechamiento, en :

- 1) Sorgo grano
- 2) Sorgo forrajero
- 3) Sorgo para jarabe
- 4) Sorgo para pasto
- 5) Sorgo de escoba

Como el sorgo es muy resistente a la sequía, se cultiva principalmente en las áreas donde la lluvia es insuficiente para la producción del maíz. Sin embargo el sorgo puede responder favorablemente al riego y es una cosecha importante para grano en los valles bajo riego. La temperatura media más favorable para su crecimiento, es de unos 26.5°C y la

temperatura mínima es de 15.5°C. A causa de sus necesidades de temperatura, rara vez se cultiva a altitudes superiores a los 1800 m sobre el nivel del mar.

El sorgo se puede producir satisfactoriamente sobre todos los tipos de suelos, y su fertilidad depende de la riqueza relativa y de la disponibilidad de humedad en el suelo. Es más tolerante a las sales y al álcali, que la mayor parte de las plantas cultivadas en las regiones de las grandes llanuras.

Los tallos del sorgo son erectos y macizos, y alcanzan un crecimiento en altura de 60 cm a 4.5 m. Existe una yema lateral en cada nudo, en lados opuestos, lo mismo que en el maíz. Las acanaladuras que lleva en cada uno de los nudos se alternan de un lado a otro, en la unión de las yemas laterales y la disposición de las hojas. Hay cierta tendencia, especialmente en algunas variedades, a que las yemas laterales, especialmente en los nudos más inferiores produzcan hijuelos. En cada nudo se forma una hoja. Las hojas del sorgo son parecidas a las del maíz, pero más pequeñas, además la planta del sorgo se puede distinguir fácilmente de la del maíz, por tener aserrados los bordes de las hojas de la primera. Los tallos de la mayor parte de las variedades forrajeras son a la vez jugosos y dulces.

La inflorescencia del sorgo es una panícula llamada generalmente espiga (otro nombre común que se le da es el de "panoja"). La espiga es compacta, salvo en el pasto del Sudán, el sorgo de escoba, y algunas variedades para forraje y jarabe. Algunas variedades de sorgo, entre las que figuran diversas variedades forrajeras y de jarabe, tienen las semillas completamente cubiertas por las glumas, hasta el punto que no pueden separarse en la trilla. Las glumas pueden ser de color negro, rojo, caoba, siena o paja. En todas las variedades de grano y en muchas forrajeras, las semillas se separan con facilidad de las glumas.

Las variedades de sorgo y sus híbridos tienen granos de diferente tamaño, pudiendo encontrarse de 26,000 a 66,000 granos por kg. La semilla puede ser blanca, roja, amarilla o parda.

El forraje de sorgo puede contener menos del 20% de grano en peso. El forraje de los sorgos de grano, como las plantas son de menos altura, suelen contener más de una tercera parte de grano (5).

Muchos forrajes incluyendo al sorgo y al pasto Sudán, contienen algunas veces un glucósido cianogénico llamado durrina que al

descomponerse produce ácido cianhídrico (HCN) o prúsico (1)(9)(12)(14). Cada año mueren algunas vacas, ovejas y cabras al pastar estas plantas (3)(16). El ensilaje y el forraje seco pueden contener cantidades tóxicas de ácido prúsico, pero generalmente puede darse a los animales sin riesgo. El ácido libre se volatiliza, cuando se manipula el ensilaje para dárselo a los animales. Además la cantidad de veneno disminuye durante la desecación del forraje. El contenido de ácido cianhídrico de las plantas verdes, disminuye conforme se acerca la maduración. Las hojas del sorgo contienen más HCN que otras partes de la planta, y las hojas superiores más que las hojas inferiores. Los hijuelos y las ramificaciones axilares contienen más HCN que los tallos de que nacen. La cantidad de ácido cianhídrico varía de unas variedades a otras de sorgo. La mayor parte de las pérdidas por envenenamiento con ácido cianhídrico, se producen en las áreas más septentrionales de la región de producción de sorgo. Si no se producen variedades o híbridos de sorgo pobres en ácido cianhídrico, el riesgo de envenenamiento hace que no sea aconsejable hacer pastar sorgo verde, en la parte más septentrional de la región de adaptación del sorgo, es decir, en las partes del norte donde se cultiva al sorgo (13)(23)(28).

1.1 USOS DEL SORGO

En una gran parte de la región productora de sorgo, hay escasez de pastos durante el invierno y las sequías. Durante estos períodos, se da mucho sorgo a los animales. Las vacas, las ovejas y los caballos consumen bien el forraje de sorgo para el creclimiento, sostenimiento y engorde. El ganado que consume mayor cantidad de sorgo son las vacas de engorda y las vacas lecheras. El ensilaje de sorgo es un alimento útil para las vacas de lactación. Cada vez se utiliza con más frecuencia el sorgo verde picado.

El forraje de sorgo debidamente cosechado y conservado, proporciona un alimento muy apetecible para los animales. El ensilaje ofrece ciertas ventajas sobre el sorgo picado dado en las raciones de estabulación, en las regiones donde se registran vientos fuertes. La mayor ventaja del ensilaje sobre el forraje seco está en la conservación de los principios nutritivos y en la protección contra los daños de los agentes meteorológicos.

Sin embargo aunque es muy utilizado el sorgo como alimento para los animales se debe tener en cuenta que es una de las plantas que está

clasificada como cianogénica, es decir, que produce glicósidos o heterósidos cianogénicos que al ser hidrolizados por ciertas enzimas producen la liberación de ácido cianhídrico (HCN), el cual como ya se mencionó es muy tóxico (5).

1.2 GLUCOSIDOS CIANOGENICOS.

La habilidad que tienen algunos organismos vivos para producir ácido cianhídrico (HCN) es conocida como cianogénesis. Ahora bien el ácido cianhídrico no se encuentra libre en las plantas pero es liberado por los precursores cianogénicos como un resultado de la acción enzimática. Trabajos recientes establecen que estos precursores son usualmente glicósidos de alfa-hidroxinitrilos (cianohidrinas). Cuando la integridad del tejido vegetal es roto tales glicósidos o heterósidos cianogénicos son puestos en contacto con enzimas catabólicas las que hidrolizan los glicósidos y separan el alfa-hidroxinitrilo.

Cuando el azúcar que forma parte del glicósido cianogénico, es la glucosa, entonces se le dá el nombre de glicósido cianogénico. En la actualidad varios científicos mencionan a los glicósidos o a los glucósidos indistintamente. En este trabajo se seguirá dando el nombre de glicósidos cianogénicos al grupo en general y a los que contengan glucosa se les mencionará como glucósidos cianogénicos. Los glucósidos cianogénicos tienen la estructura general que se presenta en la figura 1 y por consiguiente tienen un alfa-hidroxinitrilo como su aglicona (6)(21).

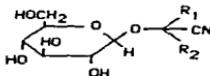


Figura # 1

En todos salvo cinco de los glicósidos cianogénicos conocidos, el **azúcar en mayor proporción es la D-glucosa unida por un enlace O-β-glucosilo.**

Las cinco excepciones son: **amigdalina, vicianina, lucumina, linustatina y neolinustatina**, los cuales tienen disacáridos como su azúcar componente.

R₁ y R₂ en la figura 1 pueden ser sustituyentes alifáticos, aromáticos o hidrógeno, y en un grupo pueden ser un anillo de ciclopentano. Ya que R₁ y R₂ no es común que sean idénticos, el carbono carbinol de la aglicona es quiral, y esto da la posibilidad de encontrar compuestos epiméricos, aunque no necesariamente en la misma especie o familia.

Los glicósidos cianogénicos pueden clasificarse de acuerdo a la naturaleza química de la aglicona. Sin embargo la clasificación que más se prefiere está basada en el origen biosintético del glicósido. En el siguiente cuadro se menciona dicha clasificación (6)(17)(26).

Clasificación de los Glicósidos Cianogénicos

Derivados de la Valina e Isoleucina	<ul style="list-style-type: none"> { Linamarina { (R)-Lotaustralina { Linustatina { Neolinustatina 	Derivados de la L-fenilalanina	<ul style="list-style-type: none"> { (R)-Prunasina { (S)-Sambunigrina { (R)-Holoacalina { (S)-Zierina { Amigdalina { Vicianina { Lucumina
Derivados de la L-leucina	<ul style="list-style-type: none"> { (S)-Prooacipetalina { (S)-heterodendrina { (S)-cardiospermina { (S)-cardiospermina-p-hidroxibenzoato { Acacipetalina 		
Derivados de la L-Tirosina	<ul style="list-style-type: none"> { (S)-Durrina { (R)-Taxiflina { p-Glucofloximandelonitrilo { (S)-proteacina { Trigloquinina { Metil ester trigloquinina 	Glicósidos que contienen anillos de ciclopentilo	<ul style="list-style-type: none"> { Glucocardina { Deidacalina { Tetraflina { Epitetraflina

Los glicósidos o heterósidos cianogénicos que más interesan en este estudio son los que aparecen en los forrajes y leguminosas, algunos de ellos se mencionan en la tabla 1 (29)(32).

Tabla # 1
GLICOSIDOS CIANOGENICOS ENCONTRADOS EN GRAMINEAS Y LEGUMINOSAS

Nombre del Glicósido Cianogénico	Azúcar encontrado	Origen de la Aglicona	Familia en donde se distribuyen	Especie
Durrina	Glucosa	L-tirosina	Gramineae	<i>Sorghum spp.</i>
(S)-heterodendrina	Glucosa	L-leucina	Leguminosaeae	<i>Acacia</i>
(R)-holocalina	Glucosa	L-fenilalanina	Leguminosaeae	<i>Holocalix</i>
p-glucosiloximan-delonitrilo	Glucosa	L-tirosina	Leguminosaeae	<i>Goodia</i>
Linamarina	Glucosa	L-valina	Leguminosaeae	<i>Acacia, Lotus spp, Phaseolus, Trifolium</i>
(R)-lotaustralina	Glucosa	Isoleucina	Leguminosaeae	<i>Acacia, Lotus spp, Phaseolus, Trifolium</i>
(S)-proacacipetalina	Glucosa	L-leucina	Leguminosaeae	<i>Acacia spp (Africana y Americana)</i>
(R)-prunasina	Glucosa	L-fenilalanina	Leguminosaeae	<i>Acacia spp (Australia), Holocalix</i>
(S)-sambunigrina	Glucosa	L-fenilalanina	Leguminosaeae	<i>Acacia spp (Australia)</i>

Tabla # 1 (Continuación)
GLICÓSIDOS CIANOGENICOS ENCONTRADOS EN GRAMINEAS Y LEGUMINOSAS

Nombre del Glicósido Cianogénico	Azúcar encontrado	Origen de la Aglicona	Familia en donde se distribuyen	Especie
(R)-taxifilina	Glucosa	L-tirosina	Gramineae	<i>Bambusa spp.</i> , <i>Bouteloua</i> , <i>Chloris spp.</i> , <i>Cynodon</i> , <i>Dendrocalamus spp.</i> , <i>Eleusine spp.</i> , <i>Glyceria spp.</i> , <i>Melica spp.</i> , <i>Molinia</i> , <i>Sieglingia</i> , <i>Stipa spp.</i> , <i>Tridens</i> .
Vicianina	D-gentobiosa	L-fenilalanina	Leguminosaeae	<i>Vicia spp.</i>

Como se mencionó arriba estos glicósidos cianogénicos por contener glucosa como su azúcar componente se les dá el nombre de glucósidos cianogénicos, y son sólo algunos de los existentes en plantas cianogénicas, habiendo diversos métodos tanto de identificación como de cuantificación. Generalmente la presencia de esta substancia es identificada cuando el HCN es liberado debido al rompimiento del tejido de la planta.

Este proceso pone al glucósido en contacto con enzimas como la β -glucosidasa y una hidroxinitriloliasa, que son capaces de degradar a dicho glucósido cianogénico; así el HCN puede ser medido cualitativa y/o cuantitativamente (1)(25)(27).

En algunos estudios anteriores se ha comprobado que es necesario que se rompa el tejido para que tanto el glucósido cianogénico como las enzimas, estén en contacto, ya que se encuentran en diferentes partes del tejido de la planta (1)(6).

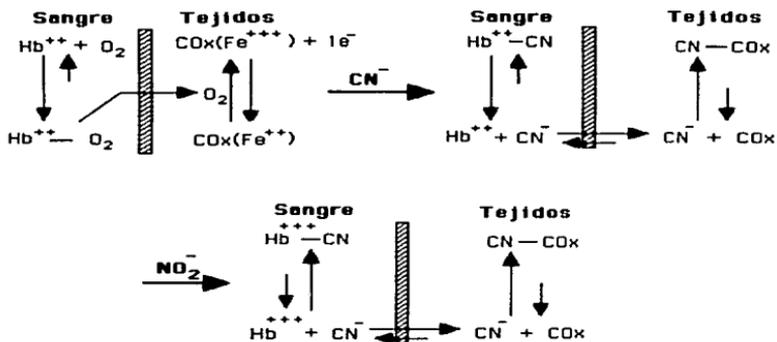
Además de la determinación del HCN liberado por hidrólisis existen algunos métodos para cuantificar los glucósidos cianogénicos intactos, como es el caso de la cromatografía de gas líquido. Este método y muchos otros han demostrado que los glucósidos cianogénicos pueden ocurrir en cualquiera de muchos órganos de una planta (por ejemplo: hojas, flores, semillas, raíces, tallos, etc). El cianógeno puede estar presente en un período del ciclo de vida de la planta y en otro no (1)(23).

El presente trabajo precisamente se basa en este hecho y lo que se pretende es encontrar en que etapa de la vida de la planta y en que parte, se encuentra la mayor cantidad de ácido cianhídrico, esperando que dicho estudio sirva a futuros investigadores y gente relacionada con la Agronomía y la Ganadería, para evitar la muerte de animales que consumen plantas que se encuentran clasificadas como potencialmente tóxicas, debido a glucósidos cianogénicos, como es el caso del sorgo. También para invitar a los investigadores de nuevas especies o híbridos de plantas, para que consideren este hecho.

1.3 MECANISMO DE ACCION DEL ACIDO CIANHIDRICO (HCN) EN ORGANISMOS ANIMALES.

El ion cianuro del ácido cianhídrico provoca anoxia citotóxica por inhibición reversible de los complejos enzimáticos celulares que contienen hierro en forma férrica (Fe^{+++}). La enzima más sensible al cianuro es la citocromo oxidasa, por lo tanto toda acción que dependa de esta enzima queda bloqueada. Ahora bien, el complejo enzimático inútil que se formó con el cianuro puede ser disociable y al convertirse en tiocianato en el organismo la actividad enzimática vuelve a aparecer.

En el modelo que se muestra en la figura 2, se puede observar el mecanismo de acción tóxica del cianuro, así como su antagonismo por nitrato.



Afinidad del hemo por CN^- : $\text{COx} > \text{Hb}^{+++} \gg \text{Hb}^{++}$
 Figura # 2

En este modelo se pueden observar dos de las macromoléculas funcionales que contiene el grupo hemo: la hemoglobina (Hb^{++}) y la citocromo oxidasa (COx), un componente de la cadena respiratoria en los tejidos. Cuando se ingiere una pequeña cantidad de cianuro este se combina con una pequeña fracción de la gran cantidad de Hb^{++} que existe en los organismos animales formando cianohemoglobina ($\text{Hb} - \text{CN}$). En esta forma es distribuida hasta los tejidos, ahí se disocia liberando nuevamente al ion cianuro (CN^-), que se une fuertemente a la citocromo oxidasa (COx), esto inhibe su funcionamiento ocasionando que el tejido no pueda efectuar la respiración y provoca con esto la asfixia bioquímica de los tejidos.

Ahora bien cuando se administra el ion nitrito (NO_2^-) el hierro de la hemoglobina (Hb^{++}) se oxida produciendo metahemoglobina (Hb^{+++}). La metahemoglobina tiene mucha mayor afinidad por el cianuro que la hemoglobina, pero menor que la citocromo oxidasa, es así que se debe

administrar inmediatamente el ion nitrito, para asegurar que el efecto antagonista sea mas efectivo mientras el ion cianuro se encuentre en sangre, ya que asi se reduce la fijación del cianuro por la citocromo oxidasa (10)(23).

Los síntomas por envenenamiento con cianuro en ganado son respiración acelerada y profunda pasando rápidamente a respiración difícil, excitación, suspiros, vértigo, postración, convulsiones, coma y muerte. Las membranas de la mucosa de la boca y de los ojos toman color púrpura (32).

El tratamiento de la intoxicación por cianuro implica la administración de nitrito de sodio para la formación de la metahemoglobina, enseguida, pero nunca junto con el nitrito de sodio, se inyecta tiosulfato de sodio que acelera, por efecto del azufre, una reacción enzimática, ocasionando que el cianuro presente se convierta en tiocianato que es poco tóxico (31).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar la cantidad de glucósidos cianogénicos presentes en la planta de sorgo y en algunas otras plantas forrajeras.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 1) Determinar la cantidad de glucósidos cianogénicos en plantas de sorgo cultivadas en la región de Texcoco, así como en algunos forrajes cultivados en Chiapas, Tabasco y Veracruz.
- 2) Determinar y comparar la cantidad de glucósidos cianogénicos, expresados como HCN presente en variedades de sorgo con diferente pedigree cultivados en la región de Texcoco, por el método oficial descrito por la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC).
- 3) Cuantificar la cantidad de Glucósido Cianogénico presente en diferentes partes de la planta a diversas edades, utilizando como base al sorgo con 3 tipos diferentes de pedigree cultivados en la región de Texcoco.
- 4) En base a los resultados obtenidos proponer qué tipos de forrajes y en qué etapa es más recomendable usarlos como pastura, para evitar la posible intoxicación debido a la liberación de ácido cianhídrico.
- 5) Comparar la cantidad de glucósidos cianogénicos entre un forraje seco (estimando los días u horas de secado) y otro recién cortado, para determinar el porcentaje de glucósido perdido durante el secado y así estimar la toxicidad que puede provocar en los animales cuando la planta se utiliza para pastar.

II MATERIALES Y METODOS

1. MUESTRAS

Las muestras provenientes de Texcoco fueron enviadas por el Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y Trigo (CIMMYT). Estas muestras corresponden a tres tipos de sorgo diferentes (dos variedades y un híbrido). La forma de manejo de las muestras fue la siguiente:

- 1) Cosecha
- 2) Separación de las muestras a analizar
- 3) Secado
- 4) Molienda
- 5) Análisis Cualitativo de la concentración de HCN
- 6) Análisis Cuantitativo de la concentración de HCN

La cosecha se realizó cada quince días, durante todo el desarrollo de la planta, en un campo experimental del CIMMYT, en el cual las muestras se sembraron en bloques al azar, con tres repeticiones para cada muestra.

Por otra parte se recibieron muestras de diferentes pastos, cultivados en campos experimentales de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), como fueron el Campo Agrícola Experimental Costa de Chiapas (CAECOCHI), ubicado en Escuintla, Chiapas; Campo Agrícola Experimental Huimanguillo (CAEHUI), ubicado en Huimanguillo, Tabasco y El Campo Agrícola Experimental Papaloapan (CAEPAP), ubicado en Isla, Veracruz. Las muestras enviadas por estos campos ya venían secas dentro de bolsas de papel, indicando el nombre común y/o científico de cada una de ellas.

El tratamiento de éstas por lo tanto fue: molienda, análisis cualitativo y análisis cuantitativo.

En cuanto a las plantas utilizadas para la determinación de la cantidad de HCN liberado, durante el secado, las muestras fueron obtenidas de un campo experimental del CIMMYT, ubicado en Zumpango, Estado de México. Una vez cosechadas las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente y se determinó la cantidad de ácido cianhídrico presente en la planta, cada 48 horas, a partir de la fecha de cosecha.

En la tabla 2 se muestra cada una de las partes y tipos de sorgo analizados, provenientes del CIMMYT.

Tabla # 2
MUESTRAS PROVENIENTES DEL CIMMYT

PARTE DE LA P L A N T A	V A R I E D A D		
	V ₁ SS-41*	V ₂ HPYE-2-4*	V ₃ ATX 625 x VG 405 (hibr).*
Raíz	**	**	**
Tallo	**	**	**
Hojas	**	**	**
Panícula	**	**	**

V= Variedad

** Parte de la planta utilizada

* **NOTA:** Las fórmulas indican un tipo de nomenclatura utilizado por los mejoradores de sorgo. Indica el pedigrée de la planta, es decir, su genealogía. Los pedigreos tienen generalmente dos facetas; un nombre y su origen o fuente. El nombre se refiere a la línea y el origen sirve para rastrear la historia del pedigrée. Así para el sorgo cuya variedad se indica como V₁, las letras SS indican el nombre y el número 41 su origen (5)(20).

En las tablas 3, 4 y 5 se mencionan cada una de las muestras analizadas, provenientes de los campos agrícolas de la SARH.

Tabla # 3
PASTOS PROVENIENTES DE CHIAPAS (CAECOCHI)

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN
<i>Andropogon gayanus</i> (CIAT-621)	Llanero
<i>Andropogon gayanus</i> (IPINIA-4)	
<i>Brachiaria decumbens</i> (CIAT-606)	
<i>Brachiaria dyctyoneura</i>	
<i>Brachiaria humidicola</i>	
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	
<i>Cynodon dactylon</i> X <i>Cynodon nmluensis</i>	Bermuda cruz a I
<i>Cynodon plectostachyum</i>	Estrella africana
<i>Digitaria decumbens</i>	Pangola transvaal
<i>Hyparrhenia rufa</i>	Jaragua
<i>Panicum maximun</i>	Guinea
<i>Paspalum conjugatum</i>	Gramama amarga
<i>Paspalum plicatulum</i>	Camalote
<i>Paspalum sp.</i>	Pasto nativo
<i>Pennisetum ortopurpureum</i>	Zacate gigante
<i>Pennisetum purpureum</i> x <i>Penisetum sp.</i>	Taiwan

Tabla # 4
PASTOS PROVENIENTES DE TABASCO (CAEHUI)

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN
<i>Andropogon gayanus</i> 621	Llanero
<i>Brachiaria decumbens</i> 606	Chontalpo
<i>Brachiaria dictyoneura</i>	
<i>Brachiaria humidicola</i>	Congo
<i>Brachiaria radicans</i>	Tanner
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	Ruzi
<i>Cynodon dactylon</i>	Alfombrilla
<i>Cynodon dactylon</i>	Bermuda común
<i>Cynodon dactylon</i>	Gordura
<i>Cynodon dactylon</i>	Var. Santo Domingo
<i>Cynodon dactylon</i>	Surinam
<i>Cynodon dactylon</i>	Var. transual
<i>Cynodon nmluensis</i>	Cruza II
<i>Digitaria decumbens</i> 2222	
<i>Digitaria decumbens</i> 2304	
<i>Digitaria decumbens</i> 299603	Pangola mejorada
<i>Digitaria milangiana</i>	
<i>Digitaria milangiana</i> 299229	
<i>Digitaria milangiana</i> 299706	
<i>Digitaria pentzii</i>	
<i>Echinochloa polystachya</i>	Alemán
<i>Melinis minutiflora</i>	Var. Alicia
<i>Panicum maximum</i>	Guinea común
<i>Panicum maximum</i>	Var. Uganda
<i>Paspalum notatum</i>	Paspalum Notatum
<i>Paspalum plicatulum</i>	Camalote
<i>Pennisetum clandestinum</i>	Kikuyo
<i>Pennisetum purpureum</i>	Elefante
<i>Pennisetum purpureum</i>	Merkeron

Tabla # 4 (Continuación)
PASTOS PROVENIENTES DE TABASCO (CAEHUI)

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN
<i>Pennisetum purpureum X Pennisetum typhoides</i>	Taiwan
<i>Setaria anceps</i>	Var. Kazangula
<i>Setaria mexicana</i>	Jaragua blanco
<i>Zea mays</i>	Maíz

Tabla # 5
 PASTOS PROVENIENTES DE VERACRUZ (CAEPAP)

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN
<i>Andropogon gayanus</i>	Llanero
<i>Brachiaria brizantha</i>	Señal
<i>Brachiaria dictyoneura</i>	
<i>Brachiaria radicans</i>	Tanner
<i>Centrus ciliare</i>	Bufel
<i>Chloris gayana</i>	Rhodes
<i>Cynodon dactylon</i>	Ferrer
<i>Cynodon plectostachyum</i>	Estrella mejorado
<i>Desmodium ovalifolium</i>	
<i>Digitaria pentzli</i>	
<i>Digitaria valida</i>	Pangola gigante
<i>Echinochloa polystachya</i>	Alemán
<i>Hyparrhenia rufa</i>	Jaragua
<i>Melinis minutiflora</i>	Gordura
<i>Panicum maximum</i> Var. <i>Tichoglume green panic</i>	Panizo verde
<i>Pennisetum merkeri</i>	Merkeron
<i>Pennisetum purpureum</i>	Elefante
<i>Pennisetum purpureum</i> X <i>Pennisetum typhoides</i>	Taiwan
<i>Sorghum vulgare</i>	Sorgo
<i>Tripsacum laxum</i>	Guatemala, Mirador
<i>Zea mays</i>	Maíz
<i>Zornia sp.</i>	

2. MATERIALES Y REACTIVOS

- Charoías de acero inoxidable para secado de muestras
- Etiquetas
- Micromolino de Cuchillas
- Malla #20
- Frascos de vidrio para almacenar forraje molido
- Papel filtro
- Frascos de vidrio con tapa esmerilada o con tapón de rosca.
- Baño María con control de temperatura
- Termómetro
- Matraz de Kjeldhal de 2000 ml
- Refrigerante y conexiones para armar aparato de destilación
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml
- Mecheros
- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Soportes universales
- Pipetas
- Matraces Aforados de 100 ml, 250 ml y 500 ml
- Microbureta de 15 ml
- Agua destilada
- Solución de ácido pícrico al 1%
- Solución de carbonato de sodio al 10%
- Solución de hidróxido de sodio al 2.5%
- Solución de hidróxido de amonio 6 N
- Solución de yoduro de potasio al 5%
- Solución de nitrato de plata 0.02 N

3. METODOS

Cada una de las partes de la planta a analizar (raíz, tallo, hojas y panícula), se separaron con mucho cuidado y se colocaron en charoías debidamente etiquetadas.

Las muestras ya seleccionadas se dejaron secar a temperatura ambiente dentro de una bodega para preservarias del medio ambiente y sobre todo de la luz solar.

La molienda de las muestras se realizó en un micromolino de cuchillas, tamizándose sobre una malla #20. Ya molidas las muestras se colocaron en frascos de vidrio debidamente etiquetados para conservación de las muestras durante su análisis.

Para el análisis cualitativo y cuantitativo de la cantidad de ácido cianhídrico presente, se utilizaron los métodos oficiales descritos por la Association of Official Agricultural Chemists (A.O.A.C.) (2).

3.1 PRUEBA CUALITATIVA.

Se utilizó el Método Oficial Cualitativo. Prueba 26.149 de la A.O.A.C.(2)

FORMA DE PREPARACION DEL PAPEL REACTIVO.- Tiras de papel filtro de 10 cm de ancho se humedecen en una solución de ácido pícrico al 1% y se dejan secar. Una vez que está seco el papel ya impregnado con la solución de ácido pícrico se humedece con una solución de carbonato de sodio al 10% y se deja secar. El papel se corta en tiras de 10 X 0.5 cm aproximadamente y se guarda en un frasco de vidrio bien tapado.

METODO.- Se coloca una muestra de forraje de 10 gramos dentro de un frasco de vidrio y se le agrega la cantidad suficiente de agua para que cubra a la muestra, agitando cuidadosamente. En seguida se coloca la tira de papel reactivo dentro del frasco, cuidando que ésta no toque las paredes de vidrio ni la muestra; se cierra bien el frasco y se coloca en un baño a 37°C para facilitar la hidrólisis. La prueba es positiva si el papel cambia de color amarillo a color naranja o rojo ladrillo. El cambio de coloración depende de la cantidad de HCN liberado por la muestra. En muestras que den una prueba negativa se recomienda agregar una pequeña cantidad de emulsina, para descartar la posibilidad de que sólo exista el glucósido cianogénico pero no la enzima. A este papel reactivo se le da el nombre, también, de papel reactivo de Guignard (11).

3.1.1 FUNDAMENTO DE LA TECNICA.

Los cianuros dan coloración rojo oscuro con la sal alcalina del ácido isopurpúrico en solución de picrato alcalina. En la ausencia de sustancias como aldehídos, acetona y sulfuro de hidrógeno, que dan una reacción similar. La prueba se puede aplicar a la determinación de 0.08 mg de cianuro

en 25 ml con una exactitud del 2%. El color se desarrolla lentamente a temperatura ambiente y se puede acelerar a 37 °C (11)(25).

3.2 PRUEBA CUANTITATIVA.

Para esta prueba se utilizó el Método Oficial Cuantitativo. Prueba 26.151 "Método de titulación alcalina" de la A.O.A.C. (2)

Se ponen de 50 A 200 gramos de muestra que pase por malla 20 en un matraz de Kjeldhal de 2,000 ml, agregar 800 ml de agua y se deja reposar de 2 a 4 horas. (La autólisis deberá ser llevada a cabo completamente pero ya conectado el aparato para destilación). Destilar y coleccionar de 150-160 ml de destilado en una solución de NaOH (0.5 g en 20 ml de agua) y diluya a un volumen de 250 ml.

A una alícuota de 100 ml, adicionar 8 ml de NH₄OH 6 N, 2 ml de KI al 5% y se titula con Nitrato de Plata al 0.02 N, usando microbureta. El punto final de la titulación es difícil de observar, pero una turbidez permanente puede ser reconocida, especialmente si se compara en un fondo negro.

$$1 \text{ ml de AgNO}_3 (0.02N) = 1.08 \text{ mg de HCN}$$

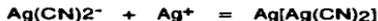
3.2.1 FUNDAMENTO DE LA TECNICA

La técnica está basada en la modificación del método de Liebig (Liebig-Denigés). Con este método se puede conocer con mucha precisión el punto final de la titulación.

El método original considera la siguiente reacción:



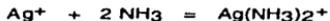
Ahora bien casi en el punto de equivalencia estequiométrico de la titulación el ión plata (Ag⁺) reacciona con el ión dicianoargentato [Ag(CN)₂⁻] para formar la sal ligeramente soluble de Ag[Ag(CN)₂] de acuerdo a la siguiente reacción:



La turbidez resultante imparte a la solución señales del punto final de la titulación.

Sin embargo la concentración de cianuro (no considerando precipitado), es menor que la concentración de cianuro en la cual empieza a aparecer el precipitado, esto quiere decir que antes de alcanzar el punto de equivalencia, empezará a existir precipitado por lo que no se puede determinar de un modo preciso el punto final de la titulación.

En la modificación del método se puede conocer de una manera más precisa el punto de equivalencia. La presencia de un agente complejante, que forme un complejo soluble de plata, reduce la concentración efectiva del ión Ag^+ libre y de esta manera retarda su precipitación, tal agente complejante es el amoníaco (NH_3):



El complejo de cianuro es del orden de 10^{13} veces más estable que el complejo amino, de tal manera que este tiene poco efecto sobre el primero (25).

4. OBSERVACIONES

En el tratamiento de las muestras tanto para la prueba cualitativa como cuantitativa se consideraron las sugerencias hechas, en su trabajo de tesis, por la Q.F.B. Susana Patricia Miranda Castro, en lo referente a la cantidad de muestra, cantidad de agua para la hidrólisis y tiempo de incubación (27).

Para la prueba Cualitativa se usaron 10 g de forraje seco y agua suficiente para cubrirlo. En lugar de usar frascos con tapón esmerilado se utilizaron "botellas de leche" con tapón de rosca de los que se emplean también para medios de cultivo celulares. Una vez humedecido el forraje contenido en la botella se colocó rápidamente el papel reactivo dentro de ésta cuidando que no tocara ni la muestra de forraje ni las paredes de vidrio y en seguida se cerró perfectamente. Los frascos ya preparados y etiquetados se colocaron en un baño maría a 37 °C y se dejaron en incubación por un tiempo de dos horas.

Para la prueba Cuantitativa el peso promedio de forraje utilizado fué de 30 a 40 gramos, el volumen de agua para la hidrólisis de 700 a 800 ml y el tiempo de incubación fué de 24 horas a temperatura ambiente.

Cabe mencionar que para el estudio del efecto de tiempo de secado se utilizaron muestras provenientes del rancho del Sr. Manero ubicado en Zumpango estado de México. Dichas muestras de forraje son el híbrido Sorgo-Zacate-Sudán tipo SS-222 y el Sorgo forrajero híbrido tipo FS-555. Estos forrajes se establecieron como potencialmente tóxicos ya que causaron la muerte de 7 ejemplares vacunos, después de que el forraje había sufrido una helada unos días antes de dicha intoxicación. La recolección de las muestras para el estudio se efectuó después de 60 días de haber sido plantadas y una semana después de haber ocasionado la intoxicación a los animales. La parte de la planta que se utilizó para el estudio fueron las hojas.

III RESULTADOS Y DISCUSION

1. RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA

Los resultados de la prueba cualitativa (Prueba 26.149 de la A.O.A.C) (2) son positivos, cuando el papel reactivo de Guignard (11) vira de color, de amarillo a naranja o rojo. Según sea la concentración de glucósidos cianogénicos es la coloración que tomará dicho papel, es decir, un color naranja indicará una baja concentración de glucósidos cianogénicos presentes; una coloración rojiza indicará una mayor concentración y una coloración rojo ladrillo indicará una concentración muy alta de glucósidos cianogénicos. Los resultados obtenidos en esta prueba para las muestras provenientes de los estados de Chiapas, Tabasco y Veracruz se muestran en las tablas 6, 7 y 8. Las cruces indican la intensidad de coloración del papel (+ naranja, ++ rojo y +++ rojo intenso).

tabla # 6
RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE LAS MUESTRAS PROVENIENTES
DE CHIAPAS (CAECOCHI)

MUESTRA	RESULTADOS
<i>Andropogon gayanus</i> (CIAT-621)	negativo
<i>Andropogon gayanus</i> (IPINIA-4)	negativo
<i>Brachiaria decumbens</i> (CIAT-606)	negativo
<i>Brachiaria dyctyoneura</i>	negativo
<i>Brachiaria humidicola</i>	negativo
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	negativo
<i>Cynodon dactylon</i> X <i>Cynodon nmfluensis</i>	positivo (+)
<i>Cynodon plectostachyum</i>	positivo (+++)
<i>Digitaria decumbens</i>	negativo
<i>Hyparrhenia rufa</i>	negativo
<i>Panicum maximun</i>	negativo
<i>Paspalum conjugatum</i>	negativo

tabla # 6 (Continuación)
RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE LAS MUESTRAS PROVENIENTES
DE CHIAPAS (CAECOCHI)

MUESTRA	RESULTADOS
<i>Paspalum plicatulum</i>	negativo
<i>Paspalum sp.</i>	negativo
<i>Pennisetum ortopurpureum</i>	negativo
<i>Pennisetum purpureum</i> x <i>Penisetum sp.</i>	negativo

tabla # 7

**RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE LAS MUESTRAS
PROVENIENTES DE TABASCO (CAEHUI)**

MUESTRA	RESULTADOS
<i>Andropogon gayanus</i> 621	positivo (++)
<i>Brachiaria decumbens</i> 606	positivo (+)
<i>Brachiaria dictyoneura</i>	negativo
<i>Brachiaria humidicola</i>	negativo
<i>Brachiaria radicans</i>	negativo
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	negativo
<i>Cynodon dactylon</i> (Alfombrilla)	positivo (+)
<i>Cynodon dactylon</i> (Bermuda común)	positivo (++)
<i>Cynodon dactylon</i> (Gordura)	negativo
<i>Cynodon dactylon</i> (Var. Sto Domingo)	positivo (++)
<i>Cynodon dactylon</i> (Surinam)	positivo (++)
<i>Cynodon dactylon</i> (Var. Transual)	positivo (+)
<i>Cynodon nmluensis</i>	negativo
<i>Digitaria decumbens</i> 2222	negativo
<i>Digitaria decumbens</i> 2304	positivo (++)
<i>Digitaria decumbens</i> 299603	positivo (++)
<i>Digitaria milangiana</i>	negativo
<i>Digitaria milangiana</i> 299229	positivo (+)
<i>Digitaria milangiana</i> 299706	negativo
<i>Digitaria pentzii</i>	negativo
<i>Echinochloa polystachya</i>	positivo (+++)
<i>Melinis minutiflora</i>	negativo
<i>Panicum maximum</i> (Guinea común)	negativo
<i>Panicum maximum</i> (Var. Uganda)	negativo
<i>Paspalum notatum</i>	negativo
<i>Paspalum plicatulum</i>	negativo
<i>Pennisetum clandestinum</i>	negativo
<i>Pennisetum purpureum</i> (Elefante)	negativo
<i>Pennisetum purpureum</i> (Merkeron)	negativo

tabla # 7 (Continuación)
RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE LAS MUESTRAS
PROVENIENTES DE TABASCO (CAEHUI)

MUESTRA	RESULTADO
<i>Pennisetum purpureum X Pennisetum typhoides</i>	negativo
<i>Setaria anceps</i>	negativo
<i>Setaria mexicana</i>	negativo
<i>Zea mays</i>	negativo

tabla # 8
**RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE LAS MUESTRAS PROVENIENTES
 DE VERACRUZ (CAEPAP)**

MUESTRA	RESULTADOS
<i>Andropogon gayanus</i>	negativo
<i>Brachiaria brizantha</i>	negativo
<i>Brachiaria dictyoneura</i>	negativo
<i>Brachiaria radicans</i>	negativo
<i>Centrhus ciliare</i>	negativo
<i>Chloris gayana</i>	negativo
<i>Cynodon dactylon</i>	negativo
<i>Cynodon plectostachyum</i>	positivo (+)
<i>Desmodium ovalifolium</i>	negativo
<i>Digitaria pentzii</i>	negativo
<i>Digitaria valida</i>	negativo
<i>Echinochloa polystachya</i>	positivo (+)
<i>Hypparrhenia rufa</i>	negativo
<i>Melinis minutiflora</i>	negativo
<i>Panicum maximum</i> Var. <i>Tichoglume green panic</i>	negativo
<i>Pennisetum merkeri</i>	negativo
<i>Pennisetum purpureum</i>	negativo
<i>Pennisetum purpureum</i> X <i>Pennisetum typhoides</i>	negativo
<i>Sorghum vulgare</i>	positivo (+++)
<i>Tripsacum laxum</i>	negativo
<i>Zea mays</i>	negativo
<i>Zomla sp.</i>	negativo

2. RESULTADOS DE LA PRUEBA CUANTITATIVA

Los resultados de la prueba cuantitativa (Prueba 26.151 de la A.O.A.C.) (2), para las muestras proveniente de Chiapas, Tabasco y Veracruz, y que arrojaron resultados positivos en la prueba cualitativa, se muestran en la tabla 9. Estos resultados se obtuvieron del análisis por triplicado de cada muestra y en la tabla se expresa un promedio de ellos.

tabla # 9
RESULTADOS DE LA PRUEBA CUANTITATIVA DE LAS MUESTRAS
PROVENIENTES DE CHIAPAS, TABASCO Y VERACRUZ

PROCEDENCIA	NOMBRE CIENTIFICO	mg HCN/kg de forraje seco
Chiapas (CAEPAP)	<i>Cynodon dactylon</i> X	trazas
	<i>Cynodon nmfluensis</i>	
	<i>Cynodon plectostachyum</i>	43.2
Tabasco (CAEHU)	<i>Andropogon gayanus</i> 621	20.25
	<i>Brachiaria decumbens</i> 606	trazas
	<i>Cynodon dactylon</i> (alfombrilla)	trazas
	<i>Cynodon dactylon</i> (bermuda común)	trazas
	<i>Cynodon dactylon</i> (Var. Sto. Domingo)	13.5
	<i>Cynodon dactylon</i> (surinam)	13.5
	<i>Cynodon dactylon</i> (Var. transual)	trazas
	<i>Digitaria decumbens</i> 2304	trazas
	<i>Digitaria decumbens</i> 299603	27
	<i>Digitaria milangiana</i> 299229	trazas

tabla # 9 (Continuación)
**RESULTADOS DE LA PRUEBA CUANTITATIVA DE LAS MUESTRAS
 PROVENIENTES DE CHIAPAS, TABASCO Y VERACRUZ**

PROCEDENCIA	NOMBRE CIENTIFICO	mg HCN/kg de forraje seco
Tabasco (CAEHUI)	<i>Echinochloa polystachya</i>	97.2
Veracruz (CAEPAP)	<i>Cynodon plectostachyum</i>	20.25
	<i>Echinochloa polystachya</i>	trazas
	<i>Sorghum vulgare</i>	81

tabla # 10
ETAPAS FENOLOGICAS DE LOS FORRAJES PROVENIENTES DEL CIMMYT

ETAPA FENOLOGICA	TIEMPO (DIAS)		
	VARIEDAD 1 (SS-41)	VARIEDAD 2 (HYPIE-2-4)	VARIEDAD 3 (ATX 625xV6405 hibr)
SIEMBRA	0	0	0
EMERGENCIA	10	10	10
DIFERENCIACION FLORAL	41	60	41
FLORACION 50%	107	107	100

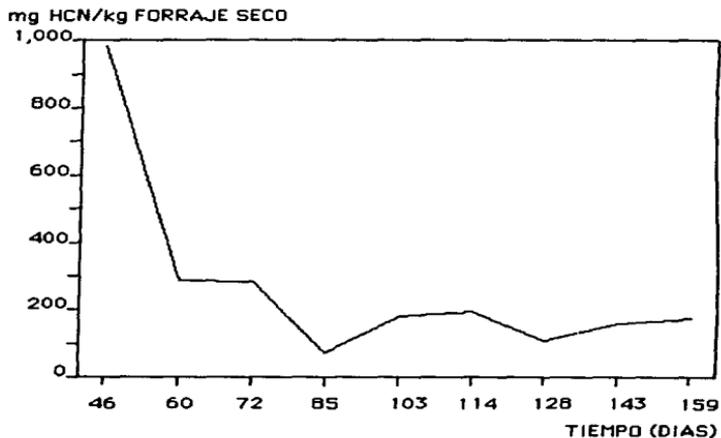
NOTA: La variedad 1 y variedad 2 no llenaron grano, ni llegaron a la madurez fisiológica por helada a los 130 días de haber sido plantada.

La variedad 3 mostró esterilidad y no lleno grano por helada a los 130 días de haber sido plantada.

En las gráficas 1,2,3,4,5 y 6 se muestran los resultados obtenidos para el estudio de la cantidad de HCN para la raíz y las hojas de las variedades de sorgo provenientes del CIMMYT.

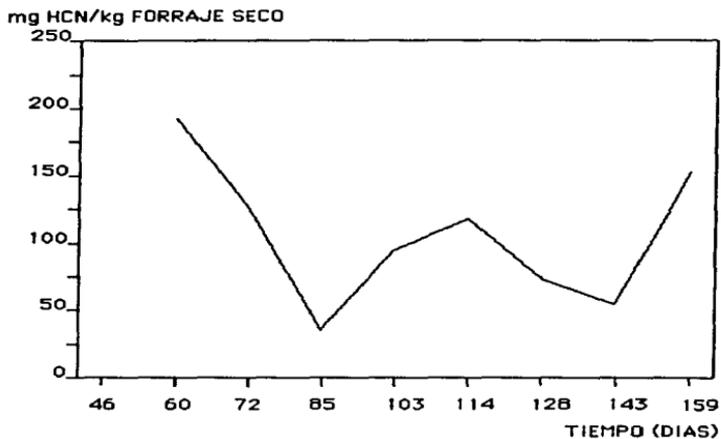
Los tiempos que se muestran son a partir del momento de la siembra.

**CANTIDAD DE HCN VS TIEMPO
HOJAS DE SORGO "VARIEDAD 1"**



GRAFICA • 1

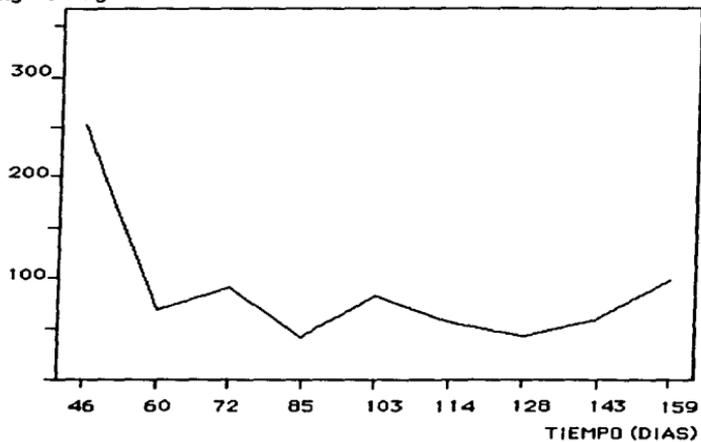
**CANTIDAD DE HCN VS TIEMPO
HOJAS DE SORGO "VARIEDAD 2"**



GRAFICA • 2

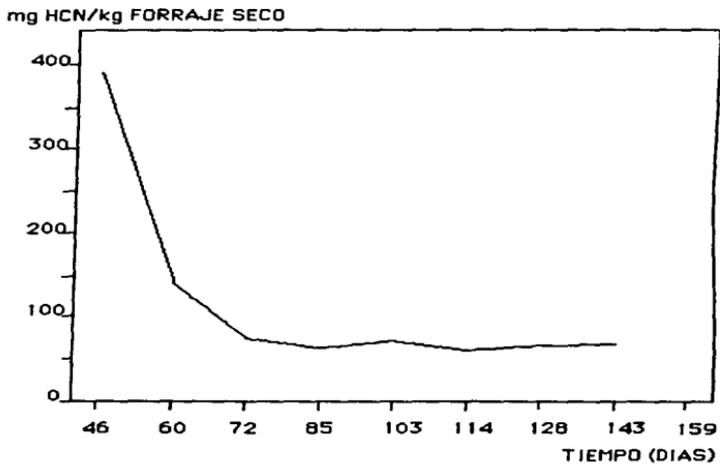
**CANTIDAD DE HCN VS TIEMPO
HOJAS DE SORGO "VARIEDAD 3"**

mg HCN/kg FORRAJE SECO



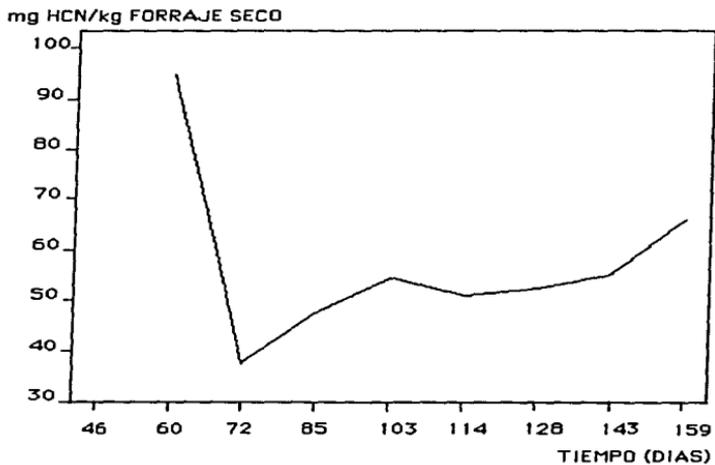
GRAFICA • 3

**CANTIDAD DE HCN VS TIEMPO
RAIZ DE SORGO "VARIEDAD 1"**



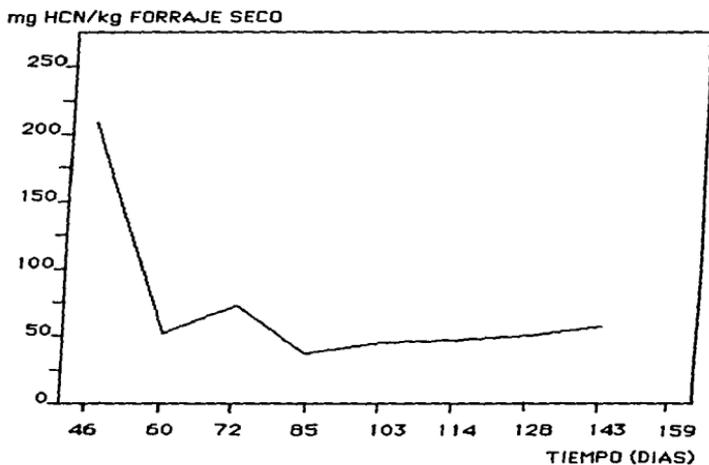
GRAFICA • 4

**CANTIDAD DE HCN VS TIEMPO
RAIZ DE SORGO "VARIEDAD 2"**



GRAFICA • 5

**CANTIDAD DE HCN VS TIEMPO
RAIZ DE SORGO "VARIEDAD 3"**



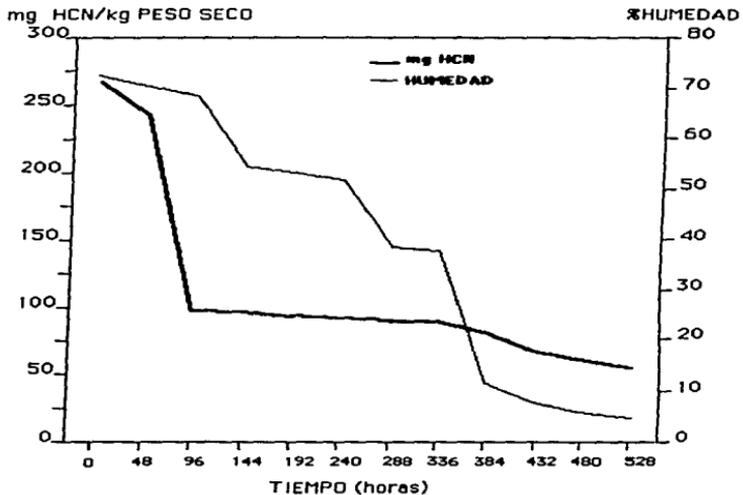
GRAFICA • 6

En la tabla 11 y en la gráfica 7 se muestran los resultados de las muestras provenientes del rancho del Sr. Manero ubicado en Zumpango, Estado de México. En ellas se muestra la influencia del tiempo de secado con respecto a la cantidad de HCN presente en la planta.

tabla # 11
 CANTIDAD DE HCN EN SORGO PROVENIENTE DE ZUMPANGO
 VS TIEMPO DE SECADO

TIEMPO (hrs)	% HUMEDAD DE LA PLANTA	mg HCN/kg MATERIA SECA
0	73.09	260.00
48	71.52	246.00
96	69.69	99.02
144	54.02	97.50
192	53.42	91.18
240	52.70	90.04
288	38.88	89.85
336	38.21	89.62
384	12.20	82.05
432	6.96	67.02
480	6.31	61.79
528	5.76	54.08

**CANTIDAD DE HCN EN SORGO PROVENIENTE DE ZUMPANGO
VS TIEMPO DE SECADO**



GRAFICA • 7

3. DISCUSION

El presente trabajo se divide prácticamente en tres experimentos. En el primero se cuantificó la cantidad de HCN presente en diferentes variedades de plantas forrajeras, siendo un total de 71 muestras. Se encontraron cantidades desde 13.5 hasta 97.2 mg de HCN/kg de materia seca. Entre estas plantas existen algunas que arrojan resultados positivos cualitativamente, pero que al aplicar la prueba cuantitativa 26.151 de la A.O.A.C. (2), reaccionaban con la primer gota del reactivo de nitrato de plata, lo cual no es muy significativo y simplemente se indicaron los resultados como trazas de HCN presente en la planta. Estos resultados se pueden observar en la tabla 9. Ahora bien, el hecho de haber utilizado las pruebas tanto cualitativa como cuantitativa de la A.O.A.C. se debe a que son pruebas ya muy validadas por varios científicos y que además nos ofrecen un rango de confiabilidad muy aceptable para los fines de este trabajo. Es decir que las concentraciones que nos interesa determinar están por arriba de los 200 mg de HCN/kg de materia seca, que es la cantidad que muchos autores de trabajos anteriores, relacionados con la toxicidad de plantas cianogénicas, mencionan como la mínima para intoxicar a cualquier animal que consuma dichas plantas (29)(30)(32). Si consideramos lo anterior, esta prueba tiene una capacidad para detectar cantidades desde 5.4 mg de HCN/kg de materia, aproximadamente, lo cual la hace bastante confiable para las determinaciones que aquí se hicieron.

Ahora bien se puede observar en la tabla 9 que para una misma especie (*Cynodon plectostachyum* o *Echinochloa polystachya*), la cantidad de HCN determinado puede variar considerablemente dependiendo de las condiciones de crecimiento de las plantas. Algunos autores han demostrado que efectivamente las condiciones que pueden llegar a afectar la cantidad de HCN presente en una planta cianogénica son la altitud sobre el nivel del mar, la humedad del medio ambiente y la temperatura, entre otros (4)(22)(24).

Como la dosis letal que han reportado otros investigadores es del orden de los 2 a 2.3 mg de HCN/kg de peso vivo, y que la mínima cantidad de HCN en la planta que podría intoxicar a los animales es de 200 mg de HCN/kg de materia seca (12)(29)(30)(32), se puede inferir que de las plantas que aquí se analizan, las de mayor peligro para los animales que pudieran llegar a consumirlas son los sorgos que se enviaron del rancho del

señor Manero en Zumpango, Estado de México. Las cantidades de estos forrajes son mayores a los 200 mg de HCN/kg de materia seca.

Este primer experimento también sirvió como base para escoger la variedad de planta para trabajar el segundo y tercer experimento, dicha planta es el sorgo. El sorgo ofrece la ventaja de ser muy utilizado como forraje en varias regiones del país, por su adaptabilidad, por sus diferentes tipos de pedigré además del apoyo que se brindó por parte del Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y Trigo (CIMMYT), para que este trabajo se realizara lo mejor posible.

En el segundo experimento, en la gráfica 10 se muestran las diferentes etapas fenológicas en donde se puede observar que aún bajo las mismas condiciones de crecimiento sus etapas de desarrollo pueden ser diferentes de una variedad a otra. También se puede notar que las plantas no completaron su desarrollo debido a que una helada hizo que sufrieran deterioro y no llegaron a la etapa final que es la formación de grano. En esta parte del estudio se analiza la cantidad de HCN presente en diferentes partes de la planta de sorgo con tres diferentes variedades (pedigré), encontrándose que la parte de la planta con mayor cantidad de glucósidos cianogénicos expresados como mg de HCN/kg de materia seca, son las hojas, seguidas de las raíces. El tallo y la panícula no presentaron resultados positivos a la prueba cualitativa 26.149 de la A.O.A.C.(2)(11).

En los resultados presentados en las gráficas de la 1 a la 6, se observa que la mayor cantidad de HCN presente en la planta, específicamente en hojas y raíz, sucede en los primeros días de desarrollo, esto se atribuye a que principalmente existen follaje y raíces. Al paso de los días existe una disminución considerable en la cantidad de ácido cianhídrico, lo que algunos investigadores proponen como debido al metabolismo de desarrollo de la planta, la cual necesita una mayor cantidad de Nitrógeno para formación de las otras partes de ella y que podría llegar a tomar del glucósido cianogénico (17)(21)(26). Esta disminución se observa hasta la etapa de la floración en donde se presenta un aumento considerable de HCN, este efecto es considerado por el desarrollo de nuevos brotes en la planta también llamados hijuelos y que algunos investigadores han encontrado que la cantidad de HCN presente en ellos es mayor que la cantidad encontrada en la planta original (23)(28). Después de esta etapa la cantidad de HCN en la raíz comienza a disminuir o cuando menos a tener una cantidad más o menos constante. Sin embargo en

las hojas observamos que la cantidad de HCN, después de la etapa de floración, va disminuyendo pero después de la helada que se presentó a los 130 días, las hojas presentan un aumento considerable. Esto hace pensar que con la helada los tejidos de la planta se rompen y permiten que exista un mejor contacto entre el glucósido cianogénico y las enzimas catalizadoras de la hidrólisis del glucósido, ocasionando dicho aumento en las tres variedades del sorgo, que se suma al hecho de que todavía existían algunos brotes nuevos en la planta (8)(15).

En la gráfica 7 y tabla 11 se muestran los resultados del tercer experimento en donde se observa la influencia del tiempo de secado en la cantidad de HCN presente en la planta. Las variedades de sorgo aquí utilizadas se reportaron como potencialmente tóxicas ya que algunos animales (vacas y becerros) que se alimentaron de estas plantas sufrieron intoxicación por HCN, ocasionándoles la muerte. En la gráfica 7, se observa que conforme aumenta el tiempo de secado del forraje disminuye la cantidad de HCN presente en la planta al igual que la humedad. Sin embargo, no podemos inferir que la humedad tenga una influencia directamente proporcional a la cantidad de HCN liberado de la planta puesto que entre las 48 y 96 horas existe un salto en la gráfica de la cantidad de HCN, y no así en la de la humedad que prácticamente va disminuyendo en forma regular hasta llegar a un punto donde se hace casi constante. Así la cantidad de HCN después de las 96 horas de almacenado va disminuyendo pero en forma muy lenta y más por efecto de la hidrólisis enzimática que por efecto de la humedad.

IV CONCLUSIONES

1. CONCLUSION

En el presente trabajo se analizó la cantidad de glucósidos cianogénicos expresados como mg de HCN presentes en la planta, para los campos agrícolas experimentales de Chiapas (CAECOCHI), Tabasco (CAEHUI), y Veracruz (CAEPAP) pertenecientes a la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). El número de muestras analizadas fué de 71 y el encontrado para aquellas que contenían HCN fué de 16, lo que representa el 22% del total de muestras. Dentro de estas 16, ninguna rebasa la cantidad que se reporta como el límite mínimo para causar intoxicación, 200 mg de HCN/kg de materia seca (29)(30)(32). Sin embargo esto no quiere decir que dejen de ser especies peligrosas, las cuales deben trabajarse con cuidado, al utilizarlas como alimento.

Por otra parte se analizó la cantidad de HCN presente en la planta de sorgo con tres diferentes tipos de pedegree en función del tiempo de desarrollo así como en las diferentes partes de la planta. A este respecto debe notarse que debido a un factor no controlable (el medio ambiente), la planta no pudo culminar su desarrollo lo que impidió determinar la cantidad de HCN presente en los granos de sorgo que es una parte muy importante para el consumo del animal.

En cuanto a las partes de la planta de sorgo analizadas se observa que las hojas son las que presentan siempre la mayor cantidad de HCN y en seguida las raíces. El tallo y la panícula aunque no arrojaron resultados positivos no es señal de que no exista definitivamente la presencia de glucósidos cianogénicos, ya que otros investigadores han encontrado la presencia de los glucósidos cianogénicos en estas partes, pero quizá la técnica utilizado no fué lo suficientemente sensible para alcanzar a detectar las cantidades de HCN que podrían existir en concentraciones muy bajas. Lo que es recomendable considerar en el consumo de los forrajes analizados(23).

Se concluye que definitivamente la etapa en donde existe la mayor cantidad de HCN es la diferenciación floral. Esto es atribuido, según el estudio, al hecho de que son las hojas y raíces las que contienen la mayor cantidad de HCN, y es en esta primera etapa en donde existen principalmente hojas y raíces. La disminución puede ser efecto del

metabolismo de la planta que al estarse desarrollando utiliza el nitrógeno presente en el glucósido cianogénico para la formación del tallo y la panícula (17)(26). Otra etapa importante, en cuanto a la cantidad de HCN presente en la planta, se encontró durante la floración por la aparición de nuevos brotes en la planta (hijuelos), los cuales contienen una mayor cantidad de HCN que la planta original, que hace que la concentración se vea incrementada durante esta etapa. Un hecho interesante se observa cuando las plantas recibieron una helada, que ocasiona, según otros investigadores, que la cantidad de HCN aumente al romperse los tejidos de la planta por este efecto (8)(15). Este hecho hace pensar como una de las posibilidades la intoxicación de los animales del Rancho del Sr. Manero, que consumieron forrajes después de una helada y cuya cantidad de HCN se detectó todavía muy alta después de varios días de este fenómeno.

En el análisis de la influencia del tiempo de secado sobre la cantidad de HCN presente en la planta, se observó que conforme transcurre el tiempo de secado a temperatura ambiente la cantidad de HCN va disminuyendo. Esto se recomienda como una práctica para el consumo de aquellos forrajes que se consideren como potencialmente tóxicos. Algunos investigadores recomiendan que aquellos forrajes que sean cianogénicos se sometan al secado bajo el sol o bien se utilicen como ensilado para disminuir la cantidad de HCN presente en la planta (7)(8).

En términos generales los objetivos que se perseguían en este trabajo se llevaron a cabo y se cree necesario que todas aquellas personas que trabajan con forrajes para el consumo de sus animales tengan presente los estudios que aquí se realizaron, esperando que sean de ayuda para evitar la intoxicación de sus animales y aquellas personas que se dedican al estudio de nuevas especies consideren que no sólo el valor nutritivo es importante sino también el aspecto toxicológico, y que al estar creando nuevas especies de forrajes tomen en cuenta este hecho.

2. RECOMENDACIONES

La recomendación que hacemos sobre el uso de forrajes cianogénicos es que de ser posible antes de utilizarlos como alimento para los animales se hiciera cuando menos la prueba cualitativa para determinar en base al color del papel reactivo, si el forraje contiene o no glucósidos cianogénicos y en base a la coloración juzgar si existe mucha o poca cantidad de éstos (11).

Otra recomendación sugerida es que los forrajes cianogénicos potencialmente tóxicos como es el caso del *Sorghum vulgare*, *Cynodon plectostachium*, *Digitaria decumbens* o *Echinochloa polystachya*, se utilicen antes de la floración cuidando que no exista la formación de nuevos brotes en la planta y de ser posible utilizarlos como pastura después de cuando menos una semana de secarse bajo el sol o bien como ensilaje. Recordamos que algunos investigadores han detectado que el secar los forrajes bajo el sol provoca una disminución más rápida del contenido de glucósidos cianogénicos que el secado bajo la sombra o aún que el secado en hornos a temperaturas hasta de 60 °C (7)(8).

Que aquellos forrajes cianogénicos que tengan una cantidad menor a los 200 mg de HCN/kg de materia seca se utilicen en combinación con otros que no sean cianogénicos para evitar la intoxicación por acumulación de materia en los animales que sean o no rumiantes. Esta recomendación también se hace para aquellos que se consideran como potencialmente tóxicos.

V BIBLIOGRAFIA

- (1).- ADES, TOTAH J.J., et.al., "Presencia de Acido Cianhídrico en Forrajes Cultivados en México", Agricultura Técnica en México, 12(1), p.77-90, (1986).
- (2).- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (A.O.A.C.), Official Methods of Analysis, 14th Ed, USA, p.499-500, (1984).
- (3).- BAKER, GARY M., et.al., "The reaction of Cytochrome Oxidase with Cyanide", The Journal of Biological Chemistry, 262(2), p.595-604, (1987).
- (4).- CLARK, R.B., et.al., "Effects of Mineral Elements on Hydrocyanic Acid Potential in Sorghum Seedlings", Crop Science., 19(6), p.757-761, (1979).
- (5).- COMPTON, L.P., "Agronomía del Sorgo", Instituto Internacional para el Mejoramiento en Cultivos para los Trópicos Semi-Aridos (ICRISAT), El Salvador, p.70-90,(1990).
- (6).- CONN, E.E., "Cyanogenic Glycosides", The Biochemistry of Plants., Z, p.479-500, (1981).
- (7).- GOMEZ, G., et.al., "Cassava Foliage. Chemical Composition, Cyanide Content and Effect of Drying on Cyanide Elimination", Journal Science Food Agric., 36, p. 433-441, (1985).
- (8).- GORASHI, A.M. et.al., "Effect of Stage of Growth, Temperature and, N and P Levels on the Field and Growth Room", Crop Science., 20, p.45-47, (1980).
- (9).- GORZ, H.J., et.al., "Divergent Selection for Hydrocyanic Acid Potential in Sudangrass", Crop Science., 22, p. 322-325, (1982).

- (10).- GOODMAN, L., GILMAN, A., *Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, Edit. UTEHA, México, p.1056-1058, (1962).
- (11).- GUIGNARD, L., "The Detection and Estimation of HCN Beans", *Ann.Fals.*, **2**, p.301-305., En: *Chemical Abstracts*, Vol.11, p.675, (1917).
- (12).- HARPER, NICOLA L., et.al., "A Survey for Cyanogenesis in Ferns and Gymnosperms", *Phytochemistry.*, **15**, p.1764-1767, (1976).
- (13).- HASKINS, F.A., et.al., "Comparison of the Hydrocyanic Acid Potential of Sorghum Seedlings and Tillers", *Agronomy Journal.*, **71**, p.501-504, (1979).
- (14).- HASKINS, F.A., et.al., "Cyanogenesis in Indiangrass Seedlings", *Crop. Science.*, **19**, p.761-765, (1979).
- (15).- HASKINS, F.A., et.al., "Effect of Freezing on the Hydrocyanic Acid Potential of Field-Grown Sorghum Tillers", *Crop. Science.*, **24**, p.1183-1186, (1984).
- (16).- HILL, BRUCE C., et.al., "Cyanide Binding to Bovine Heart Cytochrome c Oxidase Depleted of Subunit III by Treatment with Lauryl Maltoside", *The Journal of Biological Chemistry.*, **261**(33), p.5356-15359, (1986).
- (17).- HUGHES, MONICA, et.al., "Cyanoglucoside Biosynthesis in White Clover (*Trifolium Repens*)", *Phytochemistry.*, **15**, p.697-701, (1976).
- (18).- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA, GEOGRAFIA E INFORMATICA, "México en el mundo 1989", INEGI, México, p.1-3, (1990).
- (19).- LEHNINGER, ALBERT L., *Bioquímica*, Ediciones Omega S.A., p. 274, 661, 720, (1980).
- (20).- LELAND, R. HOOSE, "El Sorgo", Grupo Editorial GACETA S.A., México, p. 27-64, (1982).

- (21).- LINDBERG, M. BIRGER, et.al., "The Biosynthesis of Cyanogenic Glucosides in Higher Plants", *The Journal of Biological Chemistry.*, **255**(7), p.3049-3056, (1980).
- (22).- M. DE ARAUJO, A., "The Relationship Between Altitud and Cyanogenesis in White Clover (*Trifolium repens* .L)". *Heredity*, **37**(2), p.291-293, (1976).
- (23).- MARTIN, J.H., et.al., "Hydrocyanic Acid Content of Different Parts of The Sorghum Plant", *Journal of the American Society of Agronomy.*, p.725-734, (1938).
- (24).- McBEE, GEORGE G., et. al., "Hydrocyanic Acid Potential In Several Sorghum Breeding Lines as Affected by Nitrogen Fertilization and Variable Harvests", *Crop Science*, **20**, p.232-234, (1980).
- (25).- MENDOZA, PEREZ F., "Búsqueda de un Método Adecuado de Cuantificación del Glucósido Cianogénico Contenido en Algunas Variedades de Frijol Mexicano", Tesis FESC-UNAM, México, p.12-27, (1980).
- (26).- MILLER, JAQUELINE M., et. al., "Metabolism of Hidrogen Cyanide by Higher Plants", *Plant Physiol.*, **65**, p.1119-1202, (1980).
- (27).- MIRANDA, CASTRO S., "Cuantificación de Glucósidos Cianogénicos en Forrajes Comunes en el País", Tesis FESC-UNAM, México, p.13-21, (1979).
- (28).- PANASIUK, OKSANA, et. al., "Cyanide Content of Sorghum Sprouts", *Journal of Food Science*, **49**, p.791-793, (1984).
- (29).- PUENTES, DE DIAZ A., et.al., "Algumas Plantas Cianogenéticas da Região Amazonica", *Acta Amazonica.*, **8**(4), p.679-685, (1978).
- (30).- RADELEFF, R.D., "Toxicología Veterinaria", Editorial ACADEMIA, Primera Edición, España, p. 65-75, (1967).

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- (31).- SARPE, "Gran Enciclopedia Médica", Ediciones SARPE., Primera Edición, 2. España, p.439, (1979).
- (32).- SEIGLER, DAVID., "Plants of the Northeastern United States that Produce Cyanogenic Compounds", Economy Botany., 30, p.395-407, (1975).
- (33).- SINGH, VIJAY, et. al., "HCN Content of Varieties of fodder Sorghum in Relation to Yield and Nutritional Value", Indian J. Agric. Sci., 53(6), p.431-434, (1983).
- (34).- WAGNER, R., "Química Industrial y Agrícola", Edit. F. Nacente., España, p.264-267, (1989).