







en la región de 87 kDa. Estas bandas de proteínas de alto peso molecular se repiten en el resto de las muestras tomadas durante todo el proceso de degradación ruminal, valores éstos semejantes a los mencionados por la literatura, dado que en ensayos realizados con varias especies, coincidentemente en todos los forrajes se encontraron bandas en pesos moleculares de 15, 30, 45, 47 y 54 kDa<sup>18</sup>.

En general, en el follaje de las gramíneas se observan dos bandas electroforéticas con mayor intensidad, que probablemente sean la RuBisCO (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa), proteína con mayor concentración en tejidos verdes y con peso de 56 kDa, y otras proteínas involucradas en procesos de reserva llamadas proteínas vegetativas de almacenamiento foliares (VSP), que se encuentran en las hojas. La masa de estas proteínas oscila entre los 27 y 47 kDa y son muy ricas en aminoácidos esenciales, como valina, lisina, prolina, metionina y triptófano, lo cual también fue observado en leguminosas<sup>6</sup>.

Luego de seis horas de digestión, se observaron las bandas de 65 y 46 kDa, al igual que en el tiempo inicial, a la vez que aparecieron nuevas proteínas a los 60; 55; 44; 33 (débil); 30, 27 y 23 kDa, así como un grupo de bandas muy débiles de bajo peso molecular entre los 19 y 15 kDa. Doce horas después, continuó apareciendo la banda correspondiente a los 46 kDa que fuera detectada en tiempo cero. De las bandas que hicieron su aparición a las 6 horas de degradación, sólo se mantuvieron 4 de ellas y correspondieron a polipéptidos de 60; 55; 33 (débil) y 29 kDa. También se distinguieron nuevas bandas bien definidas de bajo peso molecular: 24; 18 y 15 kDa. A las 24 horas se observó la banda de 29 kDa que fue detectada por primera vez a las 6 horas de digestión, presentándose nuevas bandas a los 71; 64; 50; 34; 26 y 12 kDa.

Posteriormente, a las 48 horas de digestión, se observan las bandas de 50 y 34 kDa que continuaron apareciendo hasta finalizar el ensayo (120 horas). También se presentaron bandas a los 55; 25 y un grupo de bandas entre los 21 y 18 kDa. A las 72 y 120 horas de digestión, se observaron mayores cambios, dado que aparecieron bandas a los 62; 45; 28; 12; 19 y 17 kDa. Estas dos últimas bandas incrementaron su intensidad al avanzar el tiempo de digestión. También se detectaron nuevas bandas a las 120 horas de digestión a los 55; 40 y 18 kDa.

Se detectó la presencia de bandas muy intensas de 46, 41 y 14 kDa, bandas de menor intensidad de 64, 55, 57 y 51 kDa y un grupo de alto peso molecular de 87 kDa. Trabajando con pastos liofilizados, otros autores encontraron bandas entre 20 y 36 kDa<sup>18</sup>; estos forrajes no difirieron en la concentración nitrogenada y la distribución de proteínas individuales no varió entre cultivares, siendo semejantes a otros pastos, así también se observó que la fracción que más disminuyó fue la de 54 kDa a las 12 horas de degradación.

Las proteínas de 15, 30 y 54 kDa sumaron el 80% de las proteínas separadas electroforéticamente. Las

fracciones de 15 y 54 kDa parecieran ser la mayor y menor subunidad de RuBisCO, y la de 30 kDa es la que podría estar asociada con el complejo clorofila-proteína<sup>25</sup> del fotosistema 2. Las fracciones solubles de las proteínas de las hojas sumaron del 40 al 50% de las proteínas totales. La RuBisCO así identificada entre ellas representó la mayor proporción de las proteínas solubles totales en alfalfa, el resto fue una mezcla heterogénea de proteínas en el rango de 10 a 300 kDa<sup>13</sup>.

En las especies C<sub>4</sub>, del 8 al 23% del total de proteínas correspondió a la enzima RuBisCO. La pérdida de estas fracciones podría ser utilizada como indicador de integridad celular. En presencia de SDS, la proteína RuBisCO se disocia en una fracción con PM de 56 kDa y una subunidad más pequeña de PM de 16 kDa<sup>25</sup>.

En ensayos realizados con especies C<sub>3</sub>, se observó que las tasas de degradación ruminal eran diferentes. En ellas las fracciones de 24, 26 y 56 kDa, se localizaron dentro del cloroplasto del mesófilo; en las especies C<sub>4</sub> la fracción de 56 kDa estaba localizada en el cloroplasto de las células de la vaina, que eran degradadas más lentamente<sup>1</sup>, conjuntamente con las fracciones de 24 y 26 kDa que están en el mesófilo de las células de la vaina. La disminución creciente de estas fracciones de proteínas en el tejido degradado de gramíneas megatérmicas, apoya fuertemente la hipótesis que éstas pueden ser protegidas de la degradación ruminal por células de la vaina<sup>24</sup>.

La fracción de proteína de 56 kDa que al parecer es la subunidad grande de la enzima RuBisCO, estuvo presente en la especie aquí estudiada hasta las 120 h de incubación ruminal; en cambio, la literatura menciona distintos comportamientos para otras pasturas como ser *Panicum*, donde estuvo presente hasta las 24 h, en *Andropogon* se la observó hasta las 16 h y en *Bromus* solo hasta las 8 h. En cambio otra fracción como la de 26 kDa, que fue observada hasta las 24 h en *Panicum* y *Andropogon*, coincidentemente con lo observado por nosotros, se detectó solamente por 8 h en *Bromus*<sup>24</sup>. La fracción de 24 kDa en *S. setosum*, estuvo presente hasta las 48 h de incubación ruminal, mientras que la literatura cita para *Panicum* 24 h de incubación, para *Andropogon* 8 h y para *Bromus* 4 h<sup>24</sup>.

En estudios realizados en semillas de girasol se encontró que el patrón electroforético exhibió cinco polipéptidos, en el rango de 65,5 a 42 kDa; esto fue comparado contra un patrón de ocho polipeptidos, dentro del cual se observó la fracción de 55 kDa, que pertenecería a RuBisCO y estaría presente en todos los vegetales<sup>26</sup>. En porotos pallar se registró la presencia de dos fracciones, una que tenía mayor presencia con PM de 14 a 50 kDa y otra con polipéptidos de PM entre 14 y 116 kDa; además, se reportó el hallazgo de varias bandas comunes entre ellas, probablemente debido a una separación incompleta de las fracciones<sup>11</sup>.

Análisis electroforéticos realizados en *Lupinus*, mostraron bandas entre 14,4 y 66,2 kDa<sup>12</sup>. En proteínas de *L. angustifolius* y *L. albus* se observaron monómeros con PM que oscilaron entre 17 y 64 kDa<sup>9</sup>. Estos

valores son coincidentes con los hallados en nuestro trabajo, donde el rango encontrado para los diferentes monómeros se ubicó entre los 14 y 64 kDa, a excepción de dos polímeros, uno de ellos que surgió a las 24 h de incubación ruminal de PM de 12 kDa y otro de 86 kDa, que apareció en todos los horarios estudiados.

Otros investigadores sometieron a degradación ruminal tres genotipos de alfalfa y luego, por electroforesis bidimensional, caracterizaron las proteínas individuales en dos tiempos de incubación 45 y 120 min. Después de 45 min, 9 proteínas representaron el 75% del total, 12 proteínas representaron el 50% o menos y otras 5 proteínas fueron intermedias. Después de 120 min 4 proteínas representaron el 80%, 7 se presentaron en el rango de 80 y 50%, y otras 15 representaron menos del 50% <sup>7</sup>.

En trabajos anteriores se caracterizaron las proteínas solubles de la raíz de *Lepidium peruvianum*, observándose que para todos los ecotipos, los polipéptidos más abundante eran los de peso molecular bajo <sup>19</sup>. A su vez, el más prominente de los analizados, ostentaba un PM de 22,5 kDa, en segundo lugar un polipéptido de 17 kDa, y el tercer polipéptido más abundante tenía un PM de 15 kDa, todos ellos distribuidos en un rango de puntos isoeléctricos de 7,1 a 8,2. Si bien este estudio se realizó en raíces y no en hojas como el aquí presentado, los rangos de puntos isoeléctricos coinciden con las observaciones del presente ensayo, no así los PM que variaron dentro de un rango entre 12 a 87 kDa.

En conclusión, si bien la interpretación del patrón de bandas proteicas de *S. setosum* refleja variación con otras especies, la presencia de bandas observadas evidencia homogeneidad con gramíneas C<sub>4</sub>. Se observaron modificaciones en el perfil proteico a lo largo del proceso de degradación, detectándose la aparición e intensificación de bandas de menor PM y la aparición de bandas de PM superiores. Durante el proceso de degradación ruminal ensayado, se registró la presencia de bandas que permanecieron durante las 120 h de estudio, lo que permite inferir algún grado de protección que ayudaría a prolongar su permanencia sin ser degradada y por lo tanto una menor digestibilidad de esta gramínea.

## REFERENCIAS

1. **Akin DE, Burdick D.** 1981. Relationships of different histochemical types of lignified cell walls to forage digestibility. *Crop Sci* 21: 577-581.
2. **Araujo C.** 2000. WinXGel version 1.7. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario, Argentina.
3. **Azeez MA, Morakinyo JA.** 2004. Electrophoretic characterization of crude leaf protein in *Lycopersicon* and *Trichosanthes* cultivars. *Afr J Biotech* 3: 585-587.
4. **Brahim NB, Salhi A, Chtourou N, Combes D, Marrakchi M.** 2002. Isozymic polymorphism and phylogeny of 10 *Lathyrus* species. *Gen Res & Crop Evol* 49: 427-436.
5. **Camacho MK et al.** 2010. Caracterización proteómica de granos de frijol azufrado (*Phamseolus vulgaris*) cultivados en el estado de Sinaola. *Ra Ximhai* 6: 23-36.
6. **Carvajal JI.** 2010. Digestibilidad *in vitro* prececal y cecal de plantas forrajeras tropicales en nutrición de cerdos. [www.bdigital.unal.edu.co/2190/1/7406002.2010.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/2190/1/7406002.2010.pdf)
7. **Chen ZZ, Huang J, Lai Z, Fan B.** 2009. Biosynthesis of salicylic acid in plant. *Plant Sign & Behav* 4: 493-496.
8. **Díaz P, Dallarizza M, Vázquez D, Castro M.** 2006. Elementos de análisis cualitativo y cuantitativo en proteínas del gluten de trigo. *Agric Técn* (Chile) 66: 360-369.
9. **Duranti M, Consonni A, Magni C, Sessa F, Scarafoni A.** 2008. The major proteins of lupin seed: characterization and molecular properties for us as functional and nutraceutical ingredients. *Trends Food Sci Technol* 19: 624-633.
10. **Fahmy WG, Aufrere J, Graviou D, Demarquilly C, El-Shazly K.** 1991. Comparison between the mechanism of protein degradation of two cereals by enzymatic and *in situ* methods, using gel electrophoresis. *Anim Feed Sci Technol* 35: 115-130.
11. **Gallego S, Pacheco J, Betancur D, Guerrero CL.** 2004. Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano de *Phaseolus lunatus*. *Arch Latinoam Nutr* 54: 78-82.
12. **Garzón P et al.** 2008. Chemical physical properties of globulin and l-conglutin isolated at different pH values from *Lupin albus*. 12<sup>th</sup> Intern Lupin Conf. Fremantle, Australia. [www.lupins.org/pdf/conference/2008/FoodandHealth.pdf](http://www.lupins.org/pdf/conference/2008/FoodandHealth.pdf)
13. **Grum DE, Shockey L, Weiss WP.** 1991. Electrophoretic examination of alfalfa silage proteins. *J Dairy Sci* 74: 146.
14. **Illoh HC.** 1990. An electrophoretic study of crude protein diversity in the seed of the genus *Amaranthus*. *Nig J Botany* 3: 151-158.
15. **Isshiki S, Umezaki T.** 1997. Genetic variations of isozymes in cultivated sesame. *Euphytica* 22: 375-377.
16. **Laemmli UK.** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* (London) 227: 680-685.
17. **Messman MA, Weiss WP.** 1994. Use of electrophoresis to quantify ruminal degradability of protein from concentrate feeds. *Anim Feed Sci Technol* 49: 25-35.
18. **Messman MA, Weiss WP, Koch ME.** 1994. Changes in total and individual proteins during harvest, storage, and ruminal fermentation of forages. *J Dairy Sci* 77: 492-500.
19. **Monteghirfo M, Yarleque A.** 2007. Caracterización de las proteínas totales de tres ecotipos de maca (*Lepidium peruvianum* G. Chacon) mediante electroforesis unidimensional y bidimensional. *An Fac Med* 68: 301-306.
20. **Morakinyo JA.** 1984. Genetic studies in the genus *Sorghum*. Tesis, Univ of Ife, Ile-Ife, Nigeria. <http://www.nuc.edu.ng/nucsite/File/ILS%202003/ILS-120.pdf>
21. **National Research Council.** 1985. *Ruminant Nitrogen Usage*. Natl Acad Sci Washington. <http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=030903597X>
22. **Onokpise OV.** 1988. Coefficients of co-ancestry and inbreeding of commoly grown muscadine grape cultivars. *Amer J Enol and Vitic* 39: 351-353.

23. **Perez S, Escala M, Tillett S.** 2007. Evaluación preliminar del patrón electroforético en una dimensión (SDS-PAGE) de proteomas de semillas en especies del género *Passiflora* L. *Passifloraceae*. *Rev Fac Agron LUZ* (Venezuela) 24: 13-19.
24. **Redfearn DD, Moser LE, Waller SS, Klopfenstein TJ.** 1995. Ruminal degradation of *Swithgrass*, *Big bluestem*, and *Smooth Bromegrass* leaf portions. *J Anim Sci* 73: 598-605.
25. **Rutner AC, Lane MD.** 1967. Nonidentical subunits of ribulose diphosphate carboxylase. *Biochem Biophys Res Commun* 28: 531-537.
26. **Sammour RH, El-Shourbay MN, Abo-Shady AM, Abasery AM.** 1995. Proteins of cottonseed (*Gossypium barbadense*). Extraction and characterization by electrophoresis. *Qatar Univ Sci J* 15: 77-82.
27. **Sirtori E, Resta D, Brambilla F, Zacheri C, Arnoldi A.** 2010. The effects of various processing conditions on a protein isolate from *Lupinus angustiolius*. *Food Chem* 120: 496-504.
28. **Ullah F, Nosheen A, Hussain I, Bano A.** 2009. Base catalyzed transesterification of wild apricot Kernel oil for biodiesel production. *Afr J Biotech* 8: 3309-3313.
29. **Wencomo HB, Díaz M, Álvarez A, Mora L, Coto O.** 2008. Estudio del polimorfismo isoenzimático en el género *Leucaena*. *Zoot Trop* 26: 327-331.

## Revista Veterinaria ingresa a SciELO



Scientific Electronic Library Online

Revista Veterinaria, publicación oficial de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste (Corrientes, Argentina), ha logrado acceder al Núcleo Básico de Revistas Científicas Argentinas (Nivel 1), luego de calificar adecuadamente en el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT), según Resolución 2485/14 del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Sobre un puntaje máximo de 33 se obtuvieron 32 puntos. Tal calificación constituye “una garantía de la excelencia de la publicación” (sic) y queda expedita la vía del Portal SciELO (Scientific Electronic Library Online) para los artículos publicados.

En tal calificación gravitó positivamente la circunstancia de haber aumentado el índice de impacto (Scimago-Elsevier) y haber disminuido las autocitaciones. También se tuvieron en cuenta aspectos como la amplia cobertura de la revista, la calidad científica del Comité Editorial, los criterios de evaluación de los artículos, el origen de los autores (locales 60%, nacionales 13%, extranjeros 26%, en idioma inglés), el adecuado balance entre trabajos científicos originales y reseñas bibliográficas (ambos con alta calidad), así como el estricto cumplimiento de la periodicidad semestral y la favorable acogida por indizadores como Cab, Doaj, Ebsco, Gale Cengage, Infocyt, Latindex y Scopus.

Se consolida de esta manera la continuidad de “Revista Veterinaria”, que en el año próximo (2015) cumplirá 50 años de existencia, en coincidencia con el 95° aniversario de la creación de la Facultad.