

CONTENIDO
Volumen 19 No. 1, Enero – Junio de 2016

	Pág.
EDITORIAL	
Iniciativas de cooperación institucional: por una educación inclusiva y de calidad <i>Germán Anzola Montero</i>	1
CIENCIAS DE LA SALUD	
Conocimientos, actitudes y prácticas sobre el autoexamen de mama en mujeres del área rural de Cartagena <i>Irma Castillo, Cristina Bohórquez, Jhoselys Palomino, Laura Elles, Lizeth Montero</i>	5
CIENCIAS AGRARIAS (Agronomía, Ciencia y Tecnología de Alimentos, Ingeniería Agrícola, Medicina Veterinaria, Zootecnia)	
Morfología de frutos e semillas de porta-enxertos de cítricos cultivados en ambiente protegido <i>Andrés Ivan Prato Sarmiento, Júlio Cesar Giuliani, Paulo Vítor Dutra de Souza</i>	17
ARN de interferencia (ARNi): una tecnología novedosa con potencial para el control de insectos plaga <i>Daniel Noriega, Arnubio Valencia, Bernardo Villegas</i>	25
Preliminary evaluation of pathogens affecting <i>Eleodes longicollis punctigerus</i> Blaisdell (Coleoptera: Tenebrionidae) <i>Daniel Estiven Quiroga-Murcia, Ingeborg Zenner de Polanía, Francisco Javier Posada-Flórez</i>	37
Epidemiología del tizón tardío [<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary] en quince introducciones de tomate silvestre <i>Luisa Fernanda Cardona-Piedrahita, Jairo Castaño-Zapata, Nelson Ceballos-Aguirre</i>	45
Estimating soil properties with mid-infrared spectroscopy <i>Johana P. Bonett, Jesús H. Camacho-Tamayo, Javier E. Vélez-Sánchez</i>	55
Bacterias endófitas asociadas a los géneros <i>Cyperus</i> y <i>Paspalum</i> en suelos contaminados con mercurio <i>Alexander Pérez, Dalila Martínez, Zafiro Barraza, José Marrugo</i>	67
Rendimiento y calidad de hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bert. bajo la oferta edafológica y dos niveles de radiación en cinco regiones de Colombia <i>Jaime L. Hernández, Enrique M. Combatt, Alfredo Jarma O., Janer Polo S., Luis Rodríguez P.</i>	77
Evaluación del crecimiento de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) CV ICA Cerinza, bajo estrés salino <i>Wilmer Alejandro Quintana-Blanco, Elberth Hernando Pinzón-Sandoval, David Fernando Torres</i>	87
Cuantificación voltamétrica de plomo y cadmio en papa fresca <i>Yuri Lorena Moreno Mariño, José Mauricio García Colmenares, Sandra Patricia Chaparro Acuña</i>	97
Caracterización de los sistemas productivos de café en Nariño, Colombia <i>Hernando Criollo Escobar, Tulio César Lagos Burbano, Tito Bacca Ibarra, Johanna Alixa Muñoz Belalcazar</i>	105
Efectos del cruzamiento entre las razas de conejos Nueva Zelanda y California sobre caracteres de la camada al destete <i>Fernando Gallego</i>	115
Estimación de parámetros genéticos para peso y talla a diferentes edades en yamú (<i>Brycon amazonicus</i>) <i>Felipe Bernal, Fernando Gallego</i>	123
Frecuencia de hematozoarios en bovinos de una región del Caribe colombiano <i>Alfonso Calderón, Nicolás Martínez, Haydée Iguarán</i>	131
Prevalencia de fasciolosis bovina en una zona de Caldas Colombia con evidencias de la enfermedad <i>Etna Giraldo Pinzón, Jorge Pérez Cárdenas, Sandra Aguilar Marín, Sergio Linares Villalba</i>	139
Prevalencia de otitis parasitaria por <i>Rhabditis</i> sp. en empresas ganaderas Gyr en Córdoba (Colombia). <i>Alfonso Calderón, José Cardona, Marlene Vargas</i>	149

Suplementación con aminoácidos de cadena ramificada en la progresión de la hepatitis crónica <i>Jorge Mario Cruz Amaya; Melina Flórez Cuadros; William Narváez Solarte</i>	155
Efecto de dos maniobras manuales cíclicas de reclutamiento alveolar sobre gases sanguíneos en perros anestesiados <i>Edwin Buriticá Gaviria, Diego Echeverry Bonilla, Diego Ospina Argüelles</i>	161
CIENCIAS BIOLÓGICAS	
Remoción de plomo por biomasas residuales de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) y zuro de maíz (<i>Zea mays</i>) <i>Candelaria Tejada Tovar, Adriana Herrera, Juan Núñez Zarur</i>	169
Evaluación de la biodegradación del colorante azul brillante utilizando hongos de la podredumbre blanca y sus consorcios <i>Julián Rojas, Angelina Hormaza</i>	179
Efectos de <i>Eisenia foetida</i> y <i>Eichhornia crassipes</i> en la remoción de materia orgánica, nutrientes y coliformes en efluentes domésticos <i>Lisette Vizcaíno Mendoza, Natalia Fuentes Molina</i>	189
Implementación de ósmosis directa y nanoaditivos magnéticos para desalinización de agua <i>Adriana Herrera, Laura Vela, Gustavo Morales, Ildefonso Castro</i>	199
CIENCIAS SOCIALES APLICADAS	
Enfoque sistémico aplicado al manejo de parques metropolitanos, una posición desde Bogotá D.C. – Colombia <i>Adriana Posada Arrubla, Ángela Daniela Paredes Buitrago, Geovanny Esteban Ortiz Romero</i>	207
CIENCIAS EXACTAS Y DE LA TIERRA	
Estimación de la capacidad en restaurantes de fabricación masiva <i>Juan Pablo Orejuela, Marco Antonio Salcedo, Luis Eduardo Giraldo</i>	219
Modelación matemática situada en un oficio. El caso de artesanos de la madera <i>Armando Aroca</i>	227
REPORTE DE CASO	
Usos potenciales del efluente del humedal-construido en la Pontificia Universidad Javeriana Bogotá <i>Carolina Ardila-Quintero, Ricardo León-Ramírez, Sandra Galarza-Molina, Andrés Torres</i>	237
Rabia en un gato doméstico (<i>Felis silvestris catus</i>) en el municipio de Yumbo, Valle del Cauca, Colombia <i>Fernando Favian Castro Castro, Maria Patricia Mateus Rodríguez</i>	243
Índice 2015	247

EDITORIAL

INICIATIVAS DE COOPERACIÓN INSTITUCIONAL: POR UNA EDUCACIÓN INCLUSIVA Y DE CALIDAD

Germán Anzola Montero
Rector

Las redes, como instrumento de coo-petencia, entendida ésta como la manera de colaboración de entidades similares para lograr el desarrollo y el fortalecimiento de sus actividades, es un ejercicio cada vez más frecuente entre las Instituciones de Educación Superior. Así resume su importancia Carmen García Guadilla, especialista en el campo de la educación superior comparada en América Latina, cuando afirma:

“Una universidad consciente de la globalización del conocimiento y, por lo mismo, integrada a las grandes redes telemáticas académicas y científicas, que participe activamente en el mundo universitario internacional y regional. La integración de todas estas redes de investigadores y académicos en una «red de redes», conducirá a crear, como ya ha sido señalado, una verdadera comunidad universitaria mundial...”

“...las asociaciones o redes nacionales, subregionales, regionales e internacionales, orientadas a la cooperación, al diálogo, al intercambio de innovaciones y conocimientos” (García G., 2008).

Con base en una Educación Superior de calidad, de manera incluyente y equitativa, las redes y las asociaciones universitarias cumplen un papel fundamental en el fortalecimiento de las Universidades, puesto que se organizan y se establecen espacios de cooperación académica e institucional, como instrumento para realizar cambios necesarios en la construcción de un mejor futuro. Mediante la constitución de estas redes, las Instituciones pueden acoplar y compartir su potencial científico y cultural, y traducirlo en soluciones estratégicas, para solventar diversos problemas que vive nuestra sociedad. Débora Ramos Torres, Magister en Ciencias de la Educación, expresa al respecto:

“Redes institucionales: están constituidas por un grupo de instituciones académicas que aunque de origen y entornos distintos, se integran o se unen para acometer diversos pro-

pósitos y realizar proyectos de cooperación e intercambios puntuales. Su conformación es un impulso al intercambio académico y al establecimiento de proyectos conjuntos, a partir de mecanismos de cooperación académica en áreas vitales para el desarrollo educativo, tales como: la investigación; los proyectos de formación de recursos humanos; la educación continua y a distancia; el intercambio de académicos; la promoción del conocimiento, información, metodología, ideas y planteamientos innovadores; la movilidad de estudiantes y profesores en marcos más amplios de colaboración; la transferencia de información; el reconocimiento académico de títulos, grados y diplomas y, las innovaciones académicas entre otros aspectos relevantes. En la mayoría de los casos cuentan con una dirección y tienen un carácter indefinido. En ocasiones, involucran también a empresas y administraciones públicas” (Ramos T., 2007).

En este orden de ideas y conforme a las Redes Universitarias Internacionales, Latinoamericanas, locales y regionales, como la Red Universitaria Ambiental, RENATA, de Emprendimiento, de Empleo, de Seguimiento de Egresados de Instituciones de Educación Superior (Red Seis), Metropolitana de Bogotá (Rumbo), entre las más preponderantes, éstas cumplen un objetivo común, como es el de trabajar en colaboración y brindar servicios y herramientas que generen valor y reconocimiento a las Universidades y permitan apoyar diversas actividades académicas, culturales y científicas. Para ello, se debe involucrar, necesariamente, la empresa privada y el Estado.

Dada su preocupación por las asimetrías que prevalecen en el tema de educación superior y su responsabilidad social frente al fenómeno de la calidad y de la inclusión, la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A se ajusta a las características de las instituciones que conforman algunas de las redes ya señaladas. Teniendo en cuenta que nuestra Universidad es una Institución con 33 años de actividad y con una propuesta académica diferenciada, que

busca el desarrollo social en el ámbito local, regional y nacional, se ha considerado que el impacto en diferentes puntos geográficos del país (región norte de la sabana de Bogotá y sus municipios aledaños: Chía, Cajicá, Sopó, Tocancipá, Briceño, Tabio, Tenjo, entre otros), está dirigido a grupos vulnerables de estratos 1, 2 y 3, por lo cual, se debe hacer no solo en aras de democratizar la educación, sino de prestar un servicio especial a dichas regiones. De igual manera, y como tiene un programa de extensión en Cartagena de Indias, Colombia, sus estudiantes provienen de los 46 municipios del Departamento de Bolívar, quienes han tenido la posibilidad de acceder a una formación universitaria.

Como quiera que la U.D.C.A es una institución integradora y dinámica, que ve la necesidad de reconocer la pluralidad y la tolerancia como bases para que el posconflicto genere oportunidades y no barreras o nuevas formas de exclusión, ha logrado construir una alternativa de formación, complementaria a la que ofrece el Estado, ya que éste, por sus limitaciones, no puede acceder a la población de todas las regiones del país.

Al respecto, la Red de Universidades NEXUS, propuesta por cinco IES colombianas y cuyo fin es la promoción de la educación inclusiva y dada su presencia en las diferentes regiones del país, en cuanto a formación, investigación y servicio social, buscan impulsar temas de interés propios y brindar solución a problemas específicos en las diversas áreas del saber, convirtiéndose, por tanto, en referente a la formación de líderes y a la creación de políticas públicas para el desarrollo humano local y regional.

La citada Red, creada en el 2015, definió las siguientes actividades estratégicas, para la gestión de proyectos de desarrollo social, investigación e innovación y formación, con base en la Investigación titulada Universidades Regionales. Tensión entre la excelencia y la inclusión. Estudio de referenciación e impacto de cinco universidades regionales en Colombia (Martínez B. & Hoyos R., 2015):

1. Impulsar un modelo de educación superior con calidad e inclusión.
2. Fomentar un espacio de encuentro entre universidades privadas de carácter regional, para generar sinergias, que contribuyan a fortalecer su papel estratégico en el desarrollo regional y local.
3. Ejecutar proyectos de interés mutuo en formación, en investigación y en proyección social.
4. Gestionar la cooperación nacional e internacional para consecución de recursos e impulsar proyectos colaborativos de desarrollo tecnológico, académico e investigativo.

5. Cooperar en el desarrollo de procesos de Acreditación Institucional Universitaria, a nivel nacional e internacional.
6. Compartir experiencias y mejores prácticas en las áreas académica, administrativa y financiera.
7. Promover las relaciones de la Red con universidades nacionales e internacionales y con otras redes similares, en el ámbito mundial.
8. Organizar actividades de extensión universitaria, que generen impacto social en la región.
9. Impulsar el crecimiento de la Red mediante la vinculación de otras instituciones de Educación Superior e instituciones no necesariamente adscritas al sector educativo, que compartan los mismos objetivos estratégicos.

Habida cuenta que las Universidades tienen injerencia en la vida pública y en todos los hechos sociales trascendentes para generar cambios a nivel nacional e internacional, y dado que marcan la pauta en cuanto a modelo de países que se busca y los caminos para llegar a él, se hace necesario que los proyectos educativos de las IES induzcan su misión regional, social e inclusiva y que los Gobiernos y sus políticas en Educación Superior, entiendan que la inclusión social no se obtiene con la estandarización de la visión universitaria y sus mecanismos de homogeneidad operativa. En aras de obtener calidad, máxime en un país rico en diversidad, en flora, fauna, etnias, cultura, recursos y creencias, como es Colombia, las propuestas de educación deben responder con aspectos tangibles de flexibilidad, conforme a estas características de la sociedad y la Nación en general, donde cada individuo encuentre un espacio adecuado para su formación.

De este modo, una alianza de las instituciones con estas redes permitirá, por un lado, el desarrollo de sinergias, que fortalezcan a las Universidades y beneficien a la sociedad, con el fin de cerrar brechas entre quienes no cuentan con el apoyo del Estado y de la empresa privada y, por otro, una oportunidad estratégica para el desarrollo conjunto de proyectos e iniciativas de cooperación y de solidaridad en el mejoramiento de la calidad, de la promoción de la equidad y pertinencia e integración de la Educación Superior en la región.

Consecuente con lo anterior, se puede observar, que de ello se derivan numerosas iniciativas y propuestas, cambios en los procesos, enfoques y fundamentación, los cuales, se deben plantear desde la docencia, la proyección social y la investigación, ya que la importancia de estas funciones sustantivas en las Universidades permite un ejercicio integrador y participativo, para obtener resultados favorables y positivos.

Igualmente, la integración y la colaboración de proyectos académicos, de docentes investigadores, de alumnos participantes, de semilleros y jóvenes de investigación, deben generar altos índices de sinergia.

En este orden de ideas, a las Universidades se les abrirán grandes oportunidades, para reforzar e incrementar su impacto en el entorno y como lo plantea la Red Nexus, nos permita:

- Fortalecer la internacionalización y la conexión de nuestros profesores y egresados con el mundo.
- Fortalecer el nivel de otro idioma, en profesores y en estudiantes.
- Consolidar la alianza con el sector empresarial y los gobiernos locales, participando en proyectos, a través de regalías, donaciones y otros recursos.
- Afianzar el emprendimiento y la innovación.
- Fortalecer el potencial de innovación y transferencia del conocimiento a la región.
- Incorporar las TIC en todos los procesos educativos.
- Visibilizar el trabajo de las Universidades, en todos los sectores del país.
- Incorporar en los planes de desarrollo institucional, la dimensión regional, que correspondan a oportunidades y condiciones especiales.

Resulta pertinente concluir diciendo, que todos los que trabajamos en el ámbito académico y educativo, en especial, en el universitario, es claro que la mejor manera de actuar es a través de redes. Nuestros Proyectos Educativos Institucionales tienen fortalezas y debilidades, pero al juntar las fortalezas podemos superar las debilidades; por ello, debe-

mos trabajar de manera cooperativa, buscando entre todos construir aquello que, de manera aislada, ninguno podría conseguirlo.

“En Colombia, el reto de alcanzar una Nación en paz exige una educación que dé a todos los ciudadanos oportunidades y condiciones para su realización como seres humanos, en igualdad de derechos y dignidad, sin distinciones, en todos los rincones de la patria. Es en ese escenario que la Universidad se posiciona como un actor clave en el desarrollo y la equidad en el territorio” (Martínez B. & Hoyos R., 2015).

BIBLIOGRAFÍA

1. GARCÍA G., C. 2008. Pensadores y Forjadores de la Universidad Latinoamericana. Serie Pensamiento Universitario Latinoamericano. Unesco/Iesalc. Cendes, Edit. Bid&Co. Caracas. Disponible desde Internet en: file:///C:/Users/usuario/Downloads/pensadores-Version_completa.pdf (con acceso 20/05/2016).
2. MARTÍNEZ B., P.; HOYOS R., J. 2015. Universidades Regionales. Tensión entre la excelencia y la inclusión. Estudio de referenciación e impacto de cinco universidades regionales en Colombia. Informe final. Barranquilla.
3. RAMOS T., D. 2007. Integración de las redes universitarias: visión y vías de acción desde el IESALC. Revista GUAL, 1(1). Disponible desde Internet en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319327571004> > (con acceso 20/05/2016).

CONOCIMIENTOS, ACTITUDES Y PRÁCTICAS SOBRE EL AUTOEXAMEN DE MAMA EN MUJERES DEL ÁREA RURAL DE CARTAGENA

KNOWLEDGE, ATTITUDES AND PRACTICES ON THE BREAST SELF-EXAMINATION IN WOMEN OF THE RURAL AREA OF CARTAGENA

Irma Castillo¹, Cristina Bohórquez², Jhoselys Palomino³, Laura Elles⁴, Lizeth Montero⁵

¹ Enfermera. Magister en Salud Pública. Universidad de Cartagena, Facultad de Enfermería. Cartagena-Bolívar, Colombia, e-mail: icastilloa@unicartagena.edu.co; ² Enfermera. Universidad de Cartagena, Facultad de enfermería. Cartagena-Bolívar, Colombia: e-mail: cbohorquezm@unicartagena.edu.co; ³ Enfermera. Universidad de Cartagena, Facultad de Enfermería. Cartagena-Bolívar, Colombia, e-mail: jpalominob1@unicartagena.edu.co; ⁴ Enfermera. Universidad de Cartagena, Facultad de Enfermería. Cartagena-Bolívar, Colombia, e-mail: lauvane_29@hotmail.com; ⁵ Enfermera. Universidad de Cartagena, Facultad de Enfermería. Cartagena-Bolívar, Colombia, e-mail: dulce-2505@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1):5-14, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

El cáncer de mama se ha convertido en el segundo tipo de neoplasia más común en el mundo, por esta razón, la OMS promueve la lucha contra el cáncer, mediante el uso de la mamografía y el autoexamen de mama, especialmente, en las poblaciones vulnerables. El objetivo del estudio fue determinar los conocimientos, las actitudes y las prácticas sobre el autoexamen de mama, en mujeres del área rural de Cartagena. Se realizó un estudio descriptivo, con una muestra de 779 mujeres mayores de 20 años, residentes en el área rural, seleccionadas mediante muestreo por conglomerados, tomando como referencia los 15 corregimientos pertenecientes al distrito y realizando, posteriormente, afijación proporcional. Se aplicó una encuesta, que contempló las variables sociodemográficas, conocimientos, actitudes y prácticas sobre el autoexamen de mama. En la evaluación del nivel de información, percepciones y aplicación del autoexamen de mama, se encontró que el 73% de las mujeres conoce cómo se realiza el autoexamen; 77,8% están totalmente de acuerdo con que es bueno realizarlo; 49% nunca se lo ha realizado y solo tres mujeres tiene una práctica adecuada. Se concluyó que en la zona rural, a pesar que las mujeres han recibido información sobre la técnica del autoexamen, no se lo realizan de forma adecuada.

Palabras clave: Conocimientos, actitudes y práctica en salud, autoexamen de mamas, mujeres, salud de la mujer, medio rural.

SUMMARY

Breast cancer has become the second most common malignancy in the world type, for this reason the WHO is promoting the fight against cancer through the use of mammography and breast self-examination especially in vulnerable populations. The objective of the study was to determine the knowledge, attitudes and practices on breast self-examination in women in the rural area of Cartagena. He was a descriptive study with a sample of 779 women older than 20 years, residents in rural areas, selected by sampling by clusters, taking as a reference the 15 townships belonging to the district and subsequently doing proportional affixation. A survey which included Sociodemographic variables, knowledge, attitudes and practices on breast self-examination was applied. In the assessment of the level of information, insights and application of breast self-examination found that 73% of women know the self-diagnosis is performed, 77.8% are fully in agreement with that is good to do so, 49% have never done it and only three women have a good practice. It was concluded that in the rural area while the women have received information about the technique of self-diagnosis, these do not perform it is properly.

Key words: Health Knowledge, Attitudes, Practice, Breast Self-Examination, Women, Women's health, rural environment.

INTRODUCCIÓN

Según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer de mama se ha convertido en el segundo tipo de neoplasia más común en el mundo y el más frecuente entre las mujeres (OMS, 2009; Arce *et al.* 2011).

En España, se diagnostican cada año entre 40 y 75 nuevos casos de este tumor maligno, por cada 100.000 mujeres y se producen alrededor de 6.000 fallecimientos anuales (Ferlay *et al.* 2013). México ocupa el primer lugar en incidencia del cáncer de mama en Latinoamérica y representa 1,34% de todos los casos de cáncer, con un incremento global de, aproximadamente, 1,5% anual (Arce *et al.* 2011).

Para Colombia, existe un aumento en las cifras del cáncer de mama; cada año mueren 2.649 mujeres por esta enfermedad, constituyéndose en la segunda neoplasia maligna más frecuente en mujeres del país, precedido por el cáncer de cuello uterino (Mendoza, 2013; Ministerio de Salud y Protección Social, 2014), con picos de incidencia más altos en ciudades como Barranquilla, Bogotá, Cartagena, Medellín y Cali (Ministerio de Salud y protección Social, 2014). En particular, para el caso de Cartagena, del total de las defunciones por cáncer registradas durante el 2013, la principal causa fue el cáncer de mama, que corresponde a un 18,2% y una tasa de mortalidad atribuible de 13,8 por 100.000 mujeres (DADIS, 2013).

Por la alta incidencia y la letalidad de esta enfermedad es importante aplicar programas que favorezcan la lucha contra el cáncer de mama, principalmente, en grupos de alto riesgo, con estrategias que promuevan el diagnóstico precoz y el tratamiento oportuno (Pardo, 2011).

Actualmente, existen métodos para la detección temprana del cáncer de mama, como son el autoexamen y la mamografía. A pesar de ser este último el medio de diagnóstico más utilizado, el autoexamen de mama (AEM) es un método usado como una importante estrategia de detección temprana, por ser una técnica de fácil realización, rápida y sin costos económicos para la mujer (Silva *et al.* 2013).

Este procedimiento no reduce la mortalidad por cáncer de mama, pero tener información sobre el autoexamen favorece el acceso a diagnósticos tempranos, principalmente, en países de bajos recursos económicos que no poseen infraestructura suficiente, para la realización rutinaria de mamografías (Gutiérrez Delgado *et al.* 2012).

La autoexploración mamaria, se recomienda en Colombia a partir de los 20 años de edad, por ser el primer recurso con que cuenta la mujer para llegar al diagnóstico temprano de

algunos procesos patológicos de la glándula mamaria y, en especial, del cáncer y se refleja, en que más del 80% de los nódulos de mama son diagnosticados por la propia mujer (Ochoa *et al.* 2015).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Demografía y Salud (ENDS, 2010), en Colombia, el 90% de las mujeres mencionó saber que es el autoexamen de seno, conocimiento que es mayor en las zonas urbanas, con un 93,3%, en mujeres con mayor nivel educativo y socioeconómico, a diferencia de la zona rural, donde solo es el 79%. La mayor parte del conocimiento que tienen las mujeres sobre esta técnica resulta de los medios masivos de comunicación y de la instrucción recibida por los equipos básicos de salud en los primeros niveles de atención; lo que es semejante con otros estudios sobre el tema, realizados en poblaciones similares (Martínez *et al.* 2012).

Por ejemplo, solo el 34,6% de mujeres peruanas de 20 a 49 años se realizaba el autoexamen de mama, práctica que es mayor entre mujeres de más de 30 años, de mayor índice de riqueza y que han sido examinadas por un profesional previamente (ENDS, 2010).

En cuanto a la práctica del autoexamen en Colombia, el 62% de las mujeres manifestó habérselo realizado, con una mayor frecuencia en las grandes ciudades, en mujeres de mayor nivel educativo, residentes en zonas urbanas y con un mayor nivel socioeconómico. Por departamentos, la mayor frecuencia de realización se reportó en Valle y, la menor, en Vaupés; la mayor proporción de mujeres que declararon haberlo realizado diariamente fueron mujeres del menor nivel educativo. En Arauca, el 55% de las mujeres manifestaron hacerse el autoexamen cada mes; en San Andrés y Providencia, 71% de las mujeres se ha realizado alguna vez el autoexamen de mama, pero solo el 27,4% lo realiza mensualmente. Pese a ello, estas cifras no informan si la mujer tiene una técnica adecuada para la palpación o si inspecciona u observa los senos e incluye el pezón durante el examen realizado (ENDS, 2010).

Estudiar los conocimientos, las actitudes y las prácticas sobre el autoexamen de mama es importante, no solo debido a las cifras de la enfermedad en el país, sino, además, porque la detección oportuna, mediante la autoexploración mamaria, es un procedimiento de mucho valor, que se refuerza desde el contacto que tiene la mujer con los servicios de salud, en especial, con los profesionales a cargo del cuidado que ayudan y orientan a la mujer durante la consulta, siendo este aspecto más significativo para las mujeres que están en zonas dispersas o zonas rurales, quienes tienen menor acceso a servicios e información en salud de calidad (Suasnabar & Ramírez, 2011).

Por todo lo anterior, esta investigación se propuso determinar los conocimientos, las actitudes y las prácticas sobre el autoexamen de mama, en las mujeres del área rural de Cartagena.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, con una población de referencia de 13.617 mujeres y un tamaño muestral estimado de 779, probabilidad estimada del 62%, nivel de confianza del 95% y un margen de error de 3,5%; se incluyeron en el estudio, las mujeres de 20 a 49 años de edad, de acuerdo a lo establecido en la norma técnica, para la detección temprana del cáncer de mama y excluidas, las mujeres con patologías mamarias, que habitan en 15 corregimientos del área rural de Cartagena, seleccionadas mediante un muestreo por conglomerados, en cada uno de los corregimientos y posteriormente distribuidas por afijación proporcional, para su representatividad (Tabla 1).

Se empleó una encuesta sociodemográfica diseñada por los autores, con base en lo establecido en la Encuesta Nacional de Demografía y Salud de Colombia, para la caracterización de las mujeres encuestadas. Se aplicó, además, el instrumento propuesto por Sáenz & Sánchez (2010), previa adaptación y validación por grupo de expertos, para medir los conocimientos, las actitudes y las prácticas sobre el autoexamen de mama en mujeres. Este instrumento auto administrado consta de 36 preguntas y los conocimientos fueron medidos mediante 8 ítems, con opciones de respuesta. Las actitudes fueron evaluadas mediante 14 enunciados, en donde las mujeres marcaron con una X si estaban totalmente de acuerdo (TA) (el máximo grado de conformidad con la afirmación); de acuerdo (A) (conformidad con la afirmación, pero no a un grado máximo); indeciso (I) (no saber si está en conformidad o en inconformidad con la afirmación); desacuerdo (DS) (no estar de acuerdo en lo absoluto con la afirmación) y las prácticas fueron medidas por medio de 14 preguntas, que presentaban opciones de respuesta abierta.

Tabla 1. Distribución por corregimientos de las mujeres del área rural de Cartagena. DANE (2010).

CORREGIMIENTO	MUJERES MAYORES DE 20 AÑOS	MUESTRA POR CORREGIMIENTOS
Arroyo Grande	159	9
Arroyo De Las Canoas	26	2
Arroyo De Piedra	156	9
Punta Canoa	76	4
Pontezuela	276	16
Isla Fuerte	280	16
La Boquilla	3180	182
Islas Del Rosario	36	2
Boca chica	1194	68
Caño Del Oro	409	23
Tierra Bomba	452	26
Bayunca	2364	135
Pasacaballos	3268	187
Santana	1059	61
Barú	682	39
TOTAL	13617	779

La información recolectada fue incluida en una base de datos de Microsoft Excel y para el análisis estadístico, se utilizó el paquete estadístico SPSS 21.0. Se aplicó estadística descriptiva a los datos y se expresaron en frecuencias absolutas, frecuencias relativas, promedios y desviación estándar y medidas de tendencia central.

Criterios éticos

Este estudio, se fundamentó en la Resolución No. 008430 de 1993, del Ministerio de Salud, por medio de la cual se establecen las "Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la investigación en salud". De igual forma, se contó con el consentimiento informado por escrito del sujeto de investigación, en el cual, se explica los fines, la garantía de anonimato y la confidencialidad de los resultados obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio participaron 779 mujeres, de 20 a 49 años, pertenecientes al área rural de Cartagena, con una moda y promedio de edad de 36 y 33,6 años (DS 8,9), respectivamente. Con relación al estado civil predominó en un 54,2% la unión libre, seguida por las solteras, con un 19% y, en último lugar, las separadas, con un 17,5%. En cuanto a la ocupación, el 69,6% son amas de casa, seguidas de las trabajadoras independientes, con un 12,3%. Realizaron bachillerato completo, 34,7% de las mujeres del estudio; llama la atención que el 13,9% de ellas tienen un nivel de formación académica menor a la primaria completa y de éstas, el 4% no tienen estudios académicos, además viven en estrato socioeconómico bajo. Estos aspectos resultan relevantes, pues se ha observado mayor vulnerabilidad para el no uso de la información relacionada con el autocuidado de la salud, en el ámbito sexual y reproductivo, en aquellas mujeres que tienen una menor formación o instrucción académica y en las que no tienen parejas o relaciones estables; todo esto limita el acceso a la detección temprana de alteraciones y la búsqueda oportuna de atención profesional (Ospina *et al.* 2011) (Tabla 2).

Resultados similares, se obtuvieron en un estudio realizado en Tunja (Boyacá), donde se encontró que el promedio de edad de las participantes fue de 33,5 años, pertenecientes a los estratos socioeconómicos 1, 2 y 3 y el 25,6%, no terminó la educación básica (Ospina *et al.* 2011). Esta similitud evidencia la vulnerabilidad que presenta la población rural, por pertenecer a una zona con bajo nivel económico, educativo y con muchas necesidades básicas insatisfechas (Cruz & Caballero, 2011).

Respecto a los conocimientos sobre el autoexamen de mama, un 73% conoce cómo se hace; un 67,7%, afirma que todas las mujeres deben practicarlo y tan solo 22% de las

Tabla 2. Descripción de las variables socio demográficas de las mujeres entre 29 y 49 años, del área rural de Cartagena.

Estado Civil	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Separada	136	17,5
Soltera	148	19,0
Unión libre	422	54,2
Casada	59	7,6
Viuda	14	1,8
Ocupación	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Ama de casa	542	69,6
Desempleada	18	2,3
Estudiante	75	9,6
Empleada	48	6,2
Independiente	96	12,3
Nivel educativo	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Sin estudios	31	4,0
Primaria incompleta	77	9,9
Primaria completa	78	10,0
Bachillerato incompleto	187	24,0
Bachillerato completo	270	34,7
Técnico	89	11,4
Tecnólogo	17	2,2
Universitario	30	3,9
Estrato socioeconómico	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
1	756	97,0
2	22	2,8
3	1	0,1

encuestadas, entiende que se hace a partir de los 20 años. Un 51,1% opina que al practicar esta técnica, se asegura un buen estado de salud; para el 30,8%, el autoexamen se debe realizar una vez al mes y para el 32,2%, diariamente. El 57,1% manifestó que el beneficio de practicarlo es detectar el cáncer tempranamente y curarlo (Tabla 3). Estos resultados difieren a los registrados en mujeres de Cartagena, donde solo el 33,8% conoce la técnica, mientras que las que no la conocen o no responden, equivale al 67,2% de la muestra. El 61,2% de las mujeres de este estudio manifiestan que el momento adecuado para comenzar a realizarse el autoexamen de mama es la

adolescencia (Toro *et al.* 2014). Cuando estos resultados son analizados a la luz de la Resolución 0412 de 2000, que establece la norma técnica para la detección temprana del cáncer de seno, este procedimiento se debe efectuar a partir de los 20 años, con el fin de ayudar a la mujer a familiarizarse con la forma en la que deberían lucir la apariencia de sus senos y con la sensibilidad y la textura que deberían tener; además, debería permitirle detectar y realizar un seguimiento de cualquier clase de cambio que pudiera surgir repentinamente, en alguno de ellos (Ministerio de Salud, 2000).

Asimismo, en un estudio realizado en Lima (Perú), se reporta que el 62,5% de las mujeres desconoce la frecuencia en la que se debe realizar el autoexamen y el 78,8%, ignora su utilidad, para la detección temprana del cáncer (Sáenz & Sánchez, 2010). El conocimiento es la base informativa que da significado a las creencias y prácticas frente a una situación. Cuando la información es completa y clara el resultado obtenido debe ser el adecuado, porque se ve enmarcado en la actitud y puede ser mediado por la motivación y las habilidades personales; se espera que un mejor conocimiento sobre el autoexamen generará entre las mujeres una práctica adecuada y regular del mismo (Ochoa *et al.* 2015).

Un aspecto importante de este estudio es que la fuente que ofrece mayor información sobre el autoexamen de mama a las mujeres es el centro de salud. Esto es similar a lo encontrado en un estudio realizado en Lima (Perú), donde el 31,5% de las encuestadas manifiestan que la fuente más importante es el profesional de la salud; sin embargo, los resultados difieren de los encontrados por Bell & Oduardo (2015), en mujeres de una comunidad venezolana, donde el 86% de la población recibía información acerca del autoexamen de mama mediante la promoción gráfica o familiares, los amigos y un grupo menor, por el personal de salud. Esto se convierte en una oportunidad para los profesionales de la salud, en especial, el profesional de enfermería, quien trabaja en el área rural, encargado de coordinar los servicios de salud que se brindan en los diferentes corregimientos; por tanto, juega un papel importante como educador, brindando información a las mujeres sobre este examen, de forma clara y de buena calidad, para garantizar un conocimiento completo, que se refleje en una mejor práctica de este procedimiento (Bell & Oduardo, 2015).

Las mujeres de 30 a 49 años de edad fueron quienes presentaron un mayor porcentaje de conocimiento sobre la técnica de autoexamen de mama (Tabla 4), resultados similares a los registrados en un estudio realizado en Cuba, donde las mujeres de 40 años o más, fueron quienes refirieron conocer esta técnica (Martínez *et al.* 2012); también son similares a los obtenidos en Brasil, donde las mujeres mayores de 40 años mostraron mejores conocimientos acerca del autoexamen de mama (Silva *et al.* 2013). Lo anterior, se debe a que

a medida que avanza el ciclo vital individual aumentan las regularidades en los estilos de vida y así quedó evidenciado en un estudio realizado en Chile, donde las personas con promedios de edad mayor presentaban más responsabilidad con su salud (Vidal *et al.* 2014).

Tabla 3. Conocimientos de las mujeres entre 20 y 49 años, del área rural de Cartagena.

¿Conoce cómo se realiza el autoexamen de mama?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Si	569	73,0
No	210	27,0
¿Quiénes se deben realizar el auto examen de mama?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Mujeres con vida sexual activa	35	4,5
No sabe	46	5,9
Todas las mujeres a partir de los 20 años	144	22,0
Todas las mujeres	527	67,7
¿Para qué se realiza el autoexamen de mama?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Para buscar alguna enfermedad	113	14,5
Para detectar cáncer	266	34,1
Para estar segura de estar sanas	398	51,1
¿En qué momento se debe realizar el autoexamen de mama?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Una vez al año	140	18,0
Una vez al mes	240	30,8
4 a 10 días desde el primer día de la menstruación	39	5,0
8 días después de la menstruación	94	12,1
Diario	251	32,2
No sabe	12	1,5
Cualquier día	1	0,1
¿De dónde obtuvo información para realizar el autoexamen?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Centro de salud	379	48,6
Familiares	44	5,6
Libros y folletos	24	3,1
Televisión	111	14,2
Radio	7	0,9
Internet	3	0,4
Ninguno	45	5,8
Todos	166	20,2

Con relación a las actitudes de las encuestadas hacia el autoexamen de mama, el 77,8% están totalmente de acuerdo con las bondades o beneficios de realizarse el autoexamen; 68,3% consideran que es importante realizarlo; el 63,7% lo practican para protegerse de enfermedades; 64,3% tiene tiempo para realizarse el autoexamen y no les da pereza y al 55,7%, no se le olvida practicarlo (Tabla 5). Las actitudes positivas encontradas en este estudio son similares a las obtenidas por (Ochoa *et al.* 2015), en su estudio adelantado en mujeres del área rural de Cuenca, donde más del 90% de ellas estuvieron de acuerdo con la realización del autoexamen de mama y consideran que es de fácil realización. Esto difiere con los resultados encontrados por Sáenz & Sánchez (2010), en una investigación realizada en Lima (Perú), donde menos de la mitad de las encuestadas estaban totalmente de acuerdo con los beneficios de realizarse el autoexamen de mama y se sentían indecisas sobre si practicarse el autoexamen las protege de enfermedades. También afirman que no se lo realizan por falta de tiempo, se les olvida y no creen que sea importante llevar a cabo esta técnica.

Tener una actitud positiva, se convierte en un mediador para tener una buena práctica en este procedimiento, porque favorece que la mujer acuda tempranamente al sistema de salud cuando detecte alguna alteración, pueda acceder a un diagnóstico más oportuno y obtenga los cuidados y el tratamiento que necesita (Ochoa *et al.* 2015).

No es suficiente el conocimiento y la buena actitud que poseen las mujeres hacia el autoexamen de mama para una

buena práctica, pues manifiestan conocer la técnica y tener una actitud positiva, pero solo el 49% se ha realizado anteriormente el autoexamen y, de este porcentaje, solo el 54,2% lo realiza cada mes; el 34,7%, una vez al mes después de la menstruación y solo el 5,3%, lo practica del cuarto al décimo día desde el primer día de la menstruación (Tabla 6). Estos resultados difieren con lo consignado en la Norma técnica para la detección temprana del cáncer de seno en Colombia, donde se establece que este procedimiento se debe realizar mensualmente, del 4 a 10 día desde del primer día de la menstruación y si la mujer ya no menstrúa se debe elegir un día al mes y realizarlo, pero son similares a los resultados encontrados por Silva *et al.* (2013), donde, a pesar que el 86,4% de las mujeres manifestaron conocer la técnica y practicarla, no la efectúan con la periodicidad adecuada.

Cuando la práctica de autoexamen de mama se realiza en otros momentos o con una frecuencia distinta, se corre el riesgo de que la mujer se examine sus senos en un momento del ciclo menstrual, en el cual, las mamas se encuentren inflamadas y dolorosas, llevándolas a encontrar alteraciones propias de las acciones hormonales y que no se derivan de alguna afección (Fernández *et al.* 2012).

En cuanto a la técnica para realizar del autoexamen, el 82,7%, se observa y 55,8%, se palpa; estos resultados son similares a los obtenidos por Cervantes *et al.* (2011), quienes hallaron que el 25% de las encuestadas se miran frente al espejo y se palpan; este aspecto es muy importante, porque el autoexamen no es solo palpase los senos, en forma

Tabla 4. Distribución de conocimientos sobre el autoexamen de mama, según grupo étnico.

¿Conoce cómo se realiza el autoexamen de mama?								
Edad	NO				SI			
20 a 29 años	108		38,3%		174		61,7%	
30 a 39 años	60		20,2%		237		79,8%	
40 a 49 años	42		21,0%		158		79,0%	
¿Quiénes se deben realizar el auto examen de mama?								
Edad	Mujeres con vida sexual activa		Todas la mujeres		Toda las mujeres a partir de los 20 años		No sabe	
20 a 29 años	20	7,1%	178	63,1%	61	21,6%	23	8,2%
30 a 39 años	9	3,0%	206	69,4%	68	22,9%	14	4,7%
40 a 49 años	6	3,0%	143	71,5%	42	21,0%	9	4,5%
¿Para qué se realiza el autoexamen de mama?								
Edad	Buscar alguna enfermedad		Detectar cáncer		Estar segura de estar sanas		No sabe	
20 a 29 años	40	14,2%	90	31,9%	151	53,5%	1	0,4%
30 a 39 años	42	14,1%	97	32,7%	157	52,9%	1	0,3%
40 a 49 años	31	15,5%	79	39,5%	90	45,0%	0	0,0%

Tabla 5. Actitudes de las mujeres entre 20 y 49 años, del área rural de Cartagena.

Proposiciones	TA	%	A	%	I	%	DS	%
Es bueno realizarlo	606	77,8	170	21,8	2	0,3	1	0,1
Yo me realizo el autoexamen de mama para protegerme de enfermedades	496	63,7	200	25,7	11	1,4	72	9,2
El autoexamen de mama me da muchos beneficios	531	68,2	202	25,9	13	1,7	33	4,2
El personal de salud influye en la realización del examen	452	58,0	256	32,9	19	2,4	52	6,7
Me preocupa la aparición de bultos u otros	531	68,2	202	25,9	13	1,7	33	4,2
Es un pecado realizarlo	30	3,9	20	2,6	26	3,3	703	90,2
La religión influye en la decisión de realizar el examen	38	4,9	43	5,5	22	2,8	676	86,8
El examen me ayuda a detectar enfermedades malignas y benignas	367	47,1	265	34,0	50	6,4	97	12,5
No tengo tiempo para realizarlo	37	4,7	145	18,6	96	12,3	501	64,3
Me da pereza	37	4,7	145	18,6	96	12,3	501	64,3
Se me olvida	41	5,3	198	25,4	106	13,6	434	55,7
No creo que sea importante	27	3,5	66	8,5	82	10,5	604	77,5
El personal de salud no me ha explicado sobre esto	59	7,6	98	12,6	90	11,6	532	68,3

Totalmente de acuerdo (TA); de acuerdo (A); indeciso (I); desacuerdo (DS).

sistemática en busca de bultos, sino que se debe hacer una inspección frente a un espejo, buscando deformidades, retracción o anomalías del pezón y cambios de coloración en la piel (Yépez *et al.* 2012).

Respecto a la forma de realizar el procedimiento, el 83,8%, se palpa con la yema de los dedos; 87,7%, se autoexaminan un seno por vez y 80,6%, incluye el pezón, cuando se lo practica. Solo tres mujeres tienen una práctica adecuada del autoexamen, pues cumplen con la técnica adecuadamente, además de realizarlo con periodicidad mensual y en los días del ciclo menstrual recomendados. Estos datos son superiores a los obtenidos en Cartagena, donde reportan que el 42% autoexaminan un seno a la vez; el 43,3%, se palpa con la yema de los dedos y el 31,8%, incluye el pezón en el momento que lo realizan (Toro *et al.* 2014). Una buena práctica cumple con las variables requeridas, para que el autoexamen de mama sea completo y útil, permitiendo a la mujer conocer el aspecto normal de sus senos y detectar más fácilmente cualquier síntoma o signo de alarma, en el caso de que se presente algún cambio y que pueda ser reportado o comentado a su médico tempranamente (Suasnabar & Ramírez, 2011).

En general, aunque las mujeres reportan tener conocimientos sobre el autoexamen de mama y una buena actitud frente a la importancia de este método en el cuidado de la salud, no son completos y suficientes para impactar positivamente en la práctica, mostrándose un conocimiento ambiguo sobre la técnica y generándose una barrera para la realización del autoexamen, peor aún, una mala práctica, que genera resultados erróneos o confusos para la mujer (Ochoa *et al.* 2015).

Los resultados encontrados permiten concluir que los conocimientos que tienen las mujeres del área rural de Cartagena sobre el autoexamen de mama son bajos, presentan una actitud favorable hacia este procedimiento, pero la práctica es inadecuada. La mayoría de las mujeres dice conocer cómo se realiza el autoexamen de mama, pero desconocen la frecuencia y el tiempo del ciclo menstrual, en el cual, se debe realizar, lo que puede llevar a que se encuentren alteraciones derivadas de las acciones hormonales o que se ignoren problemas potencialmente perjudiciales para la mujer.

Se recomienda para próximas investigaciones indagar en las entrevistas sobre factores de riesgo, antecedentes familiares

Tabla 6. Práctica de las mujeres entre 20 y 49 años, del área rural de Cartagena.

¿Se ha realizado anteriormente el autoexamen de mama?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
SI	382	49,0
¿Se realiza el autoexamen cada mes?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
SI	208	54,2
¿En qué días se realiza el autoexamen?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
1 vez al año	8	2,1
4 a 10 desde el primer día de la menstruación.	20	5,3
Diario	141	37,1
¿Cada cuánto se realiza el autoexamen?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Anual	21	5,5
Diario	124	32,6
Mensual	168	44,2
¿Qué técnica utiliza?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Observación	8	2,1
Palpación	58	15,3
Ambas	316	82,7
¿En qué posición observa sus senos?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Acostada	147	38,5
De pie	213	55,8
Sentada	22	5,8
¿En qué posición palpa sus senos?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Acostada	129	33,8
De pie	217	56,8
Sentada	27	7,1
Acostada y de pie	9	2,4
¿Con que parte de la mano palpa sus senos?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Los dedos	39	10,2
Toda la mano	23	6,0
Yema de los dedos	320	83,8
¿Cómo examina los senos?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Ambos la vez	47	12,3
Uno la vez	335	87,7
¿Cuándo examina sus senos, incluye el examen del pezón?	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
NO	74	19,4
SI	308	80,6

y otro tipo de información, que permita enriquecer el análisis estadístico de los resultados.

Conflicto de intereses: Este manuscrito fue elaborado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos no tener conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARCE, C.; BARGALLÓ, E.; VILLASEÑOR, Y.; GAMBOA, C.; LARA, F.; PÉREZ, V.; VILLARREAL, P. 2011. Onco guía cáncer de mama. Rev. Inst. Nal. Cancerol. Méx. 6:77-86.
2. BELL, H.; ODUARDO, O. 2015. Autoexamen de mama en mujeres de la Comunidad «19 de Abril» del municipio venezolano de Guanare. Rev. MEDISAN. 19 (2):186-191.
3. CERVANTES, A.; DÍAZ, L.; SUDEA, M. 2011. Conocimientos y prácticas del autoexamen de mama como medida de detección temprana para el cáncer de mama en mujeres que asisten al CAP de la esperanza. Cartagena de Indias durante el primer trimestre del año 2011. Colombia. Disponible desde Internet en: <http://siacurn.curnvirtual.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/571/CONOCIMIENTO%20Y%20PR%20CTICAS%20DEL%20AUTOEXAMEN%20DE%20MAMA.pdf?sequence=1> (con acceso 08/08/2015).
4. CRUZ, R.; CABALLERO, D. 2011. Problemas sociales relacionados con el estado de salud periodontal de la población infantil urbano-marginal venezolana. Rev. Méd. Electrón. 33(5):656-664.
5. DADIS. 2013. Análisis de la mortalidad por neoplasias en el distrito de Cartagena. Disponible desde Internet en: http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/vigilancia/informe_de_mortalidad_neoplasias_2013.pdf (con acceso 9/09/15).
6. DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA DANE. 2010. Estimaciones de población 1985-2005 y proyecciones de población 2005-2020 nacional y departamental desagregado por área, sexo y grupos quinquenales de edad. Disponible desde internet en: <http://www.dane.gov.co/index.php/poblacion-y-demografia/proyecciones-de-poblacion> (con acceso 05/08/2015).
7. ENCUESTA NACIONAL DE DEMOGRAFÍA Y SALUD –ENDS-. 2010. Detección temprana de Cáncer de mama. Disponible desde Internet en <https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR246/FR246.pdf> (con acceso 25/04/13).
8. FERLAY, J.; STELIAROVA-FOUCHER, E.; LORTET-TIEULENT, J.; ROSSO, S.; COEBERGH, J.W.; COMBER, H.; FORMAN, D.; BRAY, F. 2013. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. Eur. J. Cancer. 49(6):1374-1403.
9. FERNÁNDEZ, L.; SÁNCHEZ, Y.; PIÑA, D.; DE LA PAZ, K. 2012. Modificación de conocimientos sobre el autoexamen de mamas en mujeres de la Policlínica Universitaria “René Vallejo Ortiz”. Rev. MEDISAN. 16 (11):17-24.
10. GUTIÉRREZ DELGADILLO, A.; GUTIÉRREZ FLORES, F.R.; GUTIÉRREZ CHOQUE, J.C.; GUZMÁN DELGADILLO, F.; SANTANDER LÓPEZ, A. 2012. Conocimiento, actitud y práctica del autoexamen mamario en mujeres estudiantes de medicina de la Universidad Mayor de San Simón Gestión 2011. Rev. Cient. Cienc. Méd. 15(2):22-25.
11. MARTÍNEZ, L.; CRUZ, L.; LÓPEZ, M.; CRUZ, C.; MUIÑO, M. 2012. Valoración del conocimiento del autoexamen de mama en mujeres en edad reproductiva del Policlínico Bernardo Posse. Rev Habanera Cienc. Médicas. 11(3):361-368.
12. MENDOZA, B. 2013. Cultura de prevención sobre autoexamen de mama y estudio mamográfico en pacientes atendidas en el servicio de mamografía del hospital nacional Edgardo Rebagliati Martins – EsSalud. Disponible desde Internet en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3475> (con acceso 6/08/15).
13. MINISTERIO DE SALUD. 2000. Norma técnica para la detección temprana del cáncer de seno. Disponible en Internet en: http://odm.colnodo.apc.org/apc-aa-files/5774d034c9be96efe0bff91311203bc4/Norma_tecnica_para_la_deteccion_temprana_del_cancer_de_seno.pdf (con acceso 10/08/15).
14. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. 2014. Cáncer de mama, una enfermedad en ascenso en Colombia. Disponible desde Internet en: <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/-Cancer-de-mama,-una-enfermedad-en-ascenso-en-Colombia.aspx> (con acceso 01/12/15).

15. OCHOA, F.; VEGA, B.; ARÉVALO, P. 2015. Conocimientos, actitudes y prácticas del autoexamen de mamas en mujeres del área rural. Cuenca, 2014. Disponible desde Internet en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/21207> (con acceso 05/08/15).
16. OMS. 2009. Cáncer de mama: prevención y control. Disponible desde Internet en: <http://www.who.int/topics/cancer/breastcancer/es/>(con acceso 06/08/15).
17. OSPINA, J.; MANRIQUE, F.; VEGA, N.; MORALES, A.; ARIZA, R. 2011. La no realización del autoexamen de mama en Tunja, Colombia. *Rev. Enferm Global* 10(3):30-40.
18. PARDO, S. 2011. Modificación de conocimientos sobre cáncer de mama en trabajadoras con factores de riesgo de la enfermedad. *Rev.MEDISAN*.15 (1):1-7.
19. SÁENZ, A.; SÁNCHEZ, A. 2010. Conocimientos, actitudes y prácticas del autoexamen mama en mujeres de 15 – 45 años que acuden a los consultorios de Planificación Familiar y Papanicolaou del Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión, periodo agosto – diciembre del 2010. Disponible desde Internet en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3012> (con acceso 05/03/13).
20. SILVA, N.; ARRÚDA, D.; REGO, S. 2013. Conocimiento y práctica del autoexamen de mamas por usuarias de la Unidad de Salud de la Familia. *Enferm. Glob.* 12(29):463-476.
21. SUASNABAR, S.; RAMÍREZ, E. 2011. Relación entre el nivel de conocimientos y las prácticas sobre la prevención del cáncer de mama en las mujeres que acuden al C.S. Villa San Luis: San Juan de Miraflores. Disponible desde Internet en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/1309/Suasnabar_rs.pdf?sequence=1 (con acceso 02/12/15).
22. TORO, M.; PEINADO, L.; DÍAZ, A. 2014. Conocimientos y prácticas sobre el auto examen mamario en mujeres de Cartagena de Indias (Bol. –Col). *Rev. Cienc. Innov. Salud.* 2(1):27-32.
23. VIDAL, D.; CHAMBLAS, I.; ZAVALA, M.; MÜLLER, R.; RODRÍGUEZ, M.; CHÁVEZ, A. 2014. Determinantes sociales en salud y estilos de vida en población adulta de Concepción. *Rev. Cienc. Enferm.* 20(1):61-74.
24. YÉPEZ, D.; DE LA ROSA, A.; GUERRERO, C.; GÓMEZ, M. 2012. Autoexploración mamaria: conocimiento y perspectiva en mujeres. *Rev. Enferm. Inst. Mex. Seguro Soc.* 20 (2):79-84.

Recibido: Diciembre 24 de 2015

Aceptado: Abril 18 de 2016

Cómo citar:

Castillo, I.; Bohórquez, C.; Palomino, J.; Elles, L.; Montero, L. 2016. Conocimientos, actitudes y prácticas sobre el autoexamen de mama en mujeres del área rural de Cartagena. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1):5-14.



IICTA 2016

III Congreso Internacional de Investigación e Innovación en Ciencia y Tecnología de Alimentos

II Seminario internacional de empaques biodegradables

Innovación, Desarrollo y Emprendimiento para el Sector Agroalimentario

El IICTA es un evento científico que nació en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos-ICTA de la Universidad Nacional de Colombia, en el 2012. En su tercera versión, el IICTA 2016 será un espacio de integración enfocado en la "Innovación, Desarrollo y Emprendimiento para el Sector Agroalimentario". En esta oportunidad, se realizará también el II SEMINARIO INTERNACIONAL DE EMPAQUES BIODEGRADABLES, como resultado de la investigación, obtenido en la Universidad del Cauca, en la elaboración de empaques biodegradables como alternativas frente al uso de plásticos sintéticos.

Caracterizado por ser un evento que promueve la amplia participación de resultados de investigación y la integración de instituciones guberna-

mentales, privadas, gremios, empresarios y académicos vinculados al sector agroindustrial, la Facultad de Ciencias Agrarias y el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, tienen el gusto de invitarlos a participar y enviar sus resultados de investigación por medio de artículos cortos a la página www.iicta.com.co.

El IICTA 2016 publicará los trabajos aceptados para presentación oral y poster en la modalidad de artículo corto. Los artículos recibidos serán evaluados y aquellos que cumplan con los requerimientos de calidad se publicarán en un Suplemento Especial en la Revista Agronomía Colombiana de la Facultad de Ciencias Agrarias, sede Bogotá.

NOV 2 - 4
DE 2016

BOGOTÁ - COLOMBIA
CRA 30 # 52 A 77
CENTRO EMPRESARIAL Y RECREATIVO "EL CUBO"

iicta2016_bog@unal.edu.co

www.iicta.com.co

(57)(1) 316500 ext. 19088 / 19089



UNA COLABORACIÓN ACADÉMICA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES U.D.C.A.

MORFOLOGÍA DE FRUTOS E SEMENTES DE PORTA-ENXERTOS DE CITROS CULTIVADOS EM AMBIENTE PROTEGIDO

MORPHOLOGY OF FRUITS AND SEEDS OF CITRUS ROOTSTOCKS GROWN IN GREENHOUSE CONDITION

Andrés Iván Prato Sarmiento¹, Julio Cesar Giuliani², Paulo Vítor Dutra de Souza³

¹ Eng. Agrônomo, M.Sc. Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía. Universidad de Pamplona, km 1 Vía Bucaramanga, Campus Universitario, Pamplona, Norte de Santander, Colombia, e-mail: aipratos@unal.edu.co; ² Eng. Agrônomo, M.Sc., doutorando, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 7712, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, e-mail: juliocgiuliani@yahoo.com.br; ³ Eng. Agrônomo, M.Sc., Ph.D, Professor titular – Pesquisador, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 7712, Rio Grande do Sul Porto Alegre, Brasil, e-mail: pvdsouza@ufrgs.br

Rev. U.D.C.A Acr. & Div. Cient. 19(1): 17-24, Enero-Junio, 2016

RESUMO

O ambiente de cultivo pode influenciar a morfologia dos frutos, bem como tempo de germinação e viabilidade das sementes para a obtenção dos porta-enxertos cítricos. Objetivou-se determinar as características morfológicas dos frutos e o comportamento germinativo de sementes de sete cultivares porta-enxertos de citros cultivados em ambiente protegido. Foram avaliados os porta-enxertos citrangeiros 'FEPAGRO C13', 'FEPAGRO C37' e 'Troyer' (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf. x *Citrus sinensis* [L.] Osb.), a tangerineira 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.), o limoeiro 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq.), o trifoliata (*P. trifoliata*) e o citrumeleiro 'Swingle' (*P. trifoliata* x *Citrus paradisi*). Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições de treze frutos por cultivar. Mediu-se o diâmetro e comprimento e a massa por fruto. Foi calculado o número de frutos e de sementes viáveis por caixa de colheita (25kg). As sementes viáveis destes frutos foram colocadas em câmara de germinação e crescimento tipo B.O.D. O citrumeleiro 'Swingle' produziu frutos maiores e com maior massa, a tangerineira 'Sunki' produziu os menores, e as demais cultivares produziram frutos com padrão intermediário às anteriores. São necessários 87,7 frutos de citrumeleiro 'Swingle' para preencher uma caixa de colheita e mais de 1.051,7 frutos de tangerineira 'Sunki' para o mesmo volume. As sementes de tangerineira 'Sunki' e do limoeiro 'Volkameriano' apresentaram maior velocidade de germinação em relação aos outros porta-enxertos, com 75% de germinação aos 30 dias após a semeadura. Matrizes de

porta-enxertos de citros cultivados em ambiente protegido produzem sementes viáveis e poder germinativo próximo a 80%.

Palavras chave: Sistema de propagação, germinação, citricultura, casa de vegetação.

SUMMARY

The environment the crop can influence the morphology of the fruit, as well as the time of germination and the viability of the seeds, for obtaining the citrus rootstocks. The objective of this work was to determine the morphological characteristics of the fruits, and the germination performance of the seeds of seven cultivars of citrus rootstocks cultivated in a greenhouse. The rootstocks evaluated were: citranger 'FEPAGRO C13', 'FEPAGRO C37' and 'Troyer' (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf. x *Citrus sinensis* [L.] Osb.), 'Sunki' mandarin (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.), lemon 'Volkamer' (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq.), trifoliata (*P. trifoliata*) and citrumelo 'Swingle' (*P. trifoliata* x *Citrus paradisi*). A completely randomized design was used, with tree repetitions of 13 fruits per cultivar. Fruit diameter, length and mass were measured. Number of viable seeds and fruits by harvest box (25kg) was calculated. The viable seeds of these fruits were put in a germination and a growth B.O.D type chamber. The citrumelo 'Swingle' produced larger and heavier fruit, while the tangerine 'Sunki' produced the smallest fruit, and the other cultivars produced fruits with a pattern between the two. It takes 87,7 of citrumelo fruit 'Swingle' to fill a harvest box and more than 1.051,7 of

tangerine fruit 'Sunki' to fill the same volume. The mandarin seeds 'Sunki' and lemon seeds 'Volkamer' showed a higher germination speed compared to other rootstocks, with a 75% of germination after 30 days of the sowing. Mother plants of citrus rootstocks grown in greenhouses produce viable seeds with a high germination power, close to 80%.

Key words: Propagation system, germination, citriculture, greenhouse.

INTRODUÇÃO

Na produção de mudas cítricas de qualidade, há que se atentar para aspectos fundamentais ligados à sua garantia genética, aos métodos de propagação, aos sistemas de produção e à legislação vigente (Koller, 2009). Neste processo é necessário que os porta-enxertos apresentem condições ótimas em quanto a seu desenvolvimento vegetativo e formação do sistema radicular. Com tudo, os porta-enxertos podem afetar mais de 20 características hortícolas da cultivar copa (Schäfer *et al.* 2001).

A diversificação varietal dos porta-enxertos constitui uma premissa à citricultura brasileira, visando reduzir a susceptibilidade ao ataque de pragas e ocorrência de estresses abióticos. Uma ampliação da base genética das cultivares usadas para porta-enxertos contribuirá para aumentar os rendimentos e a sustentabilidade do setor. No entanto, não é o que tem ocorrido historicamente na citricultura brasileira, caracterizada pelo uso preponderante de uma cultivar, por exemplo, o limoeiro 'Cravo' (*Citrus limonia* Osb.) no estado de São Paulo (Pompeu Junior & Blumer, 2011). No final do século passado mais de 90% da citricultura gaúcha era enxertada sobre o trifoliata (*Poncirus trifoliata* [L.] Raf.) (Schäfer & Dornelles, 2000).

A grande aceitação do trifoliata e seus híbridos no sul do Brasil deve-se ao fato de apresentar tolerância ao frio, aos solos rasos, às geadas e à gomose (*Phytophthora* spp.), além de induzir a produção de frutos de ótima qualidade das copas (Souza *et al.* 2010). Tem-se testado outros porta-enxertos com intuito de verificar quais características eles podem conferir para a cultivar - copa. Entre eles estão os citrangeiros 'FEPAGRO C13' e 'FEPAGRO C37' (*P. trifoliata* x *Citrus sinensis* [L.] Osb.), desenvolvidos pela Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Taquari, RS); o citrumeleiro 'Swingle' (*P. trifoliata* x *Citrus paradisi* Macfad. cv. Duncan); a tangerineira 'Sunki' (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.) e o limoeiro 'Cravo' (Souza *et al.* 2010).

Existe a preocupação de produzir-se borbulhas em ambiente protegido, visando um programa de certificação, pois permite melhoria na qualidade genética e sanitária das borbulhas utilizadas na formação das mudas (Carvalho *et*

al. 2000). Esta preocupação é cabível, também, com as plantas matrizes produtoras de sementes de porta-enxertos, principalmente sob o aspecto sanitário. Porém, há dúvidas quanto à quantidade e à viabilidade de sementes produzidas em frutos de plantas cítricas cultivadas em ambiente protegido, visto que não há insetos polinizadores no interior das casas de vegetação. Os porta-enxertos e, em geral, as plantas cítricas mostram-se preferencialmente autógamas ou alógamas segundo a cultivar (Nascimento *et al.* 2011; Pok *et al.* 2015).

Dentre as fases de desenvolvimento da muda cítrica, a produção do porta-enxerto é responsável por uma maior demanda de tempo. Um dos fatores responsáveis por essa demora é o tempo de germinação (Siqueira *et al.* 2002), em consequência, pode existir desuniformidade no desenvolvimento entre as plântulas (Souza *et al.* 2002). O conhecimento desta fase, que é variável por cultivar, é importante para a definição de todo o período necessário para produzir a muda.

A citricultura brasileira exige anualmente uma enorme quantidade de mudas, sendo sua planificação um fator determinante para o sucesso do setor. Por tanto, a estimação da quantidade necessária do número de frutos que devem ser colhidas para obtenção de certa quantidade de sementes, facilita a produção e beneficia aos viveiristas e produtores (Zucoloto *et al.* 2011).

Atualmente, existe uma demanda crescente por mudas cítricas de cultivares de mesa para o Rio Grande do Sul. A legislação vigente exige que as mudas sejam produzidas em ambiente protegido, aumentando a importância de pesquisas com porta-enxertos, por haver carência de informações para esta tecnologia neste Estado. Este trabalho teve como objetivos estudar a influência do ambiente protegido sobre as características morfológicas dos frutos e a viabilidade das sementes produzidas por sete cultivares de porta-enxertos de citros.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas matrizes das quais foram retirados os frutos encontram-se em casa de vegetação da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, município Eldorado do Sul – RS (30°29'S, 51°06'O). O clima da região, baseado na classificação de Köppen, é do tipo Cfa, ou seja, subtropical úmido. Atualmente as plantas enxertadas sobre trifoliata têm dez anos de idade, sendo mantidas em vasos (100L), contendo substrato à base de solo, resíduo de casca de acácia e casca de arroz carbonizada (2:2:1 - v:v:v). O sistema de irrigação é por gotejamento, sendo irrigadas diariamente e fertilizadas quinzenalmente mediante fertirrigação. O adubo consiste em 5g de Kristalon® (6%

nitrogênio total, sendo 4,5% N- nítrico e 1,5% N-amoniaco; 12% P, 36% K; 8% Mg; 8% S; 0,07% Fe; 0,025% B; 0,01% Cu; 0,04% Mn; 0,004% Mb; e 0,025% de Zn) diluídos em 1,5L e distribuídos 50mL por vaso.

Inicialmente realizou-se a avaliação morfológica dos frutos produzidos pelas seguintes cultivares de porta-enxertos de citros: os citrangeiros 'FEPAGRO C13', 'FEPAGRO C37' e 'Troyer' (*P. trifoliata* x *C. sinensis*), a tangerineira 'Sunki' (*C. sunki*), o limoeiro 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq.), o trifoliata (*P. trifoliata*) e o citrumeleiro 'Swingle' (*P. trifoliata* x *C. paradisi*). Foram coletados aleatoriamente, 39 frutos maduros e sadios por cultivar, a partir de três plantas em cada uma, os quais foram levados ao laboratório, sendo realizadas as seguintes avaliações: diâmetro (mm) e comprimento (mm) dos frutos, com auxílio de paquímetro, e a massa por fruto (g) por meio de balança analítica. Também foi calculado o número de frutos por caixa de colheita (NFC), levando-se em consideração as dimensões de 55x35x15cm (comprimento x largura x altura, respectivamente) (Zucoloto *et al.* 2011):

$$NFC = \frac{55 \text{ (cm)}}{\text{diâmetro}} \times \frac{35 \text{ cm}}{\text{diâmetro}} \times \frac{15 \text{ cm}}{\text{comprimento}}$$

médio dos frutos (cm) médio dos frutos (cm) médio dos frutos (cm)

A seguir, as sementes foram extraídas e lavadas com água corrente para a retirada da mucilagem, segundo metodologia descrita por Koller (1994). A secagem foi feita à sombra. Após sua extração, contou-se o número de sementes viáveis e inviáveis por fruto. Foram consideradas sementes viáveis aquelas cheias, com presença de material de reserva e embrião; e como inviáveis, as vazias ou não desenvolvidas, sem embrião no seu interior ou com embrião morto. As sementes viáveis foram tratadas termicamente (52°C, 10min.) e com fungicida Captam® 500PM (pó solúvel, i.a: N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida, 500g de i.a/kg), permanecendo em geladeira (4 a 6°C) dentro de sacos de polietileno por 18 dias até a semeadura. As sementes viáveis foram distribuídas, sem a retirada do tegumento, em caixas tipo Gerbox® com dimensões 11x3,5cm - largura x profundidade, forradas com papel germitest umedecido até sua máxima absorção e colocadas em câmara de crescimento e germinação tipo B.O.D ('Biological Oxygen Demand' - modelo FOC 225E). Permaneceram a 24°C sem a utilização de luz e irrigadas com água destilada regularmente.

Para as avaliações de diâmetro dos frutos, número de fruto por caixa e número de sementes viáveis por fruto empregou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com sete tratamentos (cultivares de porta-enxertos) e três repetições de 13 frutos por cultivar. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram

comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, com o programa estatístico SAS 9.3®.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado a traves da fórmula proposta por Maguire (1962): $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$ (G_1, G_2, G_n = número de plântulas germinadas na primeira, segunda, até a última contagem aos 60 dias após a semeadura, eliminando-se, periodicamente, aquelas decompostas ou contaminadas e N_1, N_2, N_n = número de semanas desde a primeira, segunda, até a última contagem).

Para a execução desta etapa, empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos (sete cultivar porta-enxerto) com quatro repetições, sendo cada parcela representada por um Gerbox® contendo 25 sementes. Finalmente, com os dados periódicos de germinação foram elaboradas curvas de germinação acumulada, com ajustes por meio de regressões variadas (Santana & Renal, 2000). Esse ajuste foi efetuado pelo programa ASSISTAT 7.6®, seguindo como critérios de seleção de modelo o coeficiente de determinação e a facilidade de interpretação dos dados biológicos pelas equações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características morfológicas dos frutos foram diferentes significativamente entre os porta-enxertos, para todas as variáveis avaliadas (Tabela 1). Os frutos do citrumeleiro 'Swingle' apresentaram maior comprimento e diâmetro (72,1 mm e 67,7 mm, respectivamente), além de ter mais massa (155,1 g), comparativamente aos da tangerineira 'Sunki' (Tabela 1). Os citrangeiros 'FEPAGRO C13 e C37', além do citrangeiro 'Troyer' e trifoliata apresentaram frutos de tamanho intermediários.

O citrumeleiro 'Swingle' teve o maior número total de sementes por fruto, (51,0), porém com alta porcentagem de sementes inviáveis (47,8%) (Figura 1). O menor número de sementes por fruto foi encontrado no FEPAGRO 'C37' (7,4 sementes por fruto), com aproximadamente metade delas inviáveis. Contrariamente, o trifoliata apresentou a maioria de suas sementes viáveis (97,0%) e alta quantidade por fruto (37,7 sementes) (Figura 1). As cultivares FEPAGRO 'C13', citrangeiro 'Troyer', limoeiro 'Volkameriano' e tangerineira 'Sunki', apresentaram, em média, 23,3; 18,1; 18,3; e 6,9; sementes viáveis por fruto, respectivamente (Figura 1).

Guerra *et al.* (2012) encontraram números de sementes viáveis semelhantes ao do presente estudo nas cultivares cultivadas em campo citrangeiro 'Troyer', 'FEPAGRO C13', trifoliata e citrumeleiro 'Swingle' (16,6; 19,2; 38,2 e 23,3, respectivamente), porém superior em relação ao citrangeiro 'FEPAGRO C37' (21,2). No caso da tangerineira 'Sunki',

Tabela 1. Diâmetro (DF), comprimento (CF) e massa média por fruto (MF), de sete porta-enxertos de citros cultivados em ambiente protegido.

Porta-enxerto	DF (mm)	CF (mm)	MF (g)
Citrangreiro 'Troyer'	45,0 de*	45,7 d	49,9 d
Citrumelero 'Swingle'	67,7 a	72,1 a	155,1 a
Citrangreiro 'FEPAGRO C 37'	50,2 cd	46,6 c	64,6 c
Citrangreiro 'FEPAGRO C 13'	48,1 c	47,7 c	56,6 cd
Limoeiro 'Volkameriano'	55,2 b	63,3 b	97,9 b
'Trifoliata'	44,2 e	43,5 d	47,2 d
Tangerineira 'Sunki'	32,7 f	25,8 e	16,1 e
cv %	22,0	30,1	64,4

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

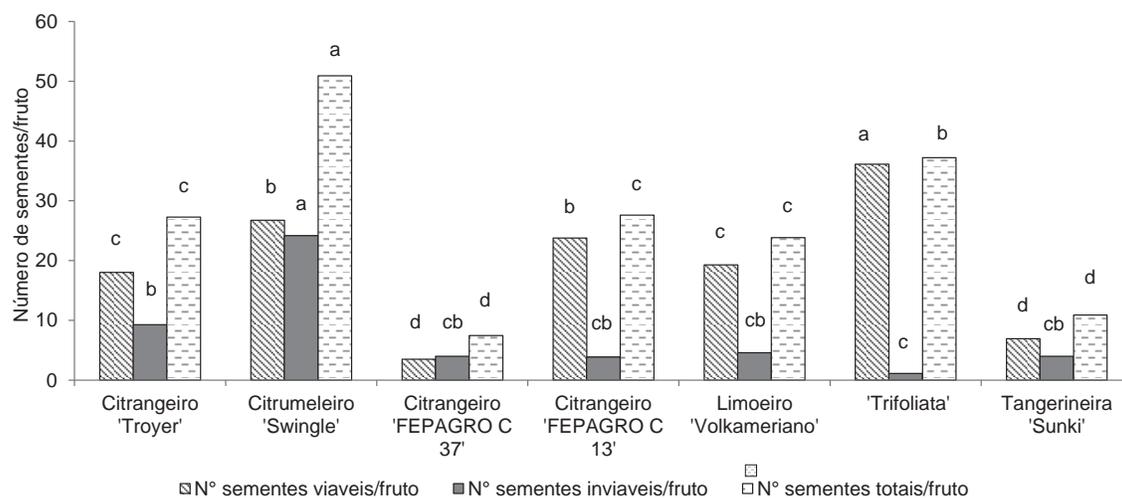


Figura 1. Número de sementes viáveis, inviáveis e total de sementes por fruto de sete porta-enxertos de citros cultivados em ambiente protegido. Médias seguidas pela mesma letra para cada parâmetro não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

normalmente, esta cultivar tem valores reduzidos, entre duas a três sementes viáveis por fruto (Carvalho *et al.* 1997; Santos *et al.* 2015). Carvalho *et al.* (1997) relataram que devido ao alto grau de auto-incompatibilidade, quando a tangerineira 'Sunki' cultivada em campo foi polinizada com espécies compatíveis, houve um aumento significativo no número de sementes por fruto, até dezessete sementes por fruto, o que explicaria o valor elevado deste estudo (10,9 sementes totais por fruto). Adicionalmente, comprovou-se que esse aumento dependeu do polinizador específico utilizado. Contudo, do ponto de vista da obtenção de embriões nucelares para a produção de mudas, tal aumento seria prejudicial, dado que

se teria maior número de plantas zigóticas a expensas das nucelares.

Além do fator genético, existem variações em características de frutos e sementes de porta-enxertos conforme a região de estudo. No México, Andrade *et al.* (2003) verificaram maior massa (158,5g) e diâmetro (66,2mm) dos frutos do limoeiro 'Volkameriano' em relação ao presente estudo. Na Venezuela, Monteverde *et al.* (2007), avaliando esta mesma cultivar em campo, encontraram diâmetro de fruto e número de sementes por fruto semelhantes ao presente estudo, com a massa por fruto superior (188g). As possíveis variações nos

resultados são atribuídas a fatores ambientais, principalmente temperatura (Monteverde *et al.* 2007), condições de cultivo e a possível diversidade de seleção da espécie (Guerra *et al.* 2012).

Nos citros a polinização é necessária para a formação do embrião zigótico, sendo este indispensável pelo suprimento de nutrientes e hormônios essenciais para o desenvolvimento dos embriões nucelares, e assim, a formação de sementes viáveis (Koltunow, 1993; Machado *et al.* 2005). As diferenças na viabilidade das sementes observadas neste estudo podem ser devidas às maiores ou menores necessidades de polinização cruzada nas cultivares (Pok *et al.* 2015).

Para a cultura dos citros o processo de fertilização é beneficiado principalmente por insetos polinizadores (Nascimento *et al.* 2011), os quais estavam ausentes da casa de vegetação. A presença de embriões viáveis deve ser consequência da polinização anemófila (Lim *et al.* 2001), pois todas as plantas eram cultivadas na mesma casa de vegetação, com cortinas laterais confeccionadas com telas antiafídicas, que permitia passagem do vento. Adicionalmente, a primavera no sul do Brasil, época de floração dos citros, caracteriza-se por presença constante de ventos, o que favoreceu a polinização mesmo em ambiente protegido.

Ao quantificar-se o número de frutos por caixa de 25kg e de sementes por fruto verificou-se que os valores diferiram amplamente entre os porta-enxertos (Tabela 2). As diferenças em número de frutos deveram-se aos diferentes tamanhos dos mesmos. Enquanto que com somente 81,43 frutos de citrumeleiro 'Swingle' se enche uma caixa de colheita, são necessários 1.056,3 frutos de tangerineira 'Sunki' para

preencher o mesmo volume. Para porta-enxertos cultivados em campo, no limoeiro 'Volkameriano', citrangeiro 'Swingle' e tangerineira 'Sunki', Zucoloto *et al.* (2011) encontraram necessários 149, 199 e 2.909 frutos para encher uma caixa de colheita de 28kg (51x31x18cm). Multiplicando-se o número de frutos por caixa pelos embriões viáveis por fruto, verificou-se ampla variação por caixa de colheita segundo a cultivar. O trifoliata apresentou maiores valores, 12.844,2 sementes viáveis, superior ao citrumeleiro 'Swingle' (825,1) (Tabela 2).

A exceção da tangerineira 'Sunki' que foi quadrática, os demais porta-enxertos seguiram um padrão cúbico nas curvas de germinação acumulada. A tangerineira 'Sunki' e o limoeiro 'Volkameriano' apresentaram a maioria das sementes germinadas precocemente em relação aos outros porta-enxertos, com 76,5% e 74,5% de germinação aos 30 dias após a semeadura, respectivamente (Figura 2). Em comparação, os porta-enxertos citrangeiro 'FEPAGRO C13', 'Troyer', 'Swingle' e o trifoliata atingiram 68,9%, 64,3%, 59,9% e 72,1% em germinação 60 dias após a semeadura, respectivamente, ou seja, o fizeram em forma tardia (Figura 2). Dias *et al.* (2012) testando a germinação das sementes de limoeiro 'Volkameriano', tangerineira 'Sunki' e citrumeleiro 'Swingle', mantidos em germinador a 30°C por 45 dias encontraram resultados próximos ao do atual trabalho. Carvalho & Silva (2013), testando estes mesmos porta-enxertos, junto ao trifoliata e limoeiro 'Volkameriano', após dois meses e temperatura de 25°C em germinador, também descreveram resultados semelhantes a este estudo. Nestes estudos as matrizes dos porta-enxertos foram cultivadas em campo.

Tabela 2. Número de frutos (NFC), sementes viáveis por caixa (NSVC), índice de velocidade de germinação (IVG) e percentagem de germinação final (%G) de sete porta-enxertos de citros cultivados em ambiente protegido.

Porta-enxerto	NFC	NSVC	IVG	%G
Citrangreiro 'Troyer'	312,3 b *	5666,4 b	1,2 c	71,0 b
Citrumeleiro 'Swingle'	87,7 e	825,1 d	1,5 c	65,0 b
Citrangreiro 'FEPAGRO C 37'	248,9 c	2314,0 cd	2,8 b	90,0 a
Citrangreiro 'FEPAGRO C 13'	248,9 c	6095,3 b	1,7 c	69,0 b
Limoeiro 'Volkameriano'	150,4 d	2757,0 c	3,8 a	89,7 a
'Trifoliata'	341,2 b	12844,2 a	1,5 c	80,0 ab
Tangerineira 'Sunki'	1051,7 a	7275,2 b	4,4 a	92,0 a
cv %	91,9	74,5	54,7	14,2

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

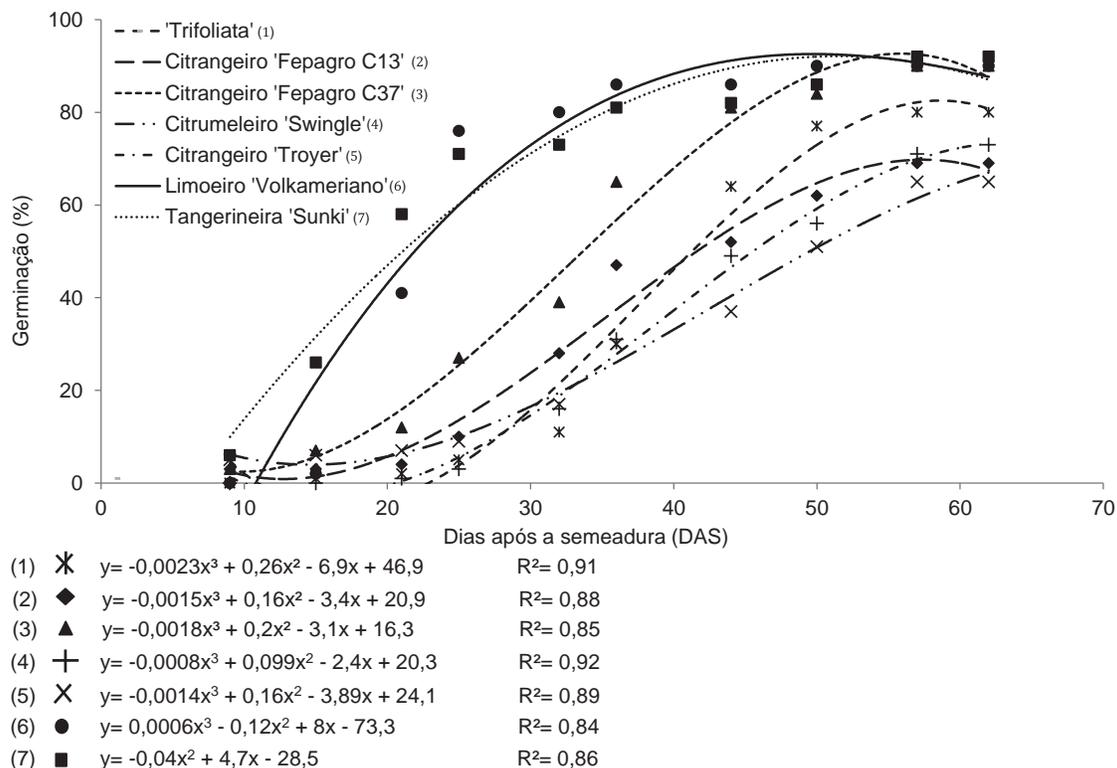


Figura 2. Curvas de germinação acumulada de sete porta-enxertos de citros cultivados em ambiente protegido.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi maior para tangerineira 'Sunki' (4,2), seguido do limoeiro 'Volkameriano' (3,6) (Tabela 2), o que se corrobora com os resultados obtidos nas curvas de germinação acumulada. Os demais porta-enxertos apresentaram IVGs menores, o que indica maior desuniformidade de germinação quando comparado aos anteriores. Também, IVGs menores indicam a necessidade de mais tempo para a produção de mudas ao se relacionar com o vigor das sementes, visto que os porta-enxertos levam mais tempo para atingir o ponto de enxertia.

O uso de porta-enxertos menos vigorosos requer maiores cuidados de manejo desde a sua semeadura, visando acelerar seu desenvolvimento e evitar o risco de produzir a muda além do tempo estabelecido pela legislação vigente no Brasil. Este não deve exceder os 6 meses a partir da data de semeadura, no caso do porta-enxerto e não mais do que 12 meses a partir da enxertia até a muda pronta para comércio (Azevêdo, 2003). Porém, isto não significa que não devam ser recomendados e utilizados para uso em citricultura, pois a diversificação é fundamental para reduzir riscos com algum novo problema fitossanitário que possa vir a ocorrer. Principalmente, porque todos os porta-enxertos avaliados são reconhecidamente excelentes para as condições de solo e clima do sul do Brasil (Koller, 2009; Souza *et al.* 2010),

proporcionando excelente qualidade dos frutos produzidos pelas copas sobre eles enxertadas.

No estado do Rio Grande do Sul, de clima temperado, o tempo de produção de mudas cítricas feitas anteriormente pelo sistema tradicional era longo, ou seja, três anos (Schäfer & Dornelles, 2000). Quando são produzidas em ambiente protegido, nota-se redução do tempo requerido, além de facilitar a produção livre de patógenos, portanto, oferecendo maiores garantias de qualidade genética e fitossanitária (Schäfer & Dornelles, 2000; Oliveira & Scivittaro, 2004; Scivittaro *et al.* 2004). Tais vantagens ressaltassem com o presente estudo, pois o cultivo em ambiente protegido parece não prejudicar a velocidade de germinação das sementes dos porta-enxertos avaliados.

A germinação pode ser limitada ou retardada pela presença do tegumento nas sementes, o que pode ter influenciado o índice de velocidade de germinação. Moreira *et al.* (2010) e Rodrigues *et al.* (2010) observaram maior germinação em sementes sem tegumento em porta-enxertos de citros, associado possivelmente à limitação hídrica promovida pelo tegumento. De tal maneira, alguns dos porta-enxertos avaliados neste estudo talvez necessitassem de tratamentos prévios de remoção do tegumento. Teixeira *et al.* (2009)

verificaram que a escarificação química de tegumento proporcionou melhorias na velocidade de emergência e na taxa de emergência para os porta-enxertos 'FEPAGRO C37' e trifoliata.

Finamente, neste estudo conclui-se que plantas matrizes fornecedoras de sementes de porta-enxertos de citros em ambiente protegido apresentam número de sementes viáveis próximas ao cultivo em campo. Também, se conclui que em ambiente protegido, as sementes viáveis dos sete porta-enxertos avaliados apresentaram em média 79,5% de germinação aos 60 dias após sementeira, com o citrangeiro 'Troyer' e a tangerineira 'Sunki' atingindo um mínimo e máximo de 92% e 71%, respectivamente. A velocidade de germinação foi maior na tangerineira 'Sunki' e o limoeiro 'Volkameriano', e menor no citrumeleiro 'Swingle', com os citrangeiros apresentando resultados intermediários entre os anteriores.

Agradecimentos: Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e à FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) pelo apoio financeiro. **Conflitos de interesses:** O manuscrito foi elaborado e revisado com a participação de todos os autores, na qual declaramos que não existe nenhum conflito de interesse que coloque em risco a validade dos resultados apresentados.

BIBLIOGRAFIA

- ANDRADE, M.A.; VILLEGAS, A.; GARCÍA, A. 2003. Características morfológicas del fruto y poliembrionia de tres portainjertos de cítricos. *Rev. Chapingo Serie Horticultura (México)*. 9(2):255-263.
- AZEVEDO, C.L. 2003. Produção Integrada de Citros – BA. Sistemas de Produção, 15. EMBRAPA - EMPRAPA Mandioca e Fruticultura. Disponible desde internet en: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosBahia_2ed/sementes.htm.
- CARVALHO, S.A.; SILVA, J.A.; SEMPIONATO, O.R. 2000. Produção de borbulhas certificadas de citros no Estado de São Paulo. Ed. FUNEP (Jaboticabal). 26p.
- CARVALHO, S.A.; SILVA, L.F. 2013. Monitoring the viability of citrus rootstocks seeds stored under refrigeration. *Rev. Bras. Fruticult.* 35(1):238-245.
- CARVALHO, M.R.; BORDIGNON, R.; BALLVÉ, R.M.; MAGLIO, R.M.; MEDINA, H. 1997. Aspectos biológicos do reduzido número de sementes da tangerina Sunki'. *Bragantia (Brasil)*. 56(1):69-77.
- DIAS, M.; ZUCOLOTO, M.; DIAS, D.C.; SILVA, D.F.; SEDIYAMA, C.A.; NETO, J. 2012. Resposta fisiológica de sementes de variedades portaenxertos de citros submetidas à condicionamento osmótico. *Comunicata Scientiae (Brasil)*. 3(4):238-243.
- GUERRA, D.; WITTMAN, M.T.S.; SCHWARZ, S.F.; SOUZA, P.V.D.; WEILER, R.L. 2012. Caracterização morfológica, determinação do número de embriões e taxa de poliembrionia em três porta-enxertos híbridos de citros. *Bragantia*. 71(2):196-201.
- KOLLER, O.C. 1994. *Citricultura: laranja, limão e tangerina*. Ed. Rígel (Porto Alegre). 446 p.
- KOLLER, O.C. 2009. *Citricultura: Cultura de Tangerineiras: tecnologia de produção, pós-colheita e industrialização*. Ed. Rígel. 400p.
- KOLTUNOW, A.M. 1993. Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell (USA)*. 5(10):1425-1437.
- LIM, A.L. 2001. Citrus and citroids: Recent biological findings. *Malayan-Nature Journal*. 55:221-229. 2001.
- MACHADO, M.A.; CRISTOFANI, M.; AMARAL, A.M.; OLIVEIRA, A.C. 2005. Genética, melhoramento e biotecnologia de citros. En: MATTOS JÚNIOR, D.; DE NEGRE, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Eds.). *Citros*. Ed. FUNDAG (Jaboticabal). p.221-277.
- MAGUIRE, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science (USA)*. 2(1):176-177.
- MONTEVERDE, E.E.; MARIN, R.; RUIZ, J.R. 2007. Estudio de algunas características del fruto de ocho portainjertos para cítricos. *Agr. Trop. (Venezuela)*. 57(3):189-195.
- MOREIRA, R.A.; RAMOS, J.D.; CRUZ, M.M. 2010. Caracterização de frutos e poliembrionia em sementes de 'Flying Dragon' e de híbridos de porta-enxerto de citros. *Rev. Bras. Fruticult.* 32(2):486-492.
- NASCIMENTO, E.T.; MALUF, R.P.; GUIMARÃES, R.A.; CASTELLANI, M.A. 2011. Diversidade de abelhas visitantes das flores de *Citrus* em pomares de laranjeira e tangerineira. *Rev. Bras. Fruticult.* 33(1):111-117.

17. OLIVEIRA, R.P.; SCIVITTARO, W.B. 2004. Infra-estrutura e custo de produção de mudas de citros (Documentos, 118). Embrapa Clima Temperado. (Pelotas). 27p.
18. POK, P.; OH, E.U.; YI, K.; KANG, J.H.; KO, B.J.; KIM, H.B.; SON, K.J. 2015. Characterization of microspore development and pollen tube growth response to self- and cross-pollination in Jeju old local citrus species. Hort. Environ. Biotechnol. 56(2):225-232.
19. POMPEU JUNIOR, J.; BLUMER, S. 2011. Citrandarins e outros híbridos de trifoliata como porta-enxerto para laranja Valencia. Citrus Res. Technol. (Brasil). 32(3): 133-138.
20. RODRIGUES, F.; FREITAS, G.; MOREIRA, R.; PASQUAL, M. 2010. Caracterização dos frutos e germinação de sementes dos porta-enxertos Trifoliata Flying Dragon e citrumelo Swingle. Rev. Bras. Fruticult. 32(4):1180-1188.
21. SANTANA, D.L.; RENAL, M.A. 2000. Análise estatística na germinação. R. Bras. Fisiol. Veg. 12(edição especial):205-237.
22. SANTOS, C.Q.; GIRARDI, E.A.; VIEIRA, E.L.; LEDO, C.A.; SOARES FILHO, W.D. 2015. Tamanho ótimo de amostras de frutos e de sementes para determinação da poliembrião em citros. Revista Brasileira Fruticultura 37(1):172-178.
23. SCHÄFER, G.; DORNELLES, A.L.C. 2000. Produção de mudas cítricas no Rio Grande do Sul - Diagnóstico da região produtora. Ciência Rural (Brasil). 30(4):587-592.
24. SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A.L. 2001. Porta-enxertos utilizados na citricultura. Ciência Rural. 31(4):723-733.
25. SCIVITTARO, W.B.; OLIVEIRA, R.P.; MORALES, C.F.; RADMANN, E.B. 2004. Adubação nitrogenada na formação de porta-enxertos de limoeiro 'Cravo' em tubetes. Rev. Bras. Fruticult. 26(1):131-135.
26. SIQUEIRA, D.L.; VASCONCELLOS, J.F.; DIAS, D.C.; PEREIRA, W.E. 2002. Germinação de sementes de porta-enxertos de citros após o armazenamento em ambiente refrigerado. Rev. Bras. Fruticult. 24(2):317-322.
27. SOUSA, H.U.; RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; FERREIRA, E.A. 2002. Efeito do ácido giberélico sobre a germinação de sementes de porta-enxertos cítricos. Rev. Bras. Fruticult. 24(2):496-499.
28. SOUZA, P.V.; SOUZA, E.L.S.; OLIVEIRA, R.P.; BONINE, D.P. 2010. Indicações Técnicas para a Citricultura no Rio Grande do Sul. Ed. FEPAGRO (Porto Alegre). 126p.
29. TEIXEIRA, P.T.L.; SCHÄFER, G.; SOUZA, P.V.D.; TODESCHINI, A. 2009. A escarificação química e o desenvolvimento inicial de porta-enxertos cítricos. Rev. Bras. Fruticult. 31(30):865-871.
30. ZUCOLOTO, M.; GAMA DA COSTA, M.; CARVALHO, L.M.; DOS SANTOS, D.; SIQUEIRA, D.L. 2011. Estimativa da produção de sementes de porta-enxertos cítricos por meio da massa de frutos. Ceres (Brasil). 58(1):126-128.

Recibido: Agosto 25 de 2015
Aceptado: Febrero 8 de 2016

Cómo citar:

Prato Sarmiento, A.I; Giuliani, J.C.; Dutra de Souza, P.V. 2016. Morfologia de frutos e sementes de porta-enxertos de citros cultivados em ambiente protegido. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 17-24.

ARN DE INTERFERENCIA (ARNi): UNA TECNOLOGÍA NOVEDOSA CON POTENCIAL PARA EL CONTROL DE INSECTOS PLAGA

RNA INTEREFERENCE (RNAi): A NOVEL TECHNOLOGY WITH POTENTIAL FOR PEST INSECT MANAGEMENT

Daniel Noriega^{1,4}, Arnubio Valencia^{2,4}, Bernardo Villegas^{3,4}

¹ Biologo, Programa de Biología. Universidad de Caldas, Manizales Caldas, e-mail: daniel.1711114693@ucaldas.edu.co; ² Ph.D, Profesor titular, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, e-mail: arnubio.valencia@ucaldas.edu.co; ³ M.S., Profesor asociado, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, e-mail: bernardo.villegas@ucaldas.edu.co; ⁴ Calle 65 No 26 – 10, Manizales, Caldas

Rev. U.D.C.A. Act & Div. Cient. 19(1): 25-35, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

El ARN de interferencia (ARNi) es un mecanismo biológico, ampliamente distribuido en eucariotas, por el cual, se consigue silenciar genes, mediante moléculas de ARN de doble cadena (ARNdc). El descubrimiento de este mecanismo, se llevó a cabo hace poco más de 15 años y, desde entonces, se han realizado diferentes investigaciones enfocadas, principalmente, a comprender mejor cómo funciona, su función en diferentes organismos, su uso para describir funciones de genes específicos y las potenciales aplicaciones que tendría en el desarrollo tecnológico, en otras áreas de la ciencia. El silenciamiento de genes se da por la interacción de complejos enzimáticos en el citoplasma con pequeñas moléculas de ARN (siRNA), las cuales, actúan sobre el ARN mensajero (ARNm) endógeno, impidiendo que sea traducido a proteína. Es un hecho que el ARNi puede ser una tecnología alternativa en el control de plagas de importancia agrícola, a través del silenciamiento selectivo de genes, considerados esenciales para la sobrevivencia de la plaga. La implementación de esta tecnología involucra una serie de estudios, que van desde la identificación de genes blanco, el diseño de secuencias de ARNdc, el desarrollo de bioensayos y pruebas en campo, que permitan evidenciar los reales efectos del silenciamiento y la evaluación de factores asociados, que pudieran generar variabilidad del proceso de silenciamiento, investigaciones que son necesarias para que esta tecnología se establezca, finalmente, en el mercado. El presente artículo presenta las bases teóricas del ARNi, los logros de esta tecnología, así como su potencial para el control de insectos plaga.

Palabras clave: Silenciamiento génico, control de plagas, transcriptoma, ARNm.

SUMMARY

RNA Interference (RNAi) is a biological mechanism widely distributed in eukaryotes that allows silencing of genes in the presence of double-stranded RNA (dsRNA) molecules. This mechanism was discovered more than 15 years ago, since then a lot of research projects have been performed in order to obtain a better understanding of how this mechanism works, its function in different organisms, utility for specific gene function description and its potential in the technologic development of other areas. Gene silencing occurs by the interaction between enzymatic complexes in the cytoplasm, with small interference RNA molecules (siRNA), which act on the endogenous messenger RNA (mRNA), therefore preventing their translation to proteins. It is a fact that RNAi could be used as an alternative technology for pest control, through silencing essential genes for the target species. The implementation of this technology involve many necessary studies, ranging from the identification of target genes including dsRNA sequence design, development of bioassays and field tests that show the real effects of dsRNA on gene silencing, and the evaluation of associated factors that could produce variability during the process. Due to this, is necessary more research studies for a marketing establishing of this technology. This paper presents the theory behind the RNAi mechanism, current achievements of this technology, as well as the potential of this technology for insect pest control.

Key words: Gene silencing, pest control, RNA interference, mRNA, transcriptome.

INTRODUCCIÓN

Uno de los avances científicos más relevantes que se han dado en el campo de la biología y la genética molecular, en los últimos 20 años, lo constituye el descubrimiento de un fenómeno biológico, por el cual, se puede interrumpir la expresión de genes específicos, a nivel celular, mediante la introducción de ARN de doble cadena exógeno, un proceso que se denomina silenciamiento génico (Baum & Roberts, 2014). Este mecanismo biológico está siendo considerado prometedor para el control de plagas agrícolas y con potencial en otras áreas de las ciencias aplicadas. La aplicación práctica en laboratorio de este mecanismo tuvo un gran impacto en el estudio de genomas, dado que se logró descubrir la función de muchos genes en diferentes organismos, entre ellos, los insectos (Bellés, 2010), particularmente, en el estudio de la genómica funcional en *Drosophila melanogaster* (Kuttenkeuler & Boutros, 2004; Chen *et al.* 2007).

Uno de los primeros indicios de la existencia de este mecanismo endógeno de supresión génica fue encontrado por Napoli *et al.* (1990), al descubrir una inusual supresión de genes asociados a la coloración en petunias modificadas genéticamente, atribuyendo dicha supresión al gen transgénico de Chalcona sintasa, que ellos modificaron. Más adelante, Guo & Kempthues (1995) describieron un fenómeno similar en *Caenorhabditis elegans*, al encontrar que individuos tratados de forma independiente con hebras de ARN antisentido y ARN, inhibían la expresión de el gen *par-1*, lo que resultaba paradójico, ya que se esperaba que aquellos individuos tratados con la hebra sentido, se expresaran normalmente.

Años más tarde, los experimentos de Fire *et al.* (1998) con *C. elegans* permitieron elucidar, más detalladamente, la forma como ocurre el proceso de silenciamiento, también conocido como ARN de interferencia (ARNi). Estos investigadores encontraron que el mecanismo por el cual funciona este proceso, se fundamenta en la degradación del ARN mensajero (ARNm) endógeno, a nivel celular, un evento que sucede posterior a la aplicación exógena de ARN de doble cadena (ARNdc), complementario a la secuencia blanco, por lo que el ARNm específico es sujeto a silenciamiento. El mecanismo de silenciamiento de genes fue reportado en años posteriores en un gran número de plantas, de hongos y de animales de diferentes *phyla*, corroborando la hipótesis de que el mecanismo de ARNi se hallaba ampliamente distribuido en organismos eucariotas (Zou *et al.* 2003; Dykxhoorn & Lieberman, 2005).

Se han descrito al menos tres funciones principales del mecanismo de ARNi en los organismos eucariotas: la regulación génica específica, la protección contra agentes virales y la defensa del organismo frente a elementos génicos transponibles o trasposones (Sen & Blau, 2006; Billmyre *et al.*

2013; Liao & Tang, 2015); sin embargo, estas no son las únicas funciones asociadas al ARNi. En plantas, por ejemplo, se han estudiado una variedad de procesos reguladores intracelulares de señalización que ocurren durante el desarrollo fisiológico (Sarkies & Miska, 2014). En mamíferos, por otro lado, se ha reportado una función reparadora del ADN y un sistema de defensa endógeno contra el cáncer (Kole *et al.* 2012; Ozcan *et al.* 2015). Estos hallazgos incentivaron nuevos estudios acerca del mecanismo de ARNi y su potencial aplicación en campos, como la agricultura, la medicina y la industria farmacéutica, entre otros (Nandety *et al.* 2015).

En esta revisión, se presentan los fundamentos y los mecanismos de acción del ARN de interferencia, así como también los aspectos clave de su uso en el manejo de insectos plaga. Se realizó una búsqueda sistematizada de literatura, utilizando sitios web, como Google Scholar, Science Direct y Jstor, con el uso de palabras clave, como RNAi, Gene silencing y pest control, además de la lectura de los artículos más relevantes, citados en previas revisiones. Se analizó la literatura online únicamente en revistas científicas, excluyendo, de esta forma, trabajos de grado o tesis doctorales. Se destacan revistas de temática no especializada, como PLOS One, Science y Nature; revistas especializadas, como Insect Biochemistry and Molecular Biology, Journal of Insect Physiology y Nature Biotechnology, así como también artículos de revisión publicados en revistas, como Nature Reviews y Proceedings of the National Academy of Sciences.

FUNDAMENTOS DEL PROCESO DE ARNi

Pequeños ARN de interferencia (siRNA, por sus siglas en idioma inglés): Fire *et al.* (1998) encontraron que el uso de ARNdc producía un silenciamiento que perduraba en la siguiente generación, sumado al hecho que solo unas cuantas moléculas eran suficientes para lograr una supresión completa del gen, lo que los llevó a proponer la existencia de un componente amplificador en el proceso de ARNi. Fue entonces cuando se descubrieron los pequeños ARN de interferencia (siRNA), un tipo de ARN no codificante (ARNnc), constituido por fragmentos de ARNdc, de entre 21 y 25 nucleótidos, los cuales, son producidos a partir del ARNdc, que es suministrado a los individuos tratados (Zamore *et al.* 2000; Elbashir *et al.* 2001). El proceso descubierto consiste en la degradación o corte del ARNdc suministrado, hasta convertirse en siRNA, que hibridan en las regiones complementarias del ARNm, evitando que codifique para proteínas específicas (Mello & Conte, 2004). Esto se puede dar de distintas formas, las cuales, serán explicadas más adelante.

Maquinaria enzimática: Una vez se descubrió que el proceso de silenciamiento no se daba de forma directa por la aplicación del ARNdc, se consideró la existencia de una maquinaria intermediaria, que se encargara del proceso de degra-

dación del ARNdc en siRNA y de la unión de estos últimos fragmentos al ARNm endógeno, para su posterior degradación. Las enzimas implicadas en este mecanismo, se descubrirían poco después por Bernstein *et al.* (2001), quienes designaron el término “complejo de silenciamiento inducido por ARN” (RISC, por sus siglas en idioma inglés), término que se refiere al complejo enzimático, que se encarga de degradar el ARNm.

Una vez el ARNdc entra en la célula, la enzima Dicer, de la familia de las ARNasas tipo III, es la encargada de romper el ARNdc en pequeños fragmentos (siRNA). Además de Dicer, también se han encontrado otros componentes importantes en la maquinaria del ARNi (Dykxhoorn & Lieberman, 2005). Los trabajos llevados a cabo por Martínez *et al.* (2002) permitieron descubrir la participación de las proteínas argonautas 1 y 2 (Ago1 y Ago2) que, posteriormente, se denominarían Slicer, por su actividad como endonucleasas. Estas proteínas, junto con otras enzimas, forman el complejo RISC y al unirse al ARNm lo degradan mediante motivos catalíticos de ARNasa tipo II, un proceso en el que los siRNAs actúan como guía para que el complejo RISC actúe sobre el ARNm (Bernstein *et al.* 2003; Whangbo & Hunter, 2008).

Si bien estos son los componentes enzimáticos mejor estudiados, existen otras enzimas que participan en el proceso de silenciamiento. Una de ellas es la polimerasa dependiente de RNA (RdRP, por sus siglas en idioma inglés), la cual, amplifica el silenciamiento para generar un efecto sistémico; sin embargo, en insectos no se ha demostrado, hasta el momento, la presencia de dicha enzima, que tiene un efecto negativo para el control mediante ARNi, ya que únicamente actuaría en las células a las que el ARNdc sea suministrado (Price & Gatehouse, 2008); la importancia de este aspecto radica en los mecanismos de entrada del ARNdc en las células del insecto y la capacidad de generar una respuesta sistémica en el mismo. Según lo propuesto por Whangbo & Hunter (2008) existen dos mecanismos por los que el ARNdc es absorbido en los eucariotas. El primero consiste en el mecanismo de cada célula para generar silenciamiento, que es conocido como ARNi de autonomía celular, ya que se produce tan solo en la célula donde se inyecta o produce el ARNdc. El segundo mecanismo puede actuar en células y en tejidos diferentes a los que produzcan el ARNdc, un mecanismo que ha sido denominado ARNi de autonomía no celular.

ARNi de autonomía celular: Se han descrito dos mecanismos, mediante los cuales, se produce ARNi dentro de las células: uno es el silenciamiento génico post-transcripcional (PTGS, por sus siglas en idioma inglés), que actúa directamente sobre el ARNm de dos formas distintas, generando represión de la traducción, mediante siRNAs, que generan degradación del ARNm en el citoplasma y tienen comple-

mentariedad perfecta con el ARNm homólogo o degradando el ARNm, a través de microARNs (miARNs), otro tipo de ARN no codificante, que genera represión de la traducción por medio de complementariedad imperfecta con el ARNm (Castel & Martienssen, 2013; Sarkies & Miska, 2014).

En el proceso mediado por siRNAs, la enzima Dicer rompe selectivamente las largas moléculas de ARNdc, transformándolas en siRNAs (Hammond, 2005; Castel & Martienssen, 2013). Estos siRNAs son incorporados en el complejo RISC, donde la cadena antisentido del siRNA guía de forma específica a la enzima, para producir la ruptura del ARNm homólogo en la porción complementaria, como se puede observar en la figura 1 (Sarkies & Miska, 2014). La ruptura del ARNm se da gracias a las proteínas Argonautas que actúan en conjunto con el complejo RISC, de la siguiente manera: El dominio PAZ (Piwi, Argonauta, Zille) reconoce el extremo terminal con los nucleótidos libres de los siRNAs, mientras que un tercer tipo de ARNnc, denominado PIWI, reconoce y corta en los puntos donde hibridan el siRNA y su ARNm complementario (Lingel *et al.* 2004; Wang *et al.* 2009). Cuando el proceso es mediado por miARNs, estos hibridan con el ARNm formando estructuras en bucle que lo desestabilizan, llevándolo, de manera directa, a la degradación citoplasmática (Sarkies & Miska, 2014).

El otro mecanismo de ARNi de autonomía celular, se sabe actúa a nivel del ADN y la cromatina y se conoce como silenciamiento génico dependiente de cromatina (CDGS, por sus siglas en idioma inglés) o silenciamiento génico transcripcional (TGS, por sus siglas en idioma inglés). Este mecanismo se ha estudiado, principalmente, en plantas y en hongos (Guang *et al.* 2010; Blevins *et al.* 2014; Holoch & Moazed, 2015), aunque también se ha reportado que ocurre en *C. elegans* y *D. melanogaster* (Brennecke *et al.* 2008; Li *et al.* 2009; Malone *et al.* 2009; Burton *et al.* 2011; Sarkies & Miska, 2014). Consiste en la represión de genes, a nivel transcripcional, por medio de modificaciones epigenéticas en la cromatina, reduciendo la transcripción, mediante la formación guiada de heterocromatina hacia *loci* específicos. La diferencia fundamental entre este mecanismo y el de PTGS es que en el TGS el complejo efector, conocido como complejo de silenciamiento transcripcional inducido por ARN (RITS, por sus siglas en idioma inglés), por medio de la unión con factores, que varían dependiendo del organismo, genera modificaciones en las histonas y metilación en el ADN, en los *loci*, en los cuales, se produce el silenciamiento (Holoch & Moazed, 2015).

ARNi de autonomía no celular: Este mecanismo de absorción del ARNdc puede ser dividido en dos: ARNi ambiental y ARNi sistémico. El primero es aquel proceso, en el cual, una célula es capaz de obtener el ARNdc de su ambiente, mientras que el segundo, involucra un complejo sistema

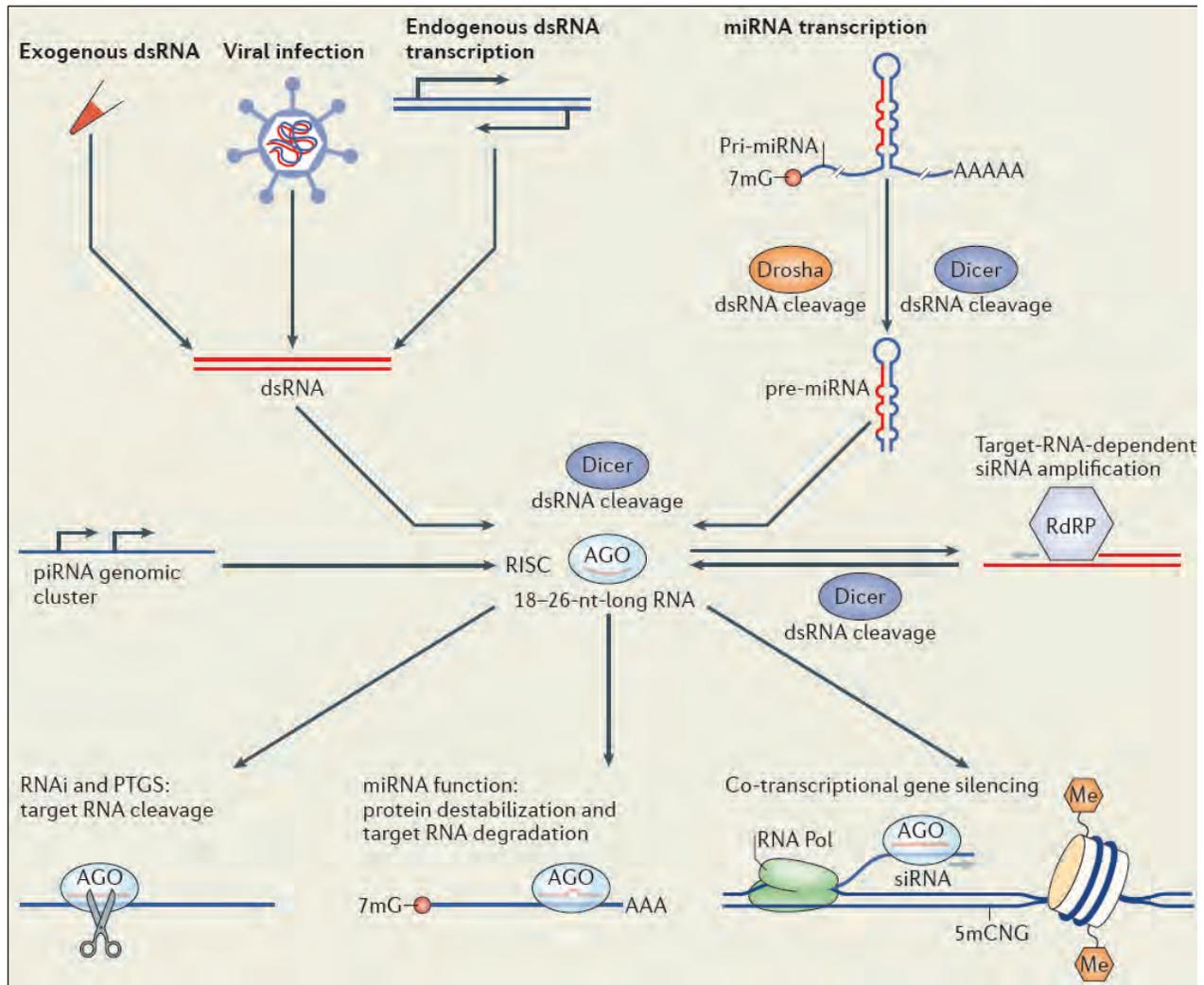


Figura 1. Esquema básico de los mecanismos de ARNi. Los ARNdc son procesados por la enzima *Dicer*, generando múltiples siARNs o miARNs, los cuales, se ensamblan en el complejo RISC y actúan en conjunto con las proteínas Ago, suscitando degradación citoplasmática del ARNm o represión de la transcripción (PTGS). Se puede dar modificación de la cromatina y la consecuente supresión de la transcripción (TGS). 7mG, 7-metilguanina; Me, metil; miRNA; microARN; nt, nucleótido; pri-miRNA, miARN primario; PTGS, silenciamiento génico postranscripcional; RdRP, ARN plimerasa dependiente de ARN; RISC, complejo inductor de silenciamiento; RNA Pol, ARN polimerasa (tomado de Sarkies & Miska, 2014).

de señalización, a través del silenciamiento, que puede pasar de una célula a otra de forma controlada (Huvette & Smaghe, 2010). Si bien se ha demostrado en plantas y en *C. elegans* la existencia de genes que codifican para proteínas encargadas de ejecutar estas funciones de señalización, como es el caso del gen *sid-1* que codifica para una proteína transmembranal, en insectos no se ha logrado identificar un

sistema de proteínas homólogo que cumpla este papel para la producción de un ARNi sistémico. Por esta razón, las investigaciones para probar ARNi en el control de insectos se han centrado en el intestino, dado que por su alta capacidad de absorción es común observar ARNi ambiental, mediado por endocitosis (Price & Gatehouse, 2008).

Baum & Roberts (2014) mencionan que para lograr una respuesta por ARNi ambiental debe ser completamente operacional y que, hasta el momento, la ruta más efectiva es mediante la ingestión de las secuencias de silenciamiento; sin embargo, algunos órdenes de insectos presentan mecanismos de ARNi sistémico que, hasta ahora, no han sido descritos con tanto detalle, como en *C. elegans*. Casos, como el de *Tribolium castaneu*, *Apis mellifera* y *Aphis gossypii*, representan algunas especies de insectos, comprobándose la existencia de una señal amplificadora del silenciamiento. Conocer el sistema, mediante el cual funciona dicha señal, permitiría encontrar rutas alternativas a la ingesta directa (Huvenne & Smaghe, 2010). Es importante tener en cuenta estos aspectos y avanzar en investigaciones que ayuden a entender el sistema de amplificación de la señal de silenciamiento, principalmente, para optimizar la entrada y propagación del ARNi en insectos plaga.

POTENCIAL DEL ARNi EN EL CONTROL DE INSECTOS PLAGA

Debido a su alta especificidad, el mecanismo de ARNi tiene un fuerte potencial para uso biotecnológico, considerándose, en los últimos años, como una estrategia para el control de plagas y de enfermedades específicas en la agricultura (Borovsky, 2005; Gordon & Waterhouse, 2007; Whyard *et al.* 2009; Huvenne & Smaghe, 2010; Wang *et al.* 2013). La alta demanda de alimentos generada por el constante aumento poblacional en el planeta, sumado a la reducción en el rendimiento y la calidad de los cultivos, ha hecho que la tecnología de ARNi se constituya en una herramienta novedosa para el control de plagas, a nivel mundial y como una opción viable, para superar los obstáculos que existen, para la implementación de las técnicas de transformación molecular convencionales (Yogindran & Rajam, 2015). El mecanismo de ARNi, se presenta como una gran alternativa para el control de insectos plaga, debido, en gran parte, a su especificidad, una de las ventajas de dicha tecnología, para reducir efectos en organismos no blanco y también como un potencial reemplazo a los métodos basados en insecticidas, los cuales, en la mayoría de casos, generan resistencia (Baum & Roberts, 2014).

El interés en la tecnología de ARNi para controlar insectos, se hizo notorio con los trabajos de Baum *et al.* (2007) (Figura 2A) y Mao *et al.* (2007), quienes lograron producir plantas transgénicas con resistencia a dos plagas de importancia mundial: el gusano del algodón, *Helicoverpa armigera* y el gusano de la raíz del maíz, *Diabrotica virgifera virgifera*. A partir de allí, otros investigadores comenzaron a producir y evaluar secuencias de silenciamiento, dirigidas a genes esenciales para insectos plaga, logrando, en muchos casos, conseguir mortalidad (Zhu *et al.* 2011; Wang *et al.* 2013; Xiong *et al.* 2013; Thakur *et al.* 2014); sin embargo, como lo resal-

tan Nandety *et al.* (2015), existen múltiples parámetros que deben ser estudiados cuidadosamente con anterioridad a su implementación, a nivel agrícola, de forma que se pueda desarrollar una tecnología efectiva, basada en el ARNi. Entre los parámetros más importantes, se tienen: el tipo de inductores de ARNi (siRNAs, miARNs o ARNdc), la concentración más efectiva de dichos inductores y el modo de suministro o liberación del inductor en el organismo plaga. Scott *et al.* (2013), también resaltan la importancia de los parámetros mencionados y plantea que para el control de insectos plaga, mediante ARNi, también se requiere tener en cuenta, por ejemplo, el tamaño de las secuencias de ARNdc, las cuales, han mostrado ser muy eficientes cuando el tamaño se encuentra en un rango de 50-200 pb; asimismo, plantean que es importante que las secuencias diseñadas tengan la mayor identidad posible con el blanco de ARNm en el insecto. La selección de genes blanco adecuados es otro aspecto que los autores resaltan, evaluando la durabilidad de la proteína codificada y que el transcripto se presente abundantemente.

Selección del blanco para ARNi: En una revisión previa de Nandety *et al.* (2015), se menciona que los mejores blancos para ARNi son aquellos genes que son parte fundamental en el desarrollo del insecto; por ejemplo, Pitino *et al.* (2011) y Zha *et al.* (2011), trabajando con hemípteros plaga, consiguieron reducir la expresión simultánea de varios genes presentes en glándulas salivares y el intestino, respectivamente, logrando la supresión de dichos genes, en un porcentaje mayor al 50%. Xiong *et al.* (2013), se centraron en la evaluación de secuencias de ARNdc dirigidas, específicamente, a genes involucrados con el metabolismo de la muda en *H. armigera*, consiguiendo obtener resistencia de la planta al ataque del insecto, pues las larvas que se alimentaron de la planta transformada presentaron tasas de mortalidad, entre el 30 y el 50%, así como también deformaciones en el desarrollo y en la disminución en la tasa de crecimiento de los individuos sobrevivientes.

Si bien, en la mayoría de los casos, se busca producir una mortalidad significativa en el insecto plaga, trabajos como el de Khajuria *et al.* (2015), demuestran que también es útil escoger genes relacionados con el desarrollo que hagan inviables al insecto. En dicho trabajo, los autores silenciaron en *D. virgifera virgifera* el gen hunchback (hb), el cual, codifica para un factor de transcripción importante en el desarrollo del plan corporal y también el gen brahma, relacionado con la embriogénesis, logrando producir ausencia de desarrollo embrionario en la descendencia de los organismos tratados.

Genes relacionados con el metabolismo celular y detoxificación, de igual forma, han sido frecuentemente silenciados; ejemplo de ello es el caso exitoso de Baum *et al.* (2007), mencionado anteriormente. En dicho estudio los investigadores lograron silenciar varios genes codificantes para

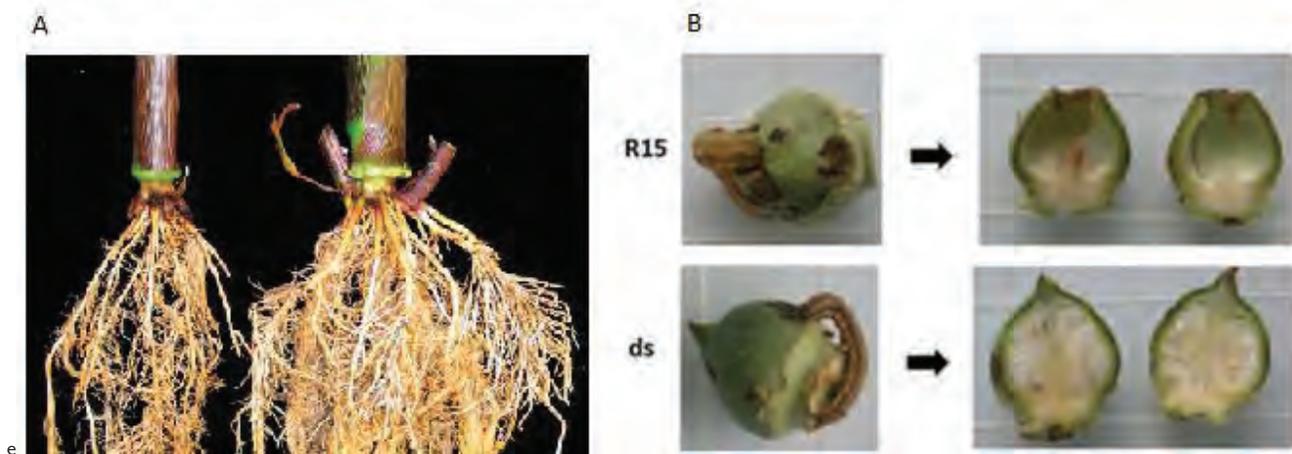


Figura 2. Plantas transgénicas que expresan ARNdc. **A.** Plantas de maíz expresando ARNdc específico para la proteína V-ATPase de *Diabrotica virgifera virgifera*. A la izquierda, una planta no-transgénica, mostrando daño en la raíz y a la derecha, la planta transgénica (tomada de Baum *et al.* 2007). **B.** Cápsulas de algodón expresando ARNdc dirigido contra el gen CYP de *Helicoverpa armigera* (tomado de Mao *et al.* 2011).

subunidades de una ATPasa vacuolar, logrando obtener significativas tasas de mortalidad en sus bioensayos. Mao *et al.* (2011), por otro lado, generaron una planta de algodón transgénica resistente a *H. armigera*, silenciando el gen CYP6AE14 codificante para la monooxigenasa P450, relacionado con procesos de detoxificación (Figura 2B). Zhu *et al.* (2012) silenciaron en *Cimex lectularius* el gen codificante para una proteína multidominio denominada CPR (NADPH-Citocromo P450 Reductasa), que está relacionada con una vía metabólica vital en el desarrollo de resistencia a pesticidas, en dicho insecto. Mediante el silenciamiento de dicho gen lograron obtener una significativa reducción de la resistencia del insecto al insecticida deltametrin.

Sin duda alguna, la selección de un blanco adecuado de silenciamiento constituye uno de los aspectos clave para el uso de ARNi, como herramienta para el control de insectos plagas de importancia agrícola. Igualmente, también es una de las tareas más difíciles a la hora de implementar esta estrategia de control, debido, principalmente, a la falta de información genética para muchas de las plagas de interés agronómico (Scott *et al.* 2013). En este sentido, las herramientas bioinformáticas, se presentan como una gran estrategia para entender, a mayor profundidad, cómo funcionan estos genes en las distintas rutas metabólicas y qué regiones de las secuencias pueden brindar la especificidad necesaria, para luego diseñar, con mayor precisión, secuencias efectivas de silenciamiento; ejemplo de estas herramientas, lo constituye el secuenciamiento de alto rendimiento, como RNA-seq y creación de librerías de ADNc (Koch & Kogel, 2014).

Suministro o liberación de los inductores de ARNi: Una vez escogido un blanco adecuado y diseñado las secuencias para evaluar el ARNi, se debe hacer frente a dos grandes desafíos: encontrar el método efectivo de suministro para los inductores de ARNi y conseguir la estabilidad de los ácidos nucleicos durante o después de la aplicación (Zhang *et al.* 2010). Lo primero que se requiere es una entrada eficiente de ARNdc o del siRNA, teniendo en cuenta que no en todas las especies de insectos, el silenciamiento, mediante ARNdc, es efectivo. En todo caso, se debe garantizar el suministro de la cantidad mínima necesaria para producir el silenciamiento y que las secuencias de ARNi suministradas no se degraden bajo condiciones de campo o por las enzimas salivares y digestivas, propias del insecto (Baum *et al.* 2007; Price & Gatehouse, 2008; Liu *et al.* 2013; Scott *et al.* 2013).

Un método de suministro de inductores de ARNi ampliamente utilizado ha sido el de la microinyección, a través de la aplicación de secuencias grandes de ARNdc o secuencias cortas de siRNAs, que son sintetizadas *in vitro*. Casos exitosos de la implementación de esta metodología, para comprobar efectos de mortalidad, interrupción del desarrollo normal o disminución en la alimentación del insecto, se han observado, entre otras especies, en plagas tan importantes, como *Manduca sexta*, en Levin *et al.* (2005); *Tribolium castaneum*, en Tomoyasu *et al.* (2005); *Nilaparvata lugens*, en Liu *et al.* (2010) y *Agrilus planipennis*, en Zhao *et al.* (2015). A pesar de que esta forma de suministro es bastante útil en pruebas iniciales de evaluación, porque permite comparar con precisión diferentes concentraciones del inductor y combinar diferentes tipos del mismo, no resulta

útil para el control práctico de insectos y está relegada, por el momento, a los estudios básicos y a pruebas en laboratorio (Nandety *et al.* 2015).

La estrategia más cercana a las condiciones normales de campo, en las que la plaga y el cultivo conviven, es la ingestión directa de las secuencias de silenciamiento. La introducción de ARNdc en dietas artificiales ha sido probada por múltiples autores (Wuriyangan *et al.* 2011; Hajeri *et al.* 2014). Un caso muy exitoso fue el silenciamiento de cinco importantes genes constitutivos en mosca blanca (*Bemisia tabaci*), logrando obtener altas tasas de mortalidad en el insecto, seis días después de la ingesta de siRNAs y ARNdc. En este trabajo, se comprobó que las secuencias de siRNAs se mantuvieron estables en la dieta del insecto, al menos durante siete días, a temperatura ambiente (Upadhyay *et al.* 2011). La facilidad con la que se degradan los inductores de ARNi al pasar por el sistema digestivo de los insectos ha impedido que esta estrategia se establezca como una metodología consistente en control de insectos; dado que las dosis empleadas se deben elevar, de tal forma, que se vuelve inviable para uso comercial. En virtud en lo anteriormente planteado, se han propuesto y evaluado nuevas metodologías, para el suministro de las secuencias de silenciamiento (Nandety *et al.* 2015).

Entre estas nuevas metodologías, se encuentra la liberación de inductores de ARNi, mediada por bacterias y por virus (Koch & Kogel, 2014). Bacterias producidas mediante ingeniería genética son ingeridas por el insecto y, una vez dentro del tracto digestivo, expresan las secuencias de silenciamiento específicas (Nandety *et al.* 2015). Así, por ejemplo, cepas de *Escherichia coli* recombinante, expresando secuencias de ARNdc y siRNAs ya se han producido y se han implementado de manera exitosa, como en el caso Zhu *et al.* (2011), quienes lograron producir mortalidad significativa en *Leptinotarsa decemlineata* silenciando transcritos de ARNm con este método.

El silenciamiento mediado por virus, se basa en que el ARNi es el primer mecanismo de defensa de la planta frente a infecciones, de modo que cuando hay una infección en la planta, ésta genera una respuesta sistémica, en la cual, la maquinaria de ARNi de la planta actúa sobre las secuencias de silenciamiento, producidas por el virus. Si dicho virus es modificado genéticamente para que produzca ARNdc específicos contra el insecto plaga, una vez el insecto se alimenta de la planta infectada, el virus pasará al tracto digestivo del insecto, donde expresará el ARNdc. Este método es muy prometedor por su eficacia; sin embargo, se debe estudiar con mayor profundidad qué tipo de virus utilizar, dado que muchos de estos virus son potencialmente dañinos para la planta hospedera (Nandety *et al.* 2015).

A este proceso se le ha dado el nombre de silenciamiento génico inducido por hospederos (HIGS, por sus siglas en idioma inglés) (Koch & Kogel, 2014). El sistema HIGS ha sido utilizado en varios estudios para silenciar genes de importancia metabólica en insectos, obteniendo resultados satisfactorios mediante el empleo de diferentes virus como vectores, principalmente, en plantas de tabaco, en tomate y en cítricos (Khan *et al.* 2013; Wuriyangan & Falk, 2013; Hajeri *et al.* 2014). La estimulación de ARNi en insectos plaga, mediante la generación de plantas transgénicas que expresan inductores específicos, es la estrategia con mejores resultados, en términos de control, en condiciones de campo, tal y como sucede en el caso de especies vegetales, que expresan inductores de ARNi específicos contra el insecto *D. virgifera* (Baum *et al.* 2007; Xue *et al.* 2012).

Otros estudios, en menor proporción, han presentado alternativas diferentes para el suministro de ARNdc. Zhang *et al.* (2010) utilizaron nanopartículas poliméricas de quitosán ensamblados a secuencias de ARNdc, dirigidas contra genes de quitina sintasa (CHS1 y CHS2), en *Anopheles gambiae*, las cuales, fueron administradas al insecto, a través del alimento. A pesar de no presentar mortalidad, los individuos tratados aumentaron la susceptibilidad al insecticida difluzenuron. La aplicación de secuencias de silenciamiento de forma sinérgica con plaguicidas convencionales, con el objetivo que el insecto muestre una mayor susceptibilidad a éstos, constituye una alternativa para conseguir mejores resultados en el control de insectos, empleando menores cantidades del plaguicida, convencionalmente utilizado, y evitando, además de un mayor costo, concentraciones del plaguicida, que resulten nocivas para el mismo cultivo y para el ambiente (Tao *et al.* 2012; Kim *et al.* 2015).

Igualmente, el uso de ARNi de forma conjunta con el uso de toxinas tipo Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt), se podría constituir en una de las estrategias más empleadas en la lucha contra los insectos plaga de cultivos de importancia económica. Es factible suponer que la resistencia que presentan algunas especies de insectos a las toxinas tipo Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt), se podría superar exitosamente, mediante el silenciamiento de los genes que están directamente involucrados en ella, retrasando, de esta forma, la evolución de resistencia al usar diferentes modos de acción (Baum & Roberts, 2014).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

El estudio del mecanismo de ARNi y su posible implementación como tecnología para el control de plagas agrícolas sigue siendo un punto de debate en el medio científico, debido a que aún se presentan muchos vacíos de información para diferentes cultivos e insectos, respecto a las implicaciones en condiciones ambientales y efectividad en largos periodos

de tiempo; sin embargo, como se ha visto en esta revisión, numerosos esfuerzos de investigación se han realizado para probar la efectividad de la aplicación de la metodología de ARNi, bajo distintas condiciones, con diferentes organismos y con variados enfoques. Los estudios actuales sobre ARNi han logrado describir una pequeña parte del mecanismo molecular, celular y sistémico, que regula el silenciamiento génico, descubrimientos que han servido para estudiar y conocer la función de cientos de genes de interés. Ese conocimiento, ha permitido manipular la expresión de esos genes en favor del desarrollo de nuevas estrategias de control de plagas y enfermedades de importancia económica mundial; no obstante, se requiere comprender mejor las variaciones del mecanismo entre los diferentes órdenes de insectos y aun entre genes.

Es evidente que el interés en el potencial del ARNi para beneficio del ser humano aumenta con el pasar de los años, conforme continúa el progresivo avance de esta tecnología. Campos de avanzada, como la bioinformática y la biología molecular, se deben considerar las principales aliadas para hacer uso del ARNi, como estrategia exitosa, en el manejo de plagas y de enfermedades de importancia agrícola. La optimización del proceso dependerá de qué tanto avancen las investigaciones en los próximos años, especialmente, en la búsqueda de moléculas de silenciamiento más estables. Asimismo, dependerá de cómo reaccionan las poblaciones de organismos plaga al silenciamiento génico inducido, como también del desarrollo de nuevos métodos de suministro eficiente de las secuencias de silenciamiento.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas, por el apoyo y la financiación suministrados durante la elaboración del presente artículo. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- BAUM, J.A.; BOGAERT, T.; CLINTON, W.; HECK, G.R.; FELDMANN, P.; ILAGAN, O.; ROBERTS, J. 2007. Control of coleopteran insect pests through RNA Interference. *Nat. Biotechnol.* (United Kingdom). 25(11):1322-1326.
- BAUM, J.A.; ROBERTS, J. 2014. Progress Towards RNAi-Mediated Insect Pest Management. En: Dhaddalla, T.; Gill, S. (eds). *Insect midgut and insecticidal proteins*. Ed. Academic Press (United States). p.249-295.
- BELLÉS, X. 2010. Beyond *Drosophila*: RNAi in vivo and functional genomics in insects. *Ann. Rev. Entomol.* (United States). 55(1):111-128.
- BERNSTEIN, E.; CAUDY, A.A.; HAMMOND, S.M.; HANNON, G.J. 2001. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature.* (United Kingdom). 409(6818):363-366.
- BERNSTEIN, E.; KIM, S.Y.; CARMELL, M.A.; MURCHISON, E.P.; ALCORN, H.; LI, M.Z.; HANNON, G.J. 2003. Dicer is essential for mouse development. *Nat. Genet.* (United Kingdom). 35(3):215-217.
- BILLMYRE, R.B.; CALO, S.; FERETZAKI, M.; WANG, X.; HEITMAN, J. 2013. RNAi function, diversity, and loss in the fungal kingdom. *Chromosome Res.* (Netherlands). 21(6-7):561-572.
- BLEVINS, T.; PONTVIANNE, F.; COCKLIN, R.; PODICHETI, R.; CHANDRASEKHARA, C.; YERNENI, S.; PIKAARD, C.S. 2014. A two-step process for epigenetic inheritance in *Arabidopsis*. *Mol. Cell.* (United States). 54(1):30-42.
- BOROVSKY, D. 2005. Insect peptide hormones and RNA-mediated interference (RNAi): promising technologies for future plant protection. *Phytoparasitica.* (Netherlands). 33(2):109-112.
- BRENNECKE, J.; MALONE, C.D.; ARAVIN, A.A.; SACHIDANANDAM, R.; STARK, A.; HANNON, G.J.; 2008. An epigenetic role for maternally inherited piRNAs in transposon silencing. *Science.* (United States). 322(5906):1387-1392.
- BURTON, N.O.; BURKHART, K.B.; KENNEDY, S. 2011. Nuclear RNAi maintains heritable gene silencing in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (United States). 108(49):19683-19688.
- CASTEL, S.E.; MARTIENSSEN, R.A. 2013. RNA interference in the nucleus: roles for small RNAs in transcription, epigenetics and beyond. *Nat. Rev. Genet.* (United Kingdom). 14(2):100-112.
- CHEN, M.; DU, Q.; ZHANG, H.; WANG, X.; LIANG, Z. 2007. High-throughput screening using siRNA (RNAi) libraries. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* (United Kingdom). 7(3):281-291.
- DYKXHOORN, D.M.; LIEBERMAN, J. 2005. The silent revolution: RNA interference as basic biology, re-

- search tool, and therapeutic. *Ann. Rev. Med.* (United States). 56(1):401-423.
14. ELBASHIR, S.M.; LENDECKEL, W.; TUSCHL, T. 2001. RNA interference is mediated by 21-and 22-nucleotide RNAs. *Gene. Dev.* (United States). 15(2):188-200.
 15. FIRE, A.; XU, S.; MONTGOMERY, M.K.; KOSTAS, S.A.; DRIVER, S.E.; MELLO, C.C. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 391(6669):806-811.
 16. GORDON, K.H.; WATERHOUSE, P.M. 2007. RNAi for insect-proof plants. *Nat. Biotechnol.* 25(11):1231-1232.
 17. GUANG, S.; BOCHNER, A.F.; BURKHART, K.B.; BURTON, N.; PAVELEC, D.M.; KENNEDY, S. 2010. Small regulatory RNAs inhibit RNA polymerase II during the elongation phase of transcription. *Nature*. 465(7301):1097-1101.
 18. GUO, S.; KEMPHUES, K.J. 1995. par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. *Cell.* (United States). 81(4):611-620.
 19. HAJERI, S.; KILLINY, N.; EL-MOHTAR, C.; DAWSON, W.O.; GOWDA, S. 2014. Citrus tristeza virus-based RNAi in citrus plants induces gene silencing in *Diaphorina citri*, a phloem-sap sucking insect vector of citrus greening disease (Huanglongbing). *J. Biotechnol.* (Netherlands). 176:42-49.
 20. HAMMOND, S.M. 2005. Dicing and slicing: the core machinery of the RNA interference pathway. *FEBS Lett.* (Netherlands). 579(26):5822-5829.
 21. HOLOCH, D.; MOAZED, D. 2015. RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression. *Nat. Rev. Genet.* 16(2):71-84.
 22. HUVENNE, H.; SMAGGHE, G. 2010. Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: a review. *J. Insect Physiol.* (United Kingdom). 56(3):227-235.
 23. KHAJURIA, C.; VÉLEZ, A.; RANGASAMY, M.; WANG, H.; FISHILEVICH, E.; FREY, M.; SIEGFRIED, B. 2015. Parental RNA Interference of Genes Involved in Embryonic Development of the Western Corn Rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *Insect Biochem. Mol. Biol.* (United Kingdom). 63(1):54-62.
 24. KHAN, A.; ASHFAQ, M.; KISS, Z.; KHAN, A.; MANSOOR, S.; FALK, B. 2013. Use of recombinant tobacco mosaic virus to achieve RNA interference in plants against the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae). *PLOS One*. 8(9):e73657.
 25. KIM, Y.H.; ISSA, M.S.; COOPER, A.M.; ZHU, K.Y. 2015. RNA interference: Applications and advances in insect toxicology and insect pest management. *Pestic. Biochem. Physiol.* (United States). 120:109-117.
 26. KOCH, A.; KOGEL, K.H. 2014. New wind in the sails: improving the agronomic value of crop plants through RNAi-mediated gene silencing. *Plant Biotechnol. J.* (United Kingdom). 12(7):821-831.
 27. KOLE, R.; KRAINER, A.R.; ALTMAN, S. 2012. RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. *Nat. Rev. Drug Discovery.* (United Kingdom). 11(2):125-140.
 28. KUTTENKEULER, D.; BOUTROS, M. 2004. Genome-wide RNAi as a route to gene function in *Drosophila*. *Brief. Funct. Gen. Prot.* (United Kingdom). 3(2):168-176.
 29. LEVIN, D.M.; BREUER, L.N.; ZHUANG, S.; ANDERSON, S.A.; NARDI, J.B.; KANOST, M.R. 2005. A hemocyte-specific integrin required for hemocytic encapsulation in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35(5):369-380.
 30. LI, C.; VAGIN, V.V.; LEE, S.; XU, J.; MA, S.; XI, H.; ZAMORE, P.D. 2009. Collapse of germline piRNAs in the absence of Argonaute3 reveals somatic piRNAs in flies. *Cell*. 137(3):509-521.
 31. LIAO, Y.; TANG, L. 2015. Inducible RNAi system and its application in novel therapeutics. *Crit. Rev. Biotechnol.* (United Kingdom). 1:1-9.
 32. LINGEL, A.; SIMON, B.; IZARRALDE, E.; SATTLER, M. 2004. Nucleic acid 3'-end recognition by the Argonaute2 PAZ domain. *Nat. Struct. Mol. Biol.* (United Kingdom). 11(6):576-577.

33. LIU, J.; SMAGGHE, G.; SWEVER, L. 2013. Transcriptional response of BmToll9-1 and RNAi machinery genes to exogenous dsRNA in the midgut of *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 59(6):646-654.
34. LIU, S.; DING, Z.; ZHANG, C.; YANG, B.; LIU, Z. 2010. Gene knockdown by intro-thoracic injection of double-stranded RNA in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40(9):666-671.
35. MALONE, C.D.; BRENNECKE, J.; DUS, M.; STARK, A.; MCCOMBIE, W.R.; SACHIDANANDAM, R.; HANNON, G.J. 2009. Specialized piRNA pathways act in germline and somatic tissues of the *Drosophila* ovary. *Cell.* 137(3):522-535.
36. MAO, Y.B.; CAI, W.J.; WANG, J.W.; HONG, G.J.; TAO, X.Y.; WANG, L.J.; CHEN, X.Y. 2007. Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nat. Biotechnol.* 25(11):1307-1313.
37. MAO, Y.B.; TAO, X.Y.; XUE, X.Y.; WANG, L.J.; CHEN, X.Y. 2011. Cotton plants expressing CYP6AE14 double-stranded RNA show enhanced resistance to bollworms. *Transgenic Res. (Netherlands)*. 20(3):665-673.
38. MARTÍNEZ, J.; PATKANIOWSKA, A.; URLAUB, H.; LÜHRMANN, R.; TUSCHL, T. 2002. Single-stranded antisense siRNAs guide target RNA cleavage in RNAi. *Cell.* 110(5):563-574.
39. MELLO, C.; CONTE, D. 2004. Revealing the world of RNA interference. *Nature.* 431(7006):338-342.
40. NANDETY, R.S.; KUO, Y.W.; NOURI, S.; FALK, B.W. 2015. Emerging strategies for RNA interference (RNAi) applications in insects. *Bioengineered. (United States)*. 6(1):8-19.
41. NAPOLI, C.; LEMIEUX, C.; JORGENSEN, R. 1990. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell. (United States)*. 2(4):279-289.
42. OZCAN, G.; OZPOLAT, B.; COLEMAN, R.; SOOD, A.; LOPEZ-BERESTEIN, G. 2015. Preclinical and clinical development of siRNA-based therapeutics. *Adv. Drug Delivery Rev. (Netherlands)*. 87:108-119.
43. PITINO, M.; COLEMAN, A.D.; MAFFEI, M.E.; RIDOUT, C.J.; HOGENHOUT, S.A. 2011. Silencing of aphid genes by dsRNA feeding from plants. *PLOS One.* 6(10):e25709.
44. PRICE, D.R.; GATEHOUSE, J.A. 2008. RNAi-mediated crop protection against insects. *Trends Biotechnol. (United Kingdom)*. 26(7):393-400.
45. SARKIES, P.; MISKA, E.A. 2014. Small RNAs break out: the molecular cell biology of mobile small RNAs. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol. (United Kingdom)*. 15(8):525-535.
46. SCOTT, J.G.; MICHEL, K.; BARTHOLOMAY, L.C.; SIEGFRIED, B.D.; HUNTER, W.B.; SMAGGHE, G.; DOUGLAS, A.E. 2013. Towards the elements of successful insect RNAi. *J. Insect Physiol.* 59(12):1212-1221.
47. SEN, G.L.; BLAU, H.M. 2006. A brief history of RNAi: the silence of the genes. *FASEB. J. (United States)*. 20(9):1293-1299.
48. TAO, X.Y.; XUE, X.Y.; HUANG, Y.P.; CHEN, X.Y.; MAO, Y.B. 2012. Gossypol-enhanced P450 gene pool contributes to cotton bollworm tolerance to a pyrethroid insecticide. *Mol. Ecol. (United Kingdom)*. 21(17):4371-4385.
49. THAKUR, N.; UPADHYAY, S.K.; VERMA, P.C.; CHANDRASHEKAR, K.; TULI, R.; SINGH, P.K. 2014. Enhanced whitefly resistance in transgenic tobacco plants expressing double stranded RNA of v-ATPase gene. *PLOS One.* 9(3):e87235.
50. TOMOYASU, Y.; WHEELER, S.R.; DENELL, R.E. 2005. Ultrabithorax is required for membranous wing identity in the beetle *Tribolium castaneum*. *Nature.* 433(7026):643-647.
51. UPADHYAY, S.K.; CHANDRASHEKAR, K.; THAKUR, N.; VERMA, P.C.; BORGIO, J.F.; SINGH, P.K.; TULI, R. 2011. RNA interference for the control of whiteflies (*Bemisia tabaci*) by oral route. *J. Biosci. (India)*. 36(1):153-161.
52. WANG, Y.; JURANEK, S.; LI, H.; SHENG, G.; WARDLE, G.S.; TUSCHL, T.; PATEL, D.J. 2009. Nucleation, propagation and cleavage of target RNAs in Ago silencing complexes. *Nature.* 461(7265):754-761.

53. WANG, Z.; DONG, Y.; DESNEUX, N.; NIU, C. 2013. RNAi Silencing of the HaHMG-CoA Reductase Gene Inhibits Oviposition in the *Helicoverpa armigera* Cotton Bollworm. PLOS One. 8(7):e67732.
54. WHANGBO, J.S.; HUNTER, C.P. 2008. Environmental RNA interference. Trends. Genet. (United Kingdom). 24(6):297-305.
55. WHYARD, S.; SINGH, A.D.; WONG, S. 2009. Ingested double-stranded RNAs can act as species-specific insecticides. Insect Biochem. Mol. Biol. 39(11):824-832.
56. WURIYANGHAN, H.; FALK, B. 2013. RNA Interference towards the potato psyllid, *Bactericera cockerelli*, is induced in plants infected with recombinant tobacco mosaic virus (TMV). PLOS One. 8(6):e66050.
57. WURIYANGHAN, H.; ROSA, C.; FALK, B.W. 2011. Oral delivery of double-stranded RNAs and siRNAs induces RNAi effects in the potato/tomato psyllid, *Bactericera cockerelli*. PLOS One. 6(11): e27736.
58. XIONG, Y.; ZENG, H.; ZHANG, Y.; XU, D.; QIU, D. 2013. Silencing the HaHR3 gene by transgenic plant-mediated RNAi to disrupt *Helicoverpa armigera* development. Int. J. Biol. Sci. (Australia). 9(4):370.
59. XUE, X.Y.; MAO, Y.B.; TAO, X.Y.; HUANG, Y.P.; CHEN, X.Y. 2012. New approaches to agricultural insect pest control based on RNA interference. En: Jockusch, E. (ed). Small RNAs: their diversity, roles and practical uses. Ed. Academic Press (United States). p.73-106.
60. YOGINDRAN, S.; RAJAM, M.V. 2015. RNAi for Crop Improvement. En: Bahadur, B.; Rajam, M.V.; Sahijram, L.; Krishnamurthy, K.V. (eds). Plant Biology and Biotechnology. Ed. Springer India (New Delhi). p.623-637.
61. ZAMORE, P.D.; TUSCHL, T.; SHARP, P.A.; BARTEL, D.P. 2000. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. Cell. 101(1):25-33.
62. ZHA, W.; PENG, X.; CHEN, R.; DU, B.; ZHU, L.; HE, G. 2011. Knockdown of midgut genes by dsRNA-transgenic plant-mediated RNA interference in the hemipteran insect *Nilaparvata lugens*. PLOS One. 6(5):e20504.
63. ZHANG, X.; ZHANG, J.; ZHU, K.Y. 2010. Chitosan/double-stranded RNA nanoparticle-mediated RNA interference to silence chitin synthase genes through larval feeding in the African malaria mosquito (*Anopheles gambiae*). Insect. Mol. Biol. (United Kingdom). 19(5):683-693.
64. ZHAO, C.; GONZALES, M.A.A.; POLAND, T.M.; MITTAPALLI, O. 2015. Core RNAi machinery and gene knockdown in the emerald ash borer (*Agilus planipennis*). J. Insect Physiol. 72:70-78.
65. ZHU, F.; SAMS, S.; MOURAL, T.; HAYNES, K.F.; POTTER, M.F.; PALLI, S.R. 2012. RNA interference of NADPH-cytochrome P450 reductase results in reduced insecticide resistance in the bed bug, *Cimex lectularius*. PLOS One. 7(2):e31037-e31037.
66. ZHU, F.; XU, J.; PALLI, R.; FERGUSON, J.; PALLI, S.R. 2011. Ingested RNA interference for managing the populations of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Pest. Manag. Sci. (United Kingdom). 67(2):175-182.
67. ZOU, G.M.; WU, W.; CHEN, J.; ROWLEY, J.D. 2003. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in differentiated mouse ES cells. Biol. Cell. (United States). 95(6):365-371.

Recibido: Octubre 14 de 2015

Aceptado: Febrero 4 de 2016

Cómo citar:

Noriega, D.; Valencia, A.; Villegas, B. 2016. ARN de interferencia (ARNi): una tecnología novedosa con potencial para el control de insectos plaga. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 25-35.

PRELIMINARY EVALUATION OF PATHOGENS AFFECTING *Eleodes longicollis punctigerus* BLAISDELL (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE PATÓGENOS QUE AFECTAN A *Eleodes longicollis punctigerus* BLAISDELL (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

Daniel Estiven Quiroga-Murcia¹, Ingeborg Zenner de Polanía², Francisco Javier Posada-Flórez³

¹ Joven Investigador Grupo de Investigación Fitosanidad, Estudiante Facultad de Ingeniería Agronómica. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, e-mail: quirogaedaniel@hotmail.com; ² I.A., Ph.D., Docente-Investigador. U.D.C.A, e-mail: izenner@udca.edu.co; ³ Ing. Agrónomo, Entomólogo Ph.D., Investigador Científico Independiente, e-mail: fjavierposada@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Dic. Cient. 19(1): 37-43, Enero-Junio, 2016

SUMMARY

The false wire-worm *Eleodes longicollis punctigerus*, despite of been registered more than 30 years ago, is until now considered as an emerging pest in some areas of the Sabana de Bogotá, in Colombia. Therefore, within an integrated management program, the use of biological control agents have to be considered. Under field conditions, larvae and adult wireworms were found to be affected by pathogenic microorganisms, such as *Paecilomyces* sp., *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and nematodes. Preliminary studies to determine their pathogenicity in the laboratory were undertaken, showing that none of them were highly pathogenic. An alternative explanation may be that *E. longicollis* may be tolerant to the infection or the spore concentration used was too low, because the highest larval mortality observed was only 20% with the treatment pos. *Paecilomyces* sp., at 1×10^7 spore concentrations. Adult mortality of 22.5% with *M. anisopliae* at 1×10^7 was obtained. It was also found that the insect is susceptible to nematodes. Both nematodes and fungi should be studied under other conditions, with higher concentrations, in order to be incorporated as a complement into a strategy of preventive control.

Key words: False wire-worm, micro-biologic control, fungi, nematode.

RESUMEN

El falso gusano alambre *Eleodes longicollis punctigerus*, a pesar de haberse detectado hace más de 30 años, apenas últimamente, se perfila como una plaga emergente en algunas

áreas de la Sabana de Bogotá, Colombia. Por ello, dentro de un plan de manejo integrado, se plantea el uso del control biológico y, luego de encontrar en campo larvas y adultos afectados por microorganismos entomopatógenos, tales como *Paecilomyces* sp., *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y por nematodos, se decidió determinar la patogenicidad de éstos en el laboratorio. Los resultados mostraron que ninguno de ellos es altamente patogénico, existiendo la posibilidad que el insecto es tolerante a la infección o que la concentración de esporas empleada fue muy baja, ya que la mortalidad larval máxima observada fue del 20%, con el tratamiento de pos. *Paecilomyces* sp., concentración de esporas 1×10^7 . Sobre el adulto, se observó una mortalidad del 22,5%, con el hongo *M. anisopliae*, a una concentración del 1×10^7 ; también, se detectó que el insecto es susceptible a nematodos. Se concluye que, tanto estos últimos como los hongos mencionados, deben ser estudiados bajo otras condiciones y en concentraciones más altas, para poderlos incorporar como complemento de una estrategia de control preventivo, a su debido tiempo antes de la siembra, y con condiciones de adecuada humedad del suelo.

Palabras clave: Falso gusano alambre, control microbiológico, hongos, nematodo.

INTRODUCTION

Biological control has been for years a tool for population management of insect crop pests, being defined by Nicholls (2008) as the use of beneficial organisms against pests that cause damage. This concept of biological control can be based on the principle that in nature all organisms possess

antagonists, which either compete or eliminate them, a process being essential for life equilibrium (Hanson, 1993).

Microorganisms are components of biological control, the so called entomopathogens, including viruses, bacteria, protozoa, rickettsia, fungi and nematodes, which can be found affecting insects, establishing symbiotic relationships such as parasitism and also causing disease and death, contributing therefore to the natural regulation of insect populations (Lacey & Kaya, 2007).

Currently, many organisms are studied and used in microbiological control programs. Successful alternatives, using entomopathogenic fungi to control arthropod pests, inhabiting water and soil environments have been developed, using primarily the genera *Metharhizium*, *Beauveria*, *Sporothrix*, *Nomuraea*, *Paecilomyces* among others (Alves & Lopes, 2008). According to Posada & Pava-Ripoll (2010), *Bacillus* spp., *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) and *Metharizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) are the most studied fungi being mentioned in the literature, to control several insect pests. Vieira Tiago *et al.* (2014) also highlighted *M. anisopliae* as the fungus species most studied and used for control purposes, due, among other characteristics, to its persistence in the soil.

Nematodes have multiple relationships with insects; they can be parasites, affecting their reproductive ability (Kaya & Stock, 1997), but they can also enter insects and release bacteria that are responsible for the individual's death by septicemia (Rosales *et al.* 2009).

Both fungi and nematodes are recommended as biological control agents of insect pests in crops of economic importance; such is the case of *B. bassiana* for the management of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). This fungus is the most commonly used and widely distributed natural enemy of this pest (Posada & Pava-Ripoll, 2010).

Beauveria bassiana is also efficient against tenebrionids such as *Alphitobius diaperinus* in chicken houses (Steinkraus *et al.* 1991) and against *Tribolium castaneum* pest of stored grains (Pedrini *et al.* 2010). *Metharizium anisopliae* is used to control insects of several families of the Order Coleoptera, such as Curculionidae and Scarabidae, common pests of rice, citrus and sugarcane (Nicholls Estrada, 2008). It also affects wireworms of the genus *Agriotes* (Elateridae) (Kabaluk & Ericsson, 2007; Ericsson *et al.* 2007). Another species, *M. brunneum* has been inclusive, evaluated against ticks of the genus *Ixodes* (Acari: Ixodidae).

The nematode genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* form part of the integrated management program of *Premnotrypes vorax* and *Tecia solanivora* in potato crops

(Maggiarani & Gudiño, 1996). *Steinernema feltiae* and *S. carocapsae* (Rhabditia Steinernematidae) are considered as promising tenebrionid control agents for *A. diaperinus* (Geden *et al.* 1987) and *Cyanaeus angustus* (Nansen *et al.* 2013), respectively.

The false wire-worm, recently identified as *Eleodes longicollis punctigera* Blaisdell, by Dr. Charles A. Triplehorn, Ohio State University, United States, based on specimens sent by Dr. Francisco Javier Posada Flórez, and previously referenced in Colombia as *Eleodes omissoides* Blaisdell (Coleoptera: Tenebrionidae), causes seed losses of various plant species, especially grasses and seedlings that reach germination. Larvae and adults of the pest are considered a limiting factor in the affected crops, because the attack requires replanting, and the use of insecticides that increase costs (Quiroga-Murcia & Posada-Flórez, 2013; Zenner de Polanía *et al.* 2014; Calkins & Kirk, 1973; Rogers *et al.* 1988). It is worthwhile mentioning, that *E. longicollis punctigerus* was recorded for the first time in Mexico and described by Blaisdell in 1935, but in this country apparently it never became a pest.

Information on the genus *Eleodes* is scarce and the literature refers primarily to the taxonomy and the description of new species from Mexico and the United States (Triplehorn, 2010; Triplehorn & Cifuentes, 2011; Triplehorn & Thomas, 2011); South-American data outside those from Colombia, to our knowledge, do not exist.

Eleodes longicollis punctigera receives the common name of false wireworm because of the larval resemblance to the larvae of the family Elateridae (Coleoptera) which are considered the true wire-worms. This generic name is given to the larvae of various insects of the genera *Epitragus*, *Anaedus*, *Blapstinus*, *Lobometopon* and *Ullus* spp. (Saunders *et al.* 1998), all of the family Tenebrionidae, known pests of rice, sorghum, corn, pineapple, cotton and pastures.

Previously identified as *E. omissoides* in Colombian publications and in the newsletter Entomological Notes and News (NNE), the insect was first recorded in the department of Boyacá in 1977 and then in Cundinamarca in 1980 attacking pea (*Pisum sativum*) seeds. From then on the bulletin sporadically mentions the insect in several municipalities of Cundinamarca such as Madrid, Mosquera, Bojacá and Facatativá and Tunja (Boyacá). In addition, the authors observed that the insect is susceptible to entomopathogenic fungi and nematodes. The susceptibility of *E. longicollis* was intended to be confirmed with this research, even though according to Pears (2009) false wire-worms do not have registered biological control agents.

This study, evaluated the potential of some naturally occurring entomopathogens, found at "El Remanso", research unit

of the University of Applied and Environmental Sciences, U.D.C.A Bogotá, Colombia. These biocontrol agents can be part of a sustainable control that could be integrated into a management program of *E. longicollis*.

MATERIALS AND METHODS

Most studies, if not stated otherwise, were carried out under laboratory conditions, $18 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 80% R.H. at the University.

Collection, breeding and survey: The collection of adults, larvae, pupae and eggs of the pest was done at "El Remanso", during three sampling periods. Two-hundred adults and some larvae were hand captured. Adults were separated by sex, resulting in 100 males and 100 females, then placed in sterile soil and fed corn and wheat seeds, and cooked rice. Their unaccounted F1 larval progeny was separated and fed with wheat. Eggs obtained from 31 adults of one sample date were counted, obtaining 70 eggs, from which 58 larvae emerged. Larvae were placed in sterilized moistened soil and fed with cooked rice.

Adults were in rectangular plastic containers (22 x 14 x 8cm high), fed with corn and wheat seeds. Most adults died, observing a survival of 15 after 10 months. Many of them were found dead with signs of cannibalism; while other showed signs of fungal infection, such as a rigid appearance, absence of odor and apparent absence of fungal infection signs. Dead adults were placed in vials with moist soil to observe sporulation.

During the first month larvae affected by *Metharhizum anisopliae* and *Beauveria bassiana* and adults affected by *M. anisopliae* were detected; two months later spores of the fungus identified as possibly belonging to the genus *Paecilomyces* were observed expanding on the soil surface, proceeding from one larva. No signs or symptoms of nematode infection were detected.

Isolation and culture of entomopathogenic organisms:

After sporulation, the fungi obtained from the insects were placed in moist plastic growing chambers, and introduced to a PDA (potato, dextrose agar) medium inside polystyrene incubators, to obtain the fungal growth and development. A culture of the fungus pos. *Paecilomyces* was conducted in PDA obtaining a very good growth.

Once pure fungal cultures were obtained the effective SDLYM medium (Kaya & Stock, 1997), was prepared. SDLYM is composed of Agar-Sabouraud, milk, egg yolk, agar, dextrose and yeast extract.

Because no nematodes were found in false wireworm larvae, they were collected from the white grub *Clavipalpus*

ursinus at El Remanso. These larvae were placed in plastic containers with sterilized soil and moisture at field capacity. Approximately one month later, two larvae with possible symptoms of nematode infection (showing brown color) were observed. *Clavipalpus ursinus* larvae were introduced in modified White traps, which consist of plastic vials with a foam disc to prevent mites, from entering, that fed on the filter paper and the insect's cadavers. After obtaining nematodes, a solution of $20 \text{ JI} / \text{cm}^3$ was prepared and within the same White traps, false wire-worm larvae of diverse instars were inoculated.

Inoculation and evaluation of pathogenicity: To determine the fungal pathogenicity on *E longicollis* larvae, 280 plastic vials, filled with 6g of previously sterilized soil were prepared, placing one larva per vial for each fungus species. As control 40 untreated larvae were used. Fungi produced in the above mentioned medium were applied to the larvae at two concentrations. Mortality was assessed every second day during 60 days for a total of 21 evaluations; during each observation distilled water, depending on the soil moisture, and two wheat grains as larval food were added to the vial.

Treatments corresponded to the inoculation with native strains of *Metarhizum*, *Beauveria* and pos. *Paecilomyces* at concentrations of 1×10^5 and 1×10^7 , and the control which consisted of distilled water. For this purpose, spore count was performed by dilution of a concentrated solution, using a hemocytometer (Kaya & Stock, 1997; Vélez *et al.* 1997).

Since only adults infected by *M. anisopliae* were detected, the experiment was performed with this fungus, extracted two months before inoculation and propagated in the medium SDLYM and with a control. A solution of 1×10^7 spores was applied. Twenty females and 20 males per treatment, same number for the control were evaluated; for a total of 80 experimental units. During 20 days a total of eight observations were made, each every second day; and during this observation time food and water was provided as necessary.

To test the pathogenic nematode effect, those recovered in the white grubs, belonging to the family Sterneinematidae (identified using) (Kaya & Stock, 1997). Seventy two plastic vials, 36 for each treatment for each treatment, (nematode inoculation and control), with 6g of previously dried soil for 48 h received 3mL of distilled water. After 24 hours one *E. longicollis* larva and a corn grain was introduced in each vial. Larval instars were not determined at the start of the experiment and they varied from two-five instars. A nematode solution, containing $20 \text{ JI} / \text{cm}^3$ was prepared (Saenz, 2003), which has been the most effective treatment invading larvae of *Clavipalpus ursinus* (Coleoptera). To each vial 1 cm^3 of the solution was applied; evaluations were performed every 72 hours for 15 days.

The soil was kept moist applying if necessary, every third day 1cm³ of water. When noting dead larvae, the cadaver was extracted, washed with a solution of water and 0.5% hypochlorite, and placed in a modified White trap to confirm the presence of nematodes.

Data were analyzed with a qualitative approach and a descriptive-comprehensive scope, calculating and interpreting the larval and adult percent mortality.

RESULTS AND DISCUSSION

Symptoms with the treatments with *Metharizium* were dots and brown spots on the cuticle of the larva; the spots were observed 8-10 days before the insect's death. Later a slight change in the color of the larva was noted and a rigid consistency was detected. After death, a white mycelium initiated at the ventral side between the junction of the externits and pleurits. Confirmation of the fungal infection was made when an olive green sporulation was detected and under the microscope spores in columns appearance were observed.

When infected with *Beauveria*, the larva revealed a dark coloration at its anal area; dead individuals had a rigid consistency and the translucent larvae showed a whitish color. The initial appearance of mycelium showed where the dark spot was originally perceived, then covered the entire body. *Beauveria* infection was confirmed by the observation of the spores which provided a powdery appearance to the larva and by small spherical sacks covering the body (Posada

& Pava-Ripoll, 2010). Under the microscope the globular spores, characteristics of this fungus, were detected.

Finally, in the case of pos. *Paecilomyces* the fungus did not produce spots, but a total color change of the whole dead body; the color ranged from intense yellow to salmon red. The larva was quite rigid and a few days after death, a rough texture of the cuticle was detected. The occurrence of white mycelium started between the abdominal segments; although no fungal sporulation was observed, the symptoms and signs were identical to those observed in the original specimens, from which the inoculum was taken.

Figure 1 shows the percentage of larval mortality after 15 days of inoculation. Before this all larvae were alive, except for those exposed to 1x10⁵ of pos. *Paecilomyces*, all treatments produced the death of 5% of the 20 inoculated larvae. A maximum of 20% mortality throughout the trial was observed only with the high dose of this fungus at day 60. The concentration 1x10⁵ achieved 15% mortality after two months. The higher dose, 1x10⁷ of *M. anisopliae* caused 12.5% mortality, while the same high dose of *B. bassiana* at day 60 showed only 7.5% mortality.

Only *Paecilomyces* revealed a tendency to increase mortality over time. The other pathogens did not improve their mortality rate, *Metarhizium* from day 42 and *Beauveria* from day 36 on after inoculation.

Although, in general terms, all pathogens initiated their action and killed *E. longicollis* larvae, it was required a relatively

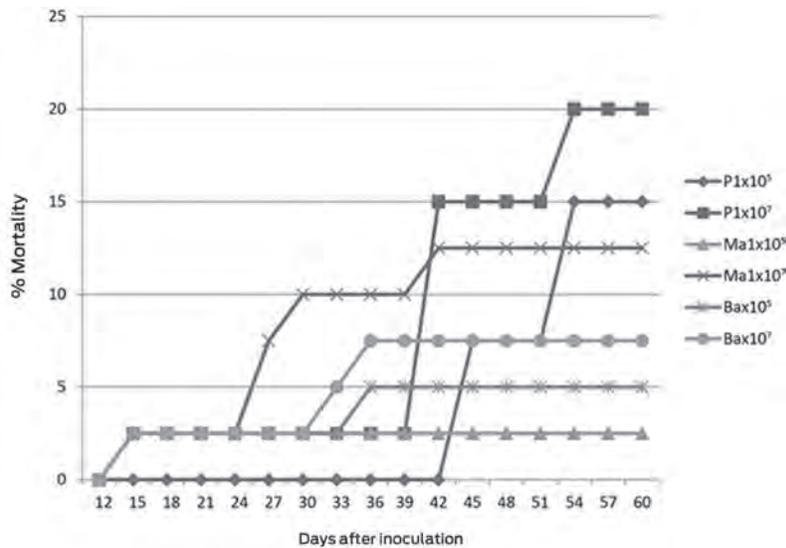


Figure 1. Percent mortality of the larvae of *Eleodes longicollis punctigera* subjected to different concentrations of entomopathogenic fungal spores. (P: *Paecilomyces*; Ma: *Metharhizium anisopliae*; Ba: *Beauveria bassiana*, followed by concentration employed).

long time for an increase in larval mortality. It is known that the three fungi are not fast acting. The low efficiency may be due to a natural larval tolerance to the infection process, i.e. the penetration of spores through the cuticle. For this action, entomopathogenic fungi produce extracellular enzymes, whose function in the pathogenicity corresponds to the suppression of the immune system and dissolution of the insect cuticle, among others (Gomes Fernandes *et al.* 2012; Tiemi Ito *et al.* 2007). It is possible, that the production of these enzymes from the strains used in this work was not appropriate to achieve a proper penetration through the chitin constituting the cuticle of *E. longicollis punctigerus*.

The same consideration may be true for the low pathogenic action of *M. anisopliae* against males and females at 1×10^7 . Mortality of the first insects was detected after six days, with three dead males and one dead female. Three days later increased to 12% mortality with one more insect of each sex, for a total of five males (25%) and three females (15%) dead.

In figure 2 results using the nematode, *Steinernema* sp., at a concentration of 20 infective juveniles / cm^3 is shown. At day three one dead individual was initially detected; at day ten 22.2% of dead larvae and at the end of the experiment 12 individuals representing 33.3%. The figure 2 shows a clear trend of increased larval mortality over time. Nansen *et al.* (2013) mention that the most important conditions for the development and the infection of another Tenebrionidae, *Cybaeus angustus*, by nematodes is soil moisture, which in this experiment was apparently adequate for the movement and action of the nematode. Maybe the relatively low efficiency has to do with the origin of the nematode, which was obtained from a beetle of another family, having a certain influence. Although nematodes are not considered specific, Geden *et al.* (1985) obtained satisfactory results controlling larvae of another tenebrionid, *A. diaperinus*, dispersing infective juveniles of *Steinernema feltiae* to the floor of poultry houses.

Comparing the maximum larval mortality produced by fungi and nematodes, it appears that the latter causes a faster and increased mortality of larvae of the false wire-worm, thus showing an advantage for the possible use within a management program of the insect.

The results of these preliminary experiments revealed a lower mortality rate as expected, based on previous field observations. Apparently, the insect is tolerant to infection by these fungi, at least under the conditions of the trial. In the case *M. anisopliae*, the low mortality rate can be attributed to adverse environmental conditions, since infection is influenced by temperature, moisture and particular conditions such as pH, organic matter content and texture, among other physical properties (Posada & Pava-Ripoll, 2010; Bidochka *et al.* 1998; Quesada-Moraga *et al.* 2007) not evaluated in this study. These and other experimental conditions also influence the efficiency of *B. bassiana*. Steinkraus *et al.* (1991) showed that the susceptibility to the fungus in the tenebrionid *Alphitobius diaperinus*, is influenced by the hosts instar, the substrate and the formulation of the inoculum.

In addition, it should be noted that the experiments were conducted with soil and although the presence of micro, meso and macro organisms were controlled, conditions such as the vials moisture, temperature and soil characteristics were difficult to control. They influence infection by microorganisms and the insects contact with the microorganism or its infective structures.

The contact of microorganisms with the host is a very important factor that should be taken into account when assessing its pathogenicity. In this context, low larval and adult susceptibility may be due to the low affinity of fungi with the rigid exoskeleton. In the case of nematodes, a certain soil humidity is required, sufficient to allow their movement through the soil and recognize the host to infect.

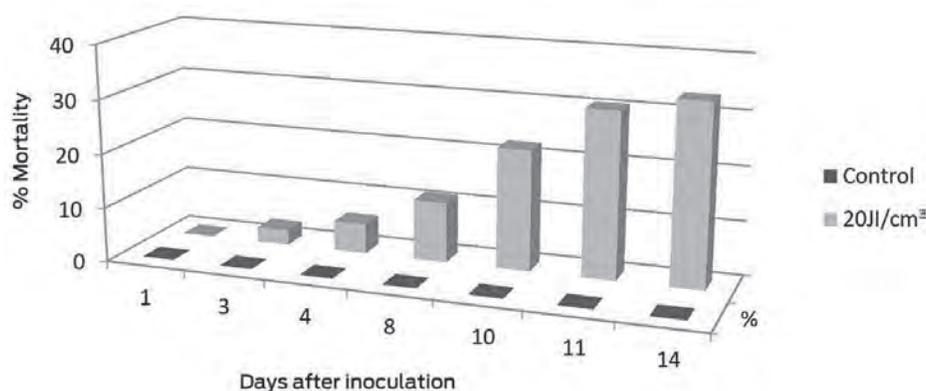


Figure 2. Percent mortality of larvae of *Eleodes longicollis punctigera* caused by a nematode of the family Steinernematidae at a concentration of 20 JI / cm^3 in contrast to the control.

Another factor to consider, as mentioned above, is that the soil used was completely free of any organism, differing from natural conditions were mites, springtails and insects not susceptible to the infection of the microorganisms evaluated, could serve as means of transport so that larvae of the target species could come into contact with the pathogen employed.

From this preliminary and basic research, it can be concluded that both, the entomopathogenic fungi and the nematode could be part of an integrated management program of the false wire-worm, once a suitable dose of inoculation and the conditions of optimal field condition for adult and larval infection are established. Also it is considered important to study the molecular affinity of spores of entomopathogenic and the insects instar.

Acknowledgment: The authors thank the U.D.C.A for funding the research under the context of "young researcher", first author of this article. **Conflicts of interest:** This manuscript was prepared and revised with the participation of all authors, who declare that there is no conflict of interest that could put in danger the validity of the results.

BIBLIOGRAPHY

- ALVES, S.B.; LOPES, R.B. 2008. Controle microbiano de pragas na América Latina; avances e desafios. Piracicaba, FEALQ. 414p.
- BIDOCHKA, M.J.; KASPERSKI, J.E.; WILD, G.A.M. 1998. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitat. Can. J. Botany. 76(7):1198-1204.
- BLAISDELL, F.E. 1935. New Species of *Eleodes* from Mexico in the British Museum (Col: Tenebrionidae). Stylops: J. Taxonomic Entomol. 4(7):156-160.
- CALKINS, C.O.; KIRK, V.M. 1973. Food preference of a false wireworm, *Eleodes suturalis*. Environ. Entomol. 2:105-108.
- ERICSSON, J.D.; KABALUK, J.D.; GOETTEL, M.S.; MYERS, J.H. 2007. Spinosad interacts synergistically with the insect pathogen *Metarhizium anisopliae* against the exotic wireworms *Agriotes lineatus* and *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae). J. Econ. Entomol. 100(1):31-38.
- GEDEN, C.J.; ARENDS, J.J.; AXTELL, R.C. 1987. Field trials of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) for control of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in commercial broiler and turkey houses. J. Econ. Entomol. 80:136-141.
- GEDEN, C.J.; AXTELL, R.C.; BROOKS, W.M. 1985. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*, *S. glaseri* and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). J. Entomol. Sci. 20:331-339.
- GOMES FERNANDES, E.; MAIA VELÉRIO, H.; FELTRIN, T.; VAN DER SAND, S.T. 2012. Variability in the production of extracellular enzymes by entomopathogenic fungi grown on different substrates. Braz. J. Microbiol. 43:827-833.
- HANSON, P. 1993. Control Biológico de Insectos. Edit. CATIE. Turrialba (Costa Rica). 40p.
- KABALUK, J.T.; ERICSSON, J.D. 2007. Environmental and behavioral Constraints on the infection of wireworms by *Metarhizium anisopliae* Environ. Entomol. 36(6):1415-1420.
- KAYA, H.K.; STOCK, S.P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L.A. (ed.) Manual of techniques in insect pathology. Biological Techniques Series. San Diego, London: Academic Press, p.281-324.
- LACEY, L.A.; KAYA, H.K. 2007. Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Edit. Springer. Países Bajos. 868p.
- MAGGIORANI, A.; GUDIÑO, S. 1996. Uso de nematodos entomopatógenos como una alternativa para el control de insectos plagas. EN: FONAIAP Divulga. No 53. Abril-Junio.
- NANSEN, C.; STOKES, B.; JAMES, J.; PORTER, P.; SHIELDS, E.J.; WHEELER, T.; MEIKLE, W.G. 2013. Biological control agent of larger black flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae): a nuisance pest developing in cotton gin trash piles. J. Econ. Entomol. 106(2):648-652.
- NICHOLLS ESTRADA, C.I. 2008. Control Biológico de Insectos con un Enfoque Agroecológico. Edit. Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia) 282p.
- PEARS, F.B. 2009. High Plants Integrated Pest Management: False Wireworm. Disponible desde internet en: http://wiki.bugwood.org/HPIPM:False_Wireworm (con acceso 02/09/12).

17. PEDRINI, N.; VILLAVERDE, M.I.; FUSE, C.B.; DAL BELLO, G.M.; JUÁREZ, M.P. 2010. *Beauveria bassiana* infection after colony development and defensive secretions of the beetles *Tribolium castaneum* and *Ullomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* 103(4):1094-1099.
18. POSADA F., F.J.; PAVA-RIPOLL, M. 2010. Enemigos Naturales de la Broca del café con énfasis en los Hongos Entomopatógenos. Edi. U.D.C.A. Bogotá. Colombia. 239p.
19. QUESADA-MORAGA, E.; NAVAS-CORTÉS, J.A.; MARANHÃO, E.A.A.; ORTIZ-URQUIZA, A.; SANTIAGO-ALVAREZ, C. 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycol. Res.* 111:947-966.
20. QUIROGA-MURCIA, D.; POSADA-FLÓREZ, F.J. 2013. Daño ocasionado por el falso gusano alambre *Eleodes* sp. *omissoides* Blaisdell (Coleoptera: Tenebrionidae) en semillas de gramíneas y leguminosas. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 16(2):391-400.
21. ROGERS, L.E.; WOODLEY, N.E.; SHELDON, J.K.; BEEDLOW, P.A. 1988. Diets of darkling beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) within a Shrub-Steppe ecosystem. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 81:782-791.
22. ROSALES, C.L.; RODRÍGUEZ, H.M.G.; ENRIQUE, R.; PUENTES, L.; GARCÍA, J. 2009. Cría Masiva de Nematodos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plagas. En: INIA Divulga 12. p.19-22.
23. SAENZ, A. 2003. Eficacia de invasión de *Tecia solanivora* y *Clavipalpus ursinus* por el nematodo *Steinernema feltiae*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología.* 67:35-43.
24. SAUNDERS, L.J.; COTO, T.D.; KING, B.S.A. 1998. Plagas Invertebradas de Cultivos Anuales Alimenticios en América Central. Edit. CATIE. Turrialba (Costa Rica). 305p.
25. STEINKRAUS, D.C.; GEDEN, C.J.; RUTZ, D.A. 1991. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliales): effects of host stage, substrate, formulation, and host passage. *J. Med. Entomol.* 28(3):314-321.
26. TIEMI ITO, E.; VARÉA-PEREIRA, G.; TOMOE MIYAGUI, D.; PIMENTA PINOTTI, M.H.; OLIVEIRA JANEIRO NEVES, P.M. 2007. Production of extracellular proteases by Brazilian strains of *Beauveria bassiana* reactivated on coffee Berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 50(2):217-223.
27. TRIPLEHORN, C.A. 2010. Notes on three species of *Eleodes* Eschenholtz (Coleoptera: Tenebrionidae) and description of a new species. *Coleopt. Bull.* 64:373-378.
28. TRIPLEHORN, C.A.; CIFUENTES RUIZ, P. 2011. A new species of *Eleodes* (*Eleodes*) from Mexico, with ecological and phonological notes (Coleoptera: Tenebrionidae). *Zootaxa.* 2937:66-68.
29. TRIPLEHORN, C.A.; THOMAS, D.B. 2011. Studies in the genus *Eleodes* Eschscholtz with a revision of the subgenus *Melaneleodes* Blaisdell and *Omegeleodes*, new subgenus (Coleoptera: Tenebrionidae: Eleodini). *Transact. Am. Entomol. Soc.* 137:251-281.
30. VÉLEZ A., P.E.; POSADA F., F.J.; MARÍN, P.; BUSTILLO P., A.E.; GONZALES G., M.T.; OSORIO, E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Boletín Técnico*, N° 17. Cenicafé (Colombia). 37p.
31. VIEIRA TIAGO, P.; TINTI DE OLIVEIRA, N.; ALVES LIMA, E.A. d. L. 2014. Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular and ecological aspects. *Ciência Rural.* 44(4):645-651.
32. ZENNER DE POLANÍA, I.; QUIROGA-MURCIA, D.E.; GÓMEZ PIEDRAS, J.J.; BLANCO, C.A. 2014. A false wireworm (Coleoptera: Tenebrionidae) acting as a cutworm of tomato plants in greenhouses. *Southwestern Entomologist.* 39(1):37-47.

Received: 22 October 2015

Accepted: 28 March 2016

How to cite (Cómo citar):

Quiroga-Murcia, D.E.; Zenner de Polanía, I.; Posada-Flórez, F.J. 2016. Preliminary evaluation of pathogens affecting *Eleodes longicollis punctigerus* Blaisdell (Coleoptera: Tenebrionidae). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 37-43.

EPIDEMIOLOGÍA DEL TIZÓN TARDÍO [*Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY] EN QUINCE INTRODUCCIONES DE TOMATE SILVESTRE

EPIDEMIOLOGY OF LATE BLIGHT [*Phytophthora infestans* (MONT.) DE BARY] IN FIFTEEN INTRODUCTIOS OF WILD TOMATO

Luisa Fernanda Cardona-Piedrahita¹, Jairo Castaño-Zapata², Nelson Ceballos-Aguirre³

¹ Magister en Fitopatología, Programa de Maestría, Facultad Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, e-mail: luisafernandacardona@gmail.com; ² Ph.D. en Fitopatología, Profesor Titular, Facultad Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, e-mail: jairo.castano_z@ucaldas.edu.co; ³ Doctorado en Ciencias Agrarias, Profesor Asistente, Facultad Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, Calle 65 No. 26-10, Manizales-Colombia, e-mail: nelson.ceballos@ucaldas.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 45-54, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

La mayoría de los genes responsables de la resistencia en tomate a hongos, bacterias, virus y nematodos fitoparásitos han sido derivados de especies silvestres. Es así, como se deben evaluar e identificar genotipos silvestres promisorios, por su respuesta a los principales problemas patológicos de la especie cultivada, para considerarlos en programas de mejoramiento del tomate. Por consiguiente, es necesario evaluar la resistencia de introducciones silvestres del tomate al tizón tardío, causado por *Phytophthora infestans*, la enfermedad más devastadora en este cultivo. El estudio, se realizó en la granja Montelindo de la Universidad de Caldas, en quince introducciones de tomate silvestre, bajo dos sistemas de producción: libre exposición y semitecho. El diseño experimental fue parcelas divididas; las parcelas principales fueron los dos sistemas de producción; las subparcelas, las introducciones de tomate con cuatro repeticiones. Las variables evaluadas fueron porcentaje de severidad, tasa de desarrollo (r) y área bajo la curva del desarrollo (ABCDE) del tizón tardío; asimismo, se calcularon los coeficientes de regresión de las variables analizadas. Finalmente, se realizó análisis de varianzas y pruebas de promedio tipo Duncan. De acuerdo a los análisis, bajo semitecho, se obtuvieron los valores numéricos más bajos de severidad final, r y ABCDE, con 47%, 0,09 y 1.133, respectivamente, sobresaliendo las introducciones LA1480, IAC1686, LA2076, LA2131 y LA2692; a libre exposición, se obtuvo los más altos valores de severidad final, r y ABCDE, con 77%, 0,15 y 1.573, respectivamente; sin embargo, LA1480 y LA2076 tuvieron los valores más bajos en este sistema de producción.

Palabras clave: Chromista, recursos fitogenéticos, severidad, solanácea, tasa de desarrollo, área bajo la curva del desarrollo de la enfermedad.

SUMMARY

Most of the genes responsible of resistance of tomato to fungi, bacteria, virus and nematodes, has been derivate from wild species of tomato. Hence, it is necessary to evaluate and identify promising wild genotypes to observe their reaction to the main pathological problems of cultivated species, in order to be considered in future programs of tomato production improvement. To reach this purpose, it is necessary to carry out epidemiological studies and evaluate wild introductions against tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*, the most devastating disease worldwide. The study was conducted with fifteen wild tomato introductions at the Montelindo's farm of the Universidad de Caldas, in two production systems: free exposition and semi cover. Split plots was the experimental design used, being the main plots the production systems, and the subplots, the tomato introductions, with four replications. The evaluated variables were: severity (%), rate of disease development (r) and area under the disease progress curve (AUDPC) of late blight. In addition, the regression coefficients of the evaluated variables was calculated. Finally, an analysis of variance and Duncan's tests was conducted. According to the analysis, under the semi cover system the lowest numerical values for final severity, r and AUDPC, with 47%, 0.09 and 1,133, was obtained, respectively; standing out the introductions LA1480, IAC1686, LA2131 and LA2692. In the free exposition system the highest values of these parameters with 77%,

0.15 and 1,573, respectively, were obtained; however, the introductions LA1480 and LA2075 showed the lowest values under this production system.

Key words: Chromista, phylogenetic resources, severity, solanaceae, rate of disease development, area under the disease progress curve.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) constituye el 30% de la producción hortícola mundial y, en Colombia, es la hortaliza más importante. Para el 2014, la producción de tomate fue de 173.580t, con un área de 7.467ha y un rendimiento de 23,2t/ha (DANE- ENA, 2014).

Uno de los avances tecnológicos más importantes de los seres humanos es la domesticación de las especies vegetales, para la producción de comida y otros usos industriales, como fibras, resinas, materias primas, ornamentales, entre otros. Se ha utilizado secuenciación de alto rendimiento, para identificar cambios en la secuencia de ADN y la expresión de genes, que diferencian al tomate cultivado y sus parientes silvestres. También, se han identificado cientos de genes candidatos y se han desarrollado nuevas secuencias de proteínas o han cambiado los niveles de expresión, en respuesta a la selección natural, en parientes silvestres de tomate (Koenig *et al.* 2013).

El tomate es susceptible a muchas enfermedades, como las causadas por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout y *Ralstonia solanacearum* Smith, que son algunos de los patógenos más conocidos, por las pérdidas entre el 40 y 70% que ocasionan en las solanáceas (Chavarro & Ángel, 2005).

El tizón tardío es causado por el Chromista *Phytophthora infestans*, común en zonas con temperaturas entre 15 y 22°C y humedad relativa mayor al 80%. El patógeno, se transmite a través de semillas de tomate y puede sobrevivir en forma de micelio en otras plantas cultivadas o arvenses de la familia de las solanáceas, o en residuos de cosecha, que permanecen en el suelo (Jaramillo *et al.* 2007). La infección en el fruto puede oscilar del 41 al 100% en los campos sin aplicación de fungicidas y del 12 al 65%, en parcelas protegidas con fungicidas sistémicos; en el 2009, en Estados Unidos, las pérdidas totales de rendimiento en los tomates frescos y procesamiento llegaron a US\$46 y US\$66 millones, respectivamente (Nowicki *et al.* 2012).

La resistencia genética es la capacidad que tiene el hospedante de contrarrestar la acción de un patógeno; esta es la estrategia más ampliamente recomendada y estudiada en el manejo integrado de plagas (Lemus, 2009; Kogan, 1990).

Los parientes silvestres son una fuente vital de genes de resistencia contra enfermedades, como el tizón tardío, lo cual, ayuda a asegurar que exista una adecuada diversidad genética en el patrimonio genético, de un cultivo en particular (Lane, 2006).

La epidemiología estudia el desarrollo de enfermedades en poblaciones de plantas; describe cómo las enfermedades de las plantas se desarrollan a través del tiempo y contempla modelos matemáticos, que pueden ayudar a tomar decisiones de manejo (Arneson, 2001). Claro ejemplo de modelos matemáticos, los describen Tatarowska *et al.* (2011), quienes indican que la estimación de la severidad del tizón tardío en el campo se puede hacer mediante evaluación visual de la enfermedad, estimando el área afectada en el follaje en porcentaje (Colon *et al.* 2004) o a través de una escala de nueve grados (Pietkiewicz, 1972). Con los datos obtenidos, se calculan parámetros epidemiológicos, como la tasa de desarrollo de la enfermedad (*r*) (Castaño-Zapata, 2002) o el área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad (ABCDE) (Fry, 1978), que refleja la intensidad de la enfermedad.

Esta investigación tuvo como objetivo realizar un estudio epidemiológico de severidad, tasa de desarrollo de la enfermedad y áreas bajo la curva de desarrollo del tizón tardío, en quince introducciones de tomate silvestres, en dos sistemas de producción, con el fin de generar aportes que sirvan de soporte a futuros proyectos en el campo molecular y mejoramiento genético del tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, se llevó a cabo en la granja Montelindo, propiedad de la Universidad de Caldas, situada en la vereda Santágueda, municipio de Palestina, Caldas, con temperatura media de 22,8°C, altitud de 1.010msnm, precipitación anual de 2.200mm y humedad relativa promedio del 76% (FNC & CENICAFÉ, 2010).

Los sistemas de producción empleados correspondieron a: libre exposición, con tutorado en guaduas, a una distancia de 3m y una distancia entre surcos de 1,5m; también, se utilizó una cobertura de plástico tipo "mulch" tipo negro-negro, calibre 1,2 y, bajo semitecho, igual al anterior sistema, pero además provisto de una cubierta de plástico tipo AgrocLEAR, calibre 6.

Se evaluaron quince introducciones de tomate del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Diez de las quince introducciones eran procedentes del Instituto Agronómico de Campiñas, en Brasil, identificadas así: IAC391, IAC424, IAC426, IAC445, IAC1621, IAC1624, IAC1688, IAC412, IAC421 e IAC1686; las otras cinco introducciones eran procedentes del Tomato Genetics

Resources Center, de la Universidad de California, en Estados Unidos, identificadas como: LA2076, LA1480, LA2131, LA2640 y LA2692. Como testigo comercial, se empleó la variedad Sweet million, que es susceptible al patógeno.

La siembra, se realizó en bandejas de germinación de 72 lóculos, con sustrato turba sphagnum grado 3. Pasados 30 días, se realizó el trasplante de las plántulas, cuando habían alcanzado cuatro hojas verdaderas. La distancia de siembra fue de 1,50m entre surcos y 0,50m entre plantas, para una densidad de población de 13.333 plantas/ha.

Para la obtención del inóculo, se sembraron tubérculos-semillas de papa criolla, variedad Yema de Huevo (*Solanum phureja* Juz. et Buk), en la granja Tesorito, de la Universidad de Caldas, a 2.340msnm, 17,5°C, 78% de humedad relativa y 2.000mm de precipitación. El tamaño de las parcelas fue de 4m de largo por 1,8m de ancho, con un marco de plantación de 0,6m, en surcos dobles, 1,2m entre calles y 0,35m entre plantas. La siembra, se efectuó de manera escalonada, una cada 20 días, para un total de cinco siembras, para garantizar una fuente de inóculo constante del patógeno, con la que se obtuvo la infección artificial de las introducciones de tomate cereza.

Un día antes de la inoculación, se recolectaron las hojas más afectadas de las plantas de papa criolla, almacenándolas en cámara húmeda, para mantener activos los esporangios del patógeno. Las hojas fueron llevadas a la granja Montelindo, donde, posteriormente, se les realizó un lavado con agua destilada, a través de un tamiz, sobre una máquina fumigadora de espalda Royal Cóndor de 20L, para que los esporangios de *Ph. infestans* se desprendieran y quedaran suspendidos en el agua; finalmente, se realizó la inoculación sobre las introducciones a evaluar, 41 días después de trasplante (2 meses y medio de edad), dando un cubrimiento total en el área foliar de las cuatro plantas, de cada introducción de tomate. La concentración, se midió a través de un hemacitómetro marca Bright Line, obteniendo un valor de 44.000 esporangios/mL de agua.

Se utilizó un diseño de parcelas divididas; las parcelas principales fueron asignadas a los dos sistemas de producción: libre exposición y semitecho, mientras que las subparcelas fueron asignadas a las introducciones de tomate, con cuatro repeticiones. El tamaño efectivo de la unidad experimental fue de cuatro plantas.

Variables evaluadas:

Severidad (%) del tizón tardío. Se evaluaron las primeras cuatro hojas de las plantas que presentaban los síntomas típicos de la enfermedad, como manchas de color café con apariencia húmeda y en el envés de las hojas, con estructuras

de color blanquecino, en el centro de las lesiones correspondientes a la esporulación de *Ph. infestans*. Estas hojas se marcaron para su seguimiento y se evaluaron en intervalos de cuatro días, usando el diagrama de severidad, elaborado por James *et al.* (1971), quienes ilustran severidades del 1, 10, 25 y 50%; mediante extrapolación, se continuó registrando la severidad hasta el 100% en toda la planta. La evaluación, se realizó durante 49 días después de la inoculación.

Tasa de desarrollo (r) del tizón tardío. Para tal fin, se tomaron los valores promedios de severidad de las cuatro hojas evaluadas en porcentaje, siguiendo la metodología descrita por Castaño-Zapata (2002) y aplicando la siguiente fórmula, derivada del modelo logístico de Van der Plank (1963):

$$r = \frac{1}{T_1 - T_0} \left(\log_e \frac{X_1}{1 - X_1} - \log_e \frac{X_0}{1 - X_0} \right)$$

En donde: r = Tasa de desarrollo; T₁ = Tiempo final; T₀ = Tiempo inicial; X₁ = Proporción de la enfermedad en el tiempo final; X₀ = proporción de la enfermedad en el tiempo inicial.

Área bajo la curva del desarrollo de la enfermedad (ABCDE). Para ello, se tomaron los valores promedios de severidad (%) de las cuatro hojas evaluadas por planta, siguiendo la metodología descrita por Shaner & Finney (1977) y aplicando la siguiente ecuación:

$$ABCDE = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

En donde: Y_i = severidad inicial; Y_{i+1} = Severidad actual; t_{i+1} = tiempo actual; t_i = tiempo inicial.

Variables climáticas. Se tomaron los datos climáticos diarios de la estación meteorológica, que se encuentra en la granja Montelindo, para correlacionarlos con la severidad del tizón tardío. Se registraron datos de precipitación acumulada cada cuatro días, con ayuda de un pluviógrafo; humedad relativa promedio cada cuatro días (HRP), con un termohigrógrafo y temperatura diaria, con termómetros de máxima, media y mínima.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Severidad (%) del tizón tardío en los dos sistemas de producción. Los sistemas productivos a libre exposición y bajo semitecho a los 25 días después de inoculación, no mostraban diferencias estadísticas (P=0,68), en los valores de severidad con 31 y 30%, respectivamente. Desde esa fecha en

adelante, la severidad del tizón tardío en el sistema productivo a libre exposición siempre fue mayor que la del sistema productivo bajo semitecho, en todas las demás evaluaciones, terminando a los 49 días después de la inoculación, con una severidad de 47%, en el sistema productivo bajo semitecho y de 77%, en el sistema productivo a libre exposición, con altas diferencias estadísticas, entre los dos sistemas productivos ($P < 0,0001$). Esto explica, la función de la cubierta tipo semitecho, la cual, evitó el contacto directo de la lluvia continua con las plantas, disminuyendo la severidad de la enfermedad, sabiendo que patógenos, como *Ph. infestans*, liberan zoosporas en el agua, presente sobre las superficies foliares, facilitando así la dispersión del patógeno y el incremento de la enfermedad (Castaño-Zapata, 2002).

Tasa de desarrollo (r) del tizón tardío en los dos sistemas de producción. La tasa de desarrollo del tizón tardío mostró dos tendencias de avance de la enfermedad: La primera, fue la tasa de desarrollo en el sistema de producción a libre exposición, que tuvo un valor de $r = 0,15$ unidades por día; la segunda, corresponde al sistema de producción bajo semitecho, con una $r = 0,09$ unidades por día.

Severidad (%) del tizón tardío en las introducciones sembradas a libre exposición y factores climáticos. Según Erwin & Ribeiro (1996), la temperatura mínima para el crecimiento de *Ph. infestans* es de 4°C; la óptima, de 20°C y la máxima, de 26°C. Por otra parte, Jaramillo *et al.* (2007) indican que la humedad relativa favorable para el desarrollo de la enfermedad debe estar por encima del 80%; estas variables climáticas no mostraron variaciones notables a través del tiempo; se registró una temperatura promedio de 24 a 26°C, a libre exposición y bajo semitecho, respectivamente y una humedad relativa promedio de 78%, para los dos sistemas productivos. Los valores registrados fueron favorables para el desarrollo del tizón tardío (Figura 1).

La precipitación desempeñó un papel de mayor importancia, ya que en tan solo periodos acumulados de 4 días, pasó de 6 a 114 mm acumulados, 9 días después de inoculación y 90 mm, a los 13 días, después de inoculación, lo cual, se corrobora siguiendo la teoría del sistema predictivo de BLITE-CAST, desarrollado en la Universidad Estatal de Pensilvania, a principios de 1970, que interpreta los patrones de precipitación, de temperatura y de alta humedad relativa, sobre el potencial de epidemias del tizón tardío en cultivos de papa y que tiene como base una precipitación de 30mm de agua, en 10 días continuos, para que la enfermedad se manifieste (Krause *et al.* 1975; Mackenzie, 1981).

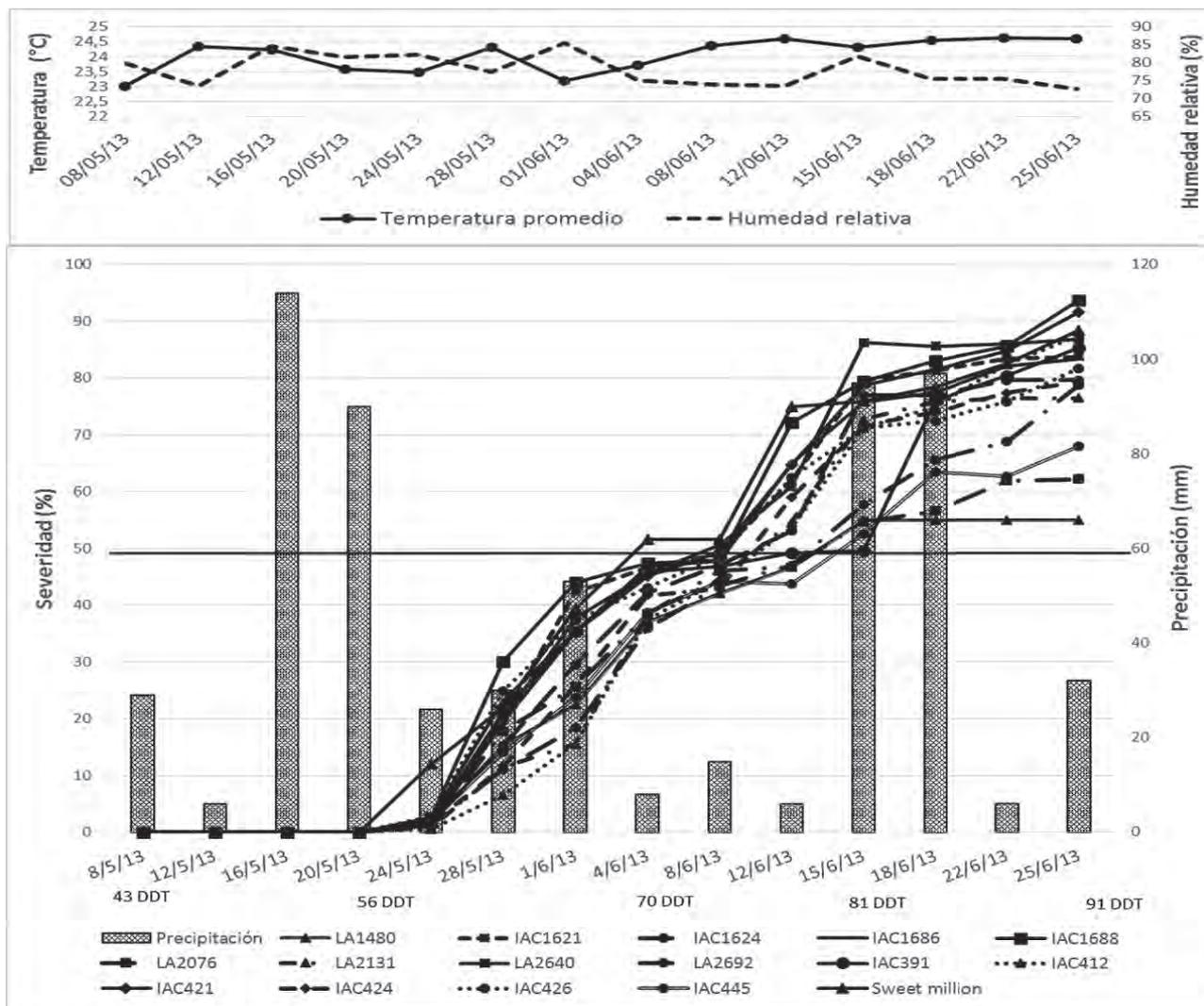
Es de resaltar que el cultivo se encontraba en la etapa de pleno llenado de fruto, en la cual, simultáneamente, realiza crecimiento vegetativo y floración, factores determinantes para que la enfermedad se manifestara y presentara un rápido

crecimiento exponencial, cumpliendo con los componentes del triángulo de la enfermedad, es decir, un ambiente favorable, un patógeno virulento y la diferencia en respuesta, dado por la constitución genética de las introducciones evaluadas. Las plantas del testigo fueron las primeras en manifestar los síntomas de la enfermedad a los 13 días después de la inoculación y, cuatro días más tarde, todas las introducciones tenían valores menores al 15% de severidad. Después de cada pico de lluvia hubo un incremento de la enfermedad, independientemente de las introducciones (Figura 1).

Todas las introducciones y el testigo comercial, a los 39 días después de la inoculación, superaron la línea roja, que señala el 50% de severidad de la enfermedad. Es de resaltar que las introducciones LA1480, LA2076 y la introducción IAC445 fueron las que mejor comportamiento mostraron frente al desarrollo de la enfermedad, con valores de severidades finales de 55, 62 y 68%, respectivamente, pero sin diferencias estadísticas entre las introducciones ($P = 0,01$) (Figura 1).

En general, los resultados de severidad de la enfermedad indicaron una susceptibilidad generalizada de las introducciones evaluadas, lo cual, se puede atribuir, como lo reportan Stintzi *et al.* (1993), a la evolución que ha tenido el patógeno, a través del tiempo, desarrollando mecanismos para protegerse a sí mismo de enzimas degradantes, como las glucanasas y quitinasas, producidas por las plantas, en respuesta al ataque de patógenos, por medio de proteínas secretoras, que inhiben la actividad enzimática de aquellas, deteniendo la producción de inductores de resistencia (Abramovitch & Martin, 2004).

Tasa de desarrollo (r) del tizón tardío en las introducciones sembradas a libre exposición. Al igual que la severidad, la tasa de desarrollo de la enfermedad mostró diferencias estadísticas ($P < 0,005$), entre los materiales en ambos sistemas de producción. Al linealizar la severidad de la enfermedad y calculando las tasas de desarrollo, se notó que todas las introducciones y el testigo sobrepasaron la línea, que está demarcando el valor cero (0), la cual, epidemiológicamente, significa el 50% de severidad. La tasa de desarrollo en este sistema productivo varió entre 0,13 unidades por día, para la introducción LA1480 y el testigo comercial y 0,22 unidades por día, para la introducción IAC412, que tuvo el máximo valor. Introducciones como IAC421 e IAC1688 mostraron mayor susceptibilidad que el testigo, con valores de severidad del 92, 94 y 88%, respectivamente y tasas de desarrollo de 0,21, 0,20 y 0,13 unidades por día, respectivamente. Una alta susceptibilidad también se reportó en un estudio realizado por Fry (1978), quien evaluó diferentes variedades de papa, aplicando diferentes dosis de mancozeb contra *Ph. infestans*, obteniendo en la variedad Hudson, muy susceptible al tizón tardío, una severidad final de 98% y una $r = 0,28$ unidades por día, sin aplicación del fungicida, en comparación



*DDT: Días después de trasplante.

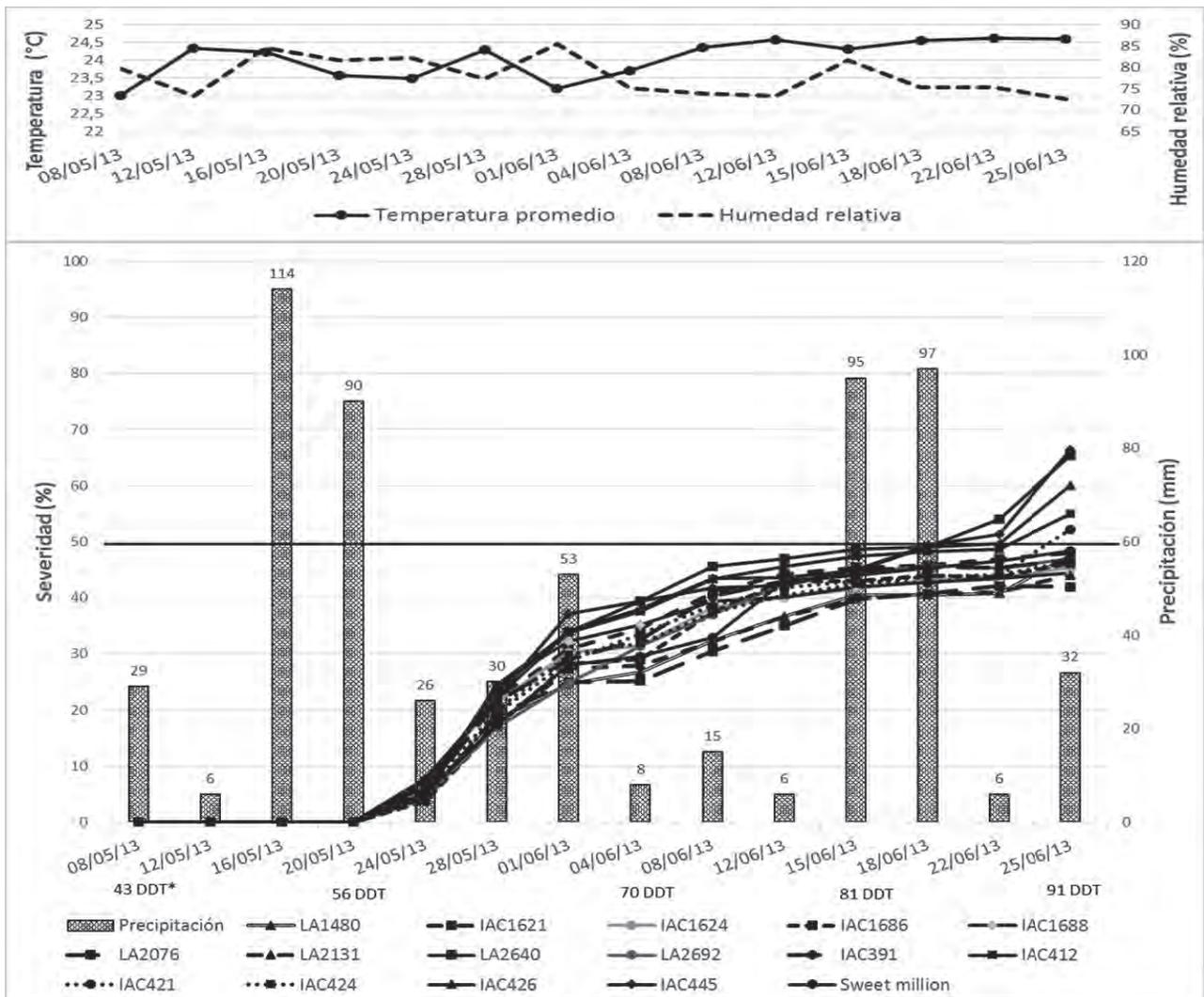
Figura 1. Relaciones entre algunos elementos del clima y la severidad del Tizón tardío, a través del tiempo, en los materiales de tomate tipo cereza, sembradas a libre exposición.

con la aplicación de éste (1,79kg/ha); una severidad final de 35% y $r = 0,18$ unidades por día.

Severidad del tizón tardío en las introducciones sembradas bajo semitecho y factores climáticos. En este caso, 10 de las 15 introducciones evaluadas y el testigo comercial, se mantuvieron por debajo de la línea, que muestra el valor de 50% de severidad (Figura 2), lo que indica, que el desarrollo lento de la enfermedad, se puede atribuir a la cubierta plástica que se empleó para proteger las plantas de la lluvia directa, la cual, corroborando lo que afirman Tamayo & Jaramillo (2006), ayuda a que los esporangios de *Ph. infestans* sean fácilmente diseminados. Asimismo, Beckett *et al.* (2005)

comprobaron, en un experimento realizado en tomate bajo invernadero, que el riego dirigido a la superficie del suelo disminuía casi el doble la incidencia y la severidad, $35 \pm 8\%$ y $2 \pm 1\%$, respectivamente, del tizón tardío, comparado con el riego dirigido sobre el follaje, $68 \pm 12\%$ y $16 \pm 9\%$, respectivamente.

Algunas introducciones mostraron tolerancia al avance de la enfermedad, como LA2076, LA2131, IAC1624 y LA1480, con valores de severidades finales de 42, 44, 45 y 47%, respectivamente. Las severidades de la enfermedad que se observan por debajo de la línea roja, en la figura 2, oscilaron entre 42%, que corresponde a la introducción LA2076



*DDT: Días después de trasplante.

Figura 2. Relaciones entre algunos elementos del clima y la severidad del Tizón tardío, a través del tiempo, en los materiales de tomate tipo cereza, sembradas bajo semitecho.

y 48%, en el testigo comercial; este comportamiento, se observó después de 39 días después de la inoculación (81 DDT), en donde hubo una acumulación de 98 mm de agua lluvia y mientras que en estos materiales se mantenía estable la severidad de la enfermedad, en las introducciones IAC421, IAC412, IAC426, LA2640 e IAC445 aumentaron los valores, entre 52 y 66%.

Como se observa, la introducción LA2076 mostró un buen comportamiento en los dos sistemas de producción evaluados; la introducción IAC445 tuvo un valor de severidad final de 66%, casi el mismo comportamiento comparado con el sistema de producción a libre exposición, que fue de 68%,

en este caso, siendo la introducción más susceptible (Figura 2); no obstante, las introducciones evaluadas mostraron una susceptibilidad generalizada a la enfermedad. De acuerdo con Barbosa *et al.* (2008), en la búsqueda de resistencia al tizón tardío, se debe evaluar un número considerable de genotipos, debido a que la resistencia es poligénica y de carácter dominante, lo que requiere de una búsqueda intensiva en germoplasma pariente de la especie cultivada, por lo cual, se puede concluir que es necesario continuar con estudios similares a éste, en diferentes áreas geográficas del país, de tal manera que se pueda explorar una mayor cantidad de genotipos y poblaciones del patógeno y así ampliar la posibilidad de encontrar resistencia a la enfermedad.

Tasa de desarrollo (r) del tizón tardío en las introducciones sembradas bajo semitecho. Los materiales mostraron una disminución numérica considerable en la tasa de desarrollo de la enfermedad; el valor de r más bajo fue 0,07 unidades por día, para la introducción IAC1624 y el valor más alto fue 0,10 unidades por día, para las introducciones IAC1686, LA2640, IAC412, IAC421, IAC426 e IAC445, valores menores a los alcanzados a libre exposición.

Se observaron diferencias numéricas entre los dos sistemas de producción, entre 0,06 unidades por día, para los valores mínimos, hasta 0,12 unidades por día, para los valores máximos de tasas de desarrollo de la enfermedad (r). El caso más notable fue el de la introducción IAC1624, que pasó de ser una de las que tuvieron un valor alto de 0,18 unidades por día, a libre exposición, a tener el valor más bajo de r, en condiciones semi-controladas, de 0,07 unidades por día, lo que indica una alta interacción genotipo-ambiente; en este caso, el mejoramiento del ambiente, le permite al genotipo expresar mejor su potencial y tener un menor desarrollo de la enfermedad.

El sistema de producción bajo semitecho es adecuado para disminuir todos los parámetros epidemiológicos del tizón

tardío, debido, principalmente, al hecho que, en este sistema, no hay un efecto directo de la lluvia sobre las plantas.

Área bajo la curva del desarrollo de la enfermedad (ABCDE). La tabla 1 muestra las ABCDE de cada introducción respecto a los dos sistemas de producción, comparándolas, a la vez, con las tasas de desarrollo (r) y las severidades finales. Analizando el ABCDE en los dos sistemas productivos, se observa que la intensidad de la enfermedad a libre exposición es mayor que bajo condiciones semi-controladas, con valores promedios de 1.573 y 1.133 unidades, respectivamente. Este comportamiento coincide con los resultados del estudio de Foster & Hausbeck (2010), quienes evaluaron, bajo dos sistemas de producción –campo abierto e invernadero–, el efecto de los fungicidas fluopicolide y mandipropamida sobre *Phytophthora capsici*, en dos variedades de pimentón ‘Paladin’-resistente y ‘Red Knight’-susceptible, observando que sin tratamiento químico, en el sistema de producción a campo abierto, la variedad resistente y la susceptible expresaron el ABCDE más alto, con 963 y 5.494 unidades, respectivamente, comparadas con el sistema productivo invernadero, en donde fueron más bajas, con 64 y 141 unidades, respectivamente, en ambas variedades; sin embargo, los valores del ABCDE de todas las introducciones

Tabla 1. Área bajo la curva del desarrollo de la enfermedad (ABCDE), tasas de desarrollo (r) y severidades (%) finales, en las 15 introducciones y el testigo comercial (Sweet million), en los dos sistemas de producción.

Materiales	Libre exposición			Semitecho		
	ABCDE	r	Severidad final (%)	ABCDE	r	Severidad final (%)
LA1480	1.236	0,13	55	1.002	0,09	47
IAC1621	1.750	0,18	83	1.183	0,08	48
IAC1624	1.337	0,18	79	1.107	0,07	45
IAC1686	1.715	0,16	83	1.082	0,10	46
IAC1688	1.859	0,20	94	1.136	0,08	44
LA2076	1.318	0,15	62	977	0,09	42
LA2131	1.472	0,18	76	998	0,09	44
LA2640	1.782	0,18	87	1.311	0,10	65
LA2692	1.590	0,17	80	1.092	0,09	47
IAC391	1.555	0,18	85	1.148	0,08	47
IAC412	1.479	0,22	88	1.252	0,10	55
IAC421	1.741	0,21	92	1.115	0,10	52
IAC424	1.530	0,17	79	1.102	0,09	46
IAC426	1.660	0,16	82	1.255	0,10	60
IAC445	1.313	0,15	68	1.274	0,10	66
Testigo (Sweet million)	1.825	0,13	88	1.087	0,09	68
Promedio	1.573	0,17	80	1.133	0,091	51

son altos, lo que indica una susceptibilidad generalizada de los materiales de tomate evaluados. Byrne *et al.* (1997), al evaluar las cultivariedades de tomate Ohio 8245 y 7814, en Michigan, Indiana, Estados Unidos, contra *Ph. infestans*, hallaron valores de ABCDE que oscilaron entre 1.154 y 2.314 unidades, respectivamente, similares y aún superiores a los obtenidos en este estudio; indicando que estas cultivariedades fueron altamente susceptibles a *Ph. infestans*.

Las introducciones LA1480 y LA2076 fueron las que mejor respuesta expusieron respecto al ataque del patógeno, mostrando algún grado de tolerancia y evidenciando menos intensidad de la enfermedad con el tiempo, en los dos sistemas de producción.

La introducción LA1480 en el sistema a libre exposición fue la que menos intensidad de la enfermedad mostró, con un ABCDE de 1.236 unidades; analizada en el sistema bajo semitecho, se observó una reducción de los valores acumulados de ABCDE, teniendo como resultado final, una diferencia en el ABCDE de 234 unidades (Tabla 1). En la evaluación realizada el 28 de mayo de 2013 (22 días después de inoculación), a libre exposición, se observaron valores de severidad promedios, cercanos al 20%, pero para las evaluaciones entre el 01 de junio de 2013 al 25 de junio de 2013 (25 y 49 días después de inoculación), los valores promedios de severidad aumentaron del 30 al 55% (Figura 2), mientras que en las mismas fechas, los valores promedios de severidad bajo semitecho, oscilaron entre 26 y 47% (Figura 2). El ABCDE fue uno de los más bajos en ambos sistemas productivos, ya que los valores acumulados de severidad, a través del tiempo, no superaron el 55% (Tabla 1).

La introducción LA2076 presentó características similares, observándose su mejor respuesta en el sistema de producción bajo semitecho, con una diferencia entre los dos sistemas de producción en el ABCDE, de 341 (Tabla 1). En los sistemas de producción a libre exposición y bajo semitecho, se observó un comportamiento similar en los valores promedios de severidad, de un poco más del 20%, para el 28 de mayo de 2013 (Figuras 1 y 2). En el sistema a libre exposición, en la evaluación realizada el día 01 de junio de 2013 (25 días después de inoculación), los valores promedios de severidad ya sobrepasaban el 30 % y para el día 25 de junio de 2013, llegaban a más de 60% (Figura 1); es por esto que la intensidad de la enfermedad llegó a valores de ABCDE de 1.318 unidades, mientras que en el sistema bajo semitecho, para los mismos días evaluados, estos valores no superaron el 30% y finalizaron con 42% (Figura 2).

Se observaron introducciones que, al pasarlas de libre exposición a semitecho, cambiaron los resultados respecto al ABCDE; este es el caso de las introducciones IAC1686, LA2131 y LA2692, que mejoraron su respuesta a la enfermedad, con

diferencias en el ABCDE, de 633, 474 y 498, respectivamente (Tabla 1).

Existe una relación directa entre los parámetros epidemiológicos evaluados: severidad, tasa de desarrollo y área bajo la curva del desarrollo de la enfermedad; cualquiera de estos parámetros es suficiente para analizar desarrollo del tizón tardío y lleva a la misma conclusión.

Conflictos de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados

BIBLIOGRAFÍA

1. ABRAMOVITCH, R.B.; MARTIN, G.B. 2004. Strategies used by bacterial pathogens to suppress plant defenses. *Current Opinion Plant Biology*. (USA). 7(4):356-364.
2. ARNESON, P.A. 2001. Epidemiología de las Enfermedades de las Plantas: Los Aspectos Temporales. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-A-2001-0524-01. Disponible desde Internet en: <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Epidemiologia/Pages/default.aspx> (con acceso 30/03/16).
3. BARBOSA, A.F.; HENRIQUES, D.J.; CRUZ, C.D.; SEITI, G.E. 2008. Inheritance of resistance to *Phytophthora infestans* (Peronosporales, Pythiaceae) in a new source of resistance in tomato [*Solanum* sp. (formerly *Lycopersicon* sp.)], Solanales, Solanaceae]. *Genetics Molec. Biol. Brazil*. 31(2):493-497.
4. BECKTELL, M.C.; DAUGHTREY, M.L.; FRY, W.E. 2005. Epidemiology and management of petunia and tomato late blight in the greenhouse. *Plant Disease*. (USA). 89(9):1000-1008.
5. BYRNE, J.M.; HAUSBECK, M.K.; LATIN, R.X. 1997. Efficacy and economics of management strategies to control anthracnose fruit rot in processing tomatoes in the Midwest. *Plant Disease*. 81(10):1167-1172.
6. DANE- ENA. 2014. Encuesta Nacional Agropecuaria Ena 2014. Colombia. Disponible desde Internet en: http://207.239.251.112/www/htm3b/public/ena/ENA_2014.pdf (con acceso 14/02/2016).
7. CASTAÑO-ZAPATA, J. 2002. Principios básicos de fitopatología. Centro Editorial Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. 396p.

8. CHAVARRO, E.; ÁNGEL, J.E. 2005. Reacción en cadena de la polimerasa 16S ADN y amplificación aleatoria de polimorfismos de ADN para la detección y diferenciación molecular de *Ralstonia solanacearum* en plantas de *Musa* sp. Memorias II Seminario Internacional Sobre Producción, comercialización e industrialización de plátano. Manizales. Colombia. p.14-31.
9. COLON, L.T.; NIELSEN, B.J.; DARSOW, U. 2004. Eucablight protocol-Field test for foliage blight resistance (www.eucablight.org).
10. ERWIN, D.; RIBEIRO, O. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide, Ed. APS Press, St. Paul, Minnesota. USA. p.3-6; 168-169, 347, 592.
11. FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA –FNC- & CENTRO DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ –CENICAFÉ-. 2010. Anuario Meteorológico Cafetero 2008. Chinchiná, Caldas, Colombia.
12. FOSTER, J.M.; HAUSBECK, M.K. 2010. Managing *Phytophthora* crown and root rot in bell pepper using fungicides and host resistance. Plant Disease. 94:697-702.
13. FRY, W.E. 1978. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. Phytopathology. (USA). 68:1650-1655.
14. KOENIG, D.; JIMÉNEZ-GÓMEZ, J.M.; KIMURA, S.; FULOP, D.; CHITWOOD, D.; HEADLAND, L.; KUMAR, R.; COVINGTON, M.; DEVISSETY, U.K.; TATA A.V.; TOHGE, T.; BOLGER, A.; SCHNEEBERGER, K.; OSSOWSKI, S.; LANZ, C.; XIONG, G.; TAYLOR-TEEPLES, M.; BRADY, S.M.; PAULY, M.; WEIGEL, D.; USADEL, B.; FERNIE, A.R.; PENG, J.; SINHA, N.R.; MALOOF, J.N. 2013. Comparative transcriptomics reveals patterns of selection in domesticated and wild tomato. Plant Biology. 110(28):2655-2662.
15. KOGAN, M. 1990. La resistencia de la planta en el manejo de plagas. En: Metcalf, R.L.; Luckman, W.H. (Eds.). Introducción al Manejo Integrado de Plagas. Ed. Limusa. México. 710p.
16. KRAUSE, R.A.; MASSIE, L.B.; HYRE, R.A. 1975. Blitecast, a computerized forecast of potato late blight. Plant Disease Rep. 59:95-98.
17. JAMES, W.C.; CALLBECK, L.C.; HODGSON, W.A.; SHIH, C.S. 1971. Evaluation of a method used to estimate loss in yield of potatoes caused by late blight. Phytopathology. 61:1471-1476.
18. JARAMILLO, J.; RODRÍGUEZ, V.P.; GUZMÁN, M.; ZAPATA, M.; RENGIFO, T. 2007. Manejo fitosanitario. Protección de cultivos. En: Jaramillo, J.; Rodríguez, V.P.; Guzmán, M.; Zapata, M. & Rengifo, T. 2007. Manual Técnico de Buenas Prácticas Agrícolas – BPA en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. CORPOICA – MANA – Gobernación de Antioquia – Centro de Investigación La Selva. FAO. Colombia. p.179-180; 199-106; 219-224.
19. LANE, A. 2006. Parientes silvestres de cultivos. Bioversity International. Roma, Italia. 24p. Disponible desde Internet en: http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/Parientes_silvestres_de_cultivos_1221.pdf (con acceso 20/06/2015).
20. LEMUS, Y. 2009. Genética de la resistencia a las enfermedades en plantas hortícolas. México. Temas Ciencia y Tecnología. 13(39):41-44.
21. MACKENZIE, D. 1981. Scheduling fungicide applications for potato late blight. USA. Plant Disease. 65(5):394-399.
22. NOWICKI, M.; FOOLAD, M.R.; NOWAKOWSKA, M.; KOZIK, E.U. 2012. Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: An overview of pathology and resistance breeding. USA. Plant Disease. 96(1):4-17.
23. PIETKIEWICZ, J.B. 1972. Badania odporności ziemniaka na zarazę ziemniaczaną (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) na odciętych liściach. Biuletyn Instytutu Ziemniaka. 9:17-32.
24. SHANER, E.; FINNEY, R.E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. USA. Phytopathology. 67:1051-1056.
25. STINTZI, A.; HEITZ, T.; PRASAD, V.; WIEDEMANN-MERDINOGLU, S.; KAUFFMANN, S.; GEOFFROY, P.; LEGRAND, M.; FRITIG, B. 1993. Plant pathogenesis-related proteins and their role in defense against pathogens. Biochimie. (France). 75(8):687-706.
26. TAMAYO M., P.J.; JARAMILLO N., J.E. 2006. Enfermedades del tomate, pimentón, ají y berenjena en Colombia. Guía para su diagnóstico y manejo. Manual Técnico CORPOICA, Centro de Investigación La Selva. 161p.

27. TATAROWSKA, B.; FLIS, B.; ZIMNOCH-GUZOWSKA, E. 2011. Biological Stability of Resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in 22 Polish Potato Cultivars Evaluation in Field Experiments. Potato Association of America. Młochów, Poland. Pp 1 - 9.
28. VAN DER PLANK, J.E. 1963. Plant diseases. Epidemics and control. Academic Press, New York. 349p.

Recibido: Noviembre 24 de 2015

Aceptado: Abril 1 de 2016

Cómo citar:

Cardona-Piedrahita, L.F.; Castaño-Zapata, J.; Ceballos-Aguirre, N. 2016. Epidemiología del tizón tardío [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] en quince introducciones de tomate silvestre. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 45-54.

ESTIMATING SOIL PROPERTIES WITH MID-INFRARED SPECTROSCOPY

ESTIMACIÓN DE PROPIEDADES DEL SUELO A PARTIR DE ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO MEDIO

Johana P. Bonett¹; Jesús H. Camacho-Tamayo^{2*}; Javier E. Vélez-Sánchez³

¹ Ingeniero Agrícola, M.Sc. Universidad Nacional de Colombia, carrera 30 No. 45-03, Bogotá, e-mail: johanabonett@gmail.com; ² Ingeniero Agrícola, M.Sc. Ph.D., Profesor Asociado, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Agrícola. Universidad Nacional de Colombia, carrera 45 No. 45-03, Bogotá, e-mail: jhcamachot@unal.edu.co; ³ Ingeniero Agrícola, M.Sc., Ph.D., Profesor Asociado, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Agrícola. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, e-mail: jevelezs@unal.edu.co *Autor para correspondencia

Rev. U.D.C.A. Act. & Div. Cient. 19(1): 55-66, Enero-Junio, 2016

SUMMARY

The mid-infrared technique (MIR) can be used to identify and estimate soil properties with high accuracy. The aim of this study was to evaluate the potential of mid-infrared reflectance spectroscopy (MIR) for the estimation of chemical properties of soils as well as the application of this technique in obtaining digital maps. In this study, 249 soil samples from two orders, Andisols and Oxisols, were analyzed. The results obtained in the analysis of the curves verified that the greater number of attributes was reflected in the spectral region of 400 and 850cm⁻¹. The Andisols stood out due to the results in the calibration of the models, which were better than those of the Oxisols. The spectral responses were similar in both soils, but with different levels of reflectivity. This difference was more notable in the Andisols, where the spectral peaks were lower, a fact attributable to the compounds of the organic matter that tended to obscure the soil, absorbing infrared light. The results demonstrated that the mid-infrared reflectance spectroscopy MIR allowed for the processing of a large number of samples, where information about various parameters was obtained in a single spectrum. The organic carbon was the attribute with the best prediction. Similarly, the semivariogram models and contour maps obtained from the spectral data models showed high similarity to those obtained from the laboratory measurements for those properties, where the spectral models were representative.

Key words: Diffuse reflectance, pedometrics, soil analysis, predictive models, spatial variability.

RESUMEN

La técnica de infrarrojo medio (MIR) puede ser utilizada para identificar y para estimar las propiedades de suelos, con gran precisión. El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo medio (MIR), para la estimación de algunas propiedades químicas del suelo, así como la aplicación de esta técnica, en la obtención de mapas digitales. Fueron analizadas 249 muestras de suelos de dos órdenes, correspondiente a Andisoles y Oxisoles. Los resultados obtenidos en el análisis de las curvas permiten verificar que el mayor número de atributos están reflejados en la región espectral de 400 y 850cm⁻¹. El Andisol, se destacó por obtener mejores resultados en la calibración de los modelos que el Oxisol. Las respuestas espectrales en ambos suelos fueron similares, pero con diferentes niveles de reflectancia. Esta diferencia fue más marcada en los Andisoles, donde los picos espectrales fueron más bajos, hecho atribuible a los compuestos de la materia orgánica que tienden a oscurecer el suelo absorbiendo la luz infrarroja. Los resultados demuestran que la espectroscopia de reflectancia infrarroja MIR permite procesar una gran cantidad de muestras, donde se obtiene información sobre varios parámetros en un solo espectro. El carbono orgánico fue el atributo con la mejor predicción. De igual manera, los modelos de semivariograma, como los mapas de contorno, obtenidos a partir de los modelos con datos espectrales, mostraron alta similitud con los obtenidos a partir de las mediciones hechas en laboratorio, para aquellas propiedades, donde los modelos espectrales fueron representativos.

Palabras clave: Reflectancia difusa, pedometría, análisis de suelos, modelos predictivos, variabilidad espacial.

INTRODUCTION

Throughout history, people have used different methods for the quantification of the elements present in soils with laboratory chemical analysis in order to characterize or identify the types of soils and agricultural potential. For the most part, the analysis to determine the chemical properties of a soil is wasteful and slow and requires a high investment, especially when intensive and systematic surveys are conducted to determine the spatial variability and define the management zones (Plant, 2001). Moreover, the reagents used in these analyzes generate waste that may contain reagents or microorganisms that pose a risk to the environment, health and natural resources, due to their corrosive, reactive, explosive, toxic, biological-infectious, and flammable characteristics (Viscarra-Rossel *et al.* 2006).

There is global consensus to develop cleaner, cheaper and faster methodologies to perform soil analyzes that help, for example, environmental monitoring, as proposed by Okin & Painter (2004) and Shepherd & Walsh (2007) or the modeling of biological processes or agricultural production or production systems known as precision farming or localized handling (Viscarra-Rossel *et al.* 2006; Tittonell *et al.* 2008). Among these techniques, there is the perception of soil, which can be done through spectral signatures, obtained by physical processes where a body absorbs energy and reflects part of it. In the case of soils, this absorption depends on the compounds that form them, which reflect energy at different wavelengths.

It is possible to find relationships between the content of certain nutrients in a soil and their spectral responses, which can be identified through models. The functions that result from modeling phenomena for estimating soil properties from auxiliary variables are called pedotransfer functions (PTF), proposed by Bouma & Van Lanen (1987), whose objective is the use of data that needs to be processed or transformed into the required data (Bouma, 1989). These PTFs provide information that is usually difficult to obtain, either because of high costs or difficulty in sampling. Also, secondary data can be used, commonly available in soil survey reports or geographic information or otherwise easily obtained (Minasny *et al.* 2003). Therefore, one purpose of PTF's is decreasing costs and increasing the speed of information collection.

The potential use of diffuse reflectance spectroscopy in agriculture and specifically in the study of soil characteristics and their spatial distribution has been demonstrated by obtaining spectra in the VIS, NIR, MIR (Bilgili *et al.* 2010; Camacho-Tamayo *et al.* 2014; Vohland *et al.* 2014). The novelty of this technology is that a single spectrum can simultaneously characterize various soil properties. Similarly,

for decision-making, it is helpful to present information in a way that the soil variability and especially their properties can be properly identified, represented by digital maps. Digital soil mapping (DSM) is defined as the creation and manipulation of spatial information systems applied to soil studies through numerical models for determining the spatial and temporal variations, as well as their properties, based on the observation and knowledge of them and the environmental variables (Behrens *et al.* 2014).

DSM is characterized by the adoption of new tools and techniques for analyzing, integrating and visualizing soil and environmental data, obtained by remote or close-up observation, or for the use of geostatistical techniques. These tools are essential to streamlining and perfecting soil mapping (Grunwald, 2009).

This study aimed to evaluate the potential of mid-infrared reflectance spectroscopy (MIR) for the estimation of soil chemical properties through the calibration of partial least square regression models, as well as the application of this technique for obtaining digital maps.

MATERIALS AND METHODS

Characterization of the study area. For this study, 90 samples were taken from an Andisol in the municipality of Sylvania (Cundinamarca, Colombia) and 160 samples were taken from an Oxisol in the municipality of Puerto López (Meta, Colombia). The samples were air dried and passed through a 2mm sieve to obtain the spectral responses and the pH was determined with a potentiometer and a 1:1 soil/water ratio; the exchangeable aluminum (Al.I) was revealed with titration; along with phosphorus by the Bray II method; Ca, Mg, K and Na by extraction with ammonium acetate and a 7.0 pH and organic carbon by the method modified of Walkley Black. The spectral responses were obtained with a Prestige 21 sensor (Shimadzu Corporation) that covered a range between 4000 and 400cm⁻¹ of the MIR region.

Processing the spectral responses. Initially, a characterization of the spectral responses of the two types of soils was carried out to identify the similarities and differences. In addition, the correlation of the properties was analyzed at different wavelengths of the spectral response, along with the amplitude correlation, from the sum of the maximum and minimum absolute values of the observed linear correlation.

Calibration of the models. The spectral model calibration was performed using partial least squares regression (PLSR) (Wold *et al.* 2001), widely used in chemometrics procedures that provide a better approach of quantitative models between predictor variables (X) and responses (Y), featuring higher performance than multiple linear regression (MLR).

In the calibration, the coefficient of determination (R^2), the root mean square error of prediction (RMSE) and the residual deviation from the prediction (RPD) were evaluated. These calibration parameters served as the basis for indicating the models that performed better and were obtained with ParLeS, developed by Viscarra-Rosel (2008). From these results, descriptive statistics were performed for all of the data of the analyzed attributes using SPSS version 18.0. In this analysis, the mean, median, minimum and maximum values of skewness, kurtosis and coefficient of variation (CV) were determined for each attribute, measured in the laboratory and obtained from the spectral models.

Geostatistical analysis. The spatial variability of the analyzed attributes was determined with geostatistical methods using universal kriging and semivariogram analysis (Bailey & Gatrell, 1998). Based on the fitness of the models, the nugget (C_0), the sill ($C_0 + C$), the range (R) and the degree of spatial dependence (DSD) determined as the ratio of the nugget and the sill ($C / C_0 + C$), considered strong for DSD when above 0.75, moderate between 0.25 and 0.75, and weak below 0.25 (Cambardella *et al.* 1994). The theoretical

semivariogram models were estimated using GS+ v.7. For the selection of the semivariogram, different functions were evaluated to choose the best data fit: the spherical, exponential or Gaussian models. The prediction of the kriging attributes resulted in contour maps using Surfer v.10 (Golden Software, CO, USA), based on the observed values and those obtained from the spectral models.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of the spectral curves. The spectral responses of the Oxisols and Andisols differed mainly in the region of 400 to 2200 cm^{-1} (Figure 1), where the Oxisols showed higher reflectance due to their lower content of organic matter (OM). In general, OM absorbs energy and promotes a lower intensity of reflectance across the spectrum (McDowell *et al.* 2012). This difference is due to weathering processes in which Oxisols are strongly influenced by climatic factors such as high temperatures and heavy rainfall, while Andisols receive greater influence from the relief, with higher contents of OM and the presence of volcanic ash.

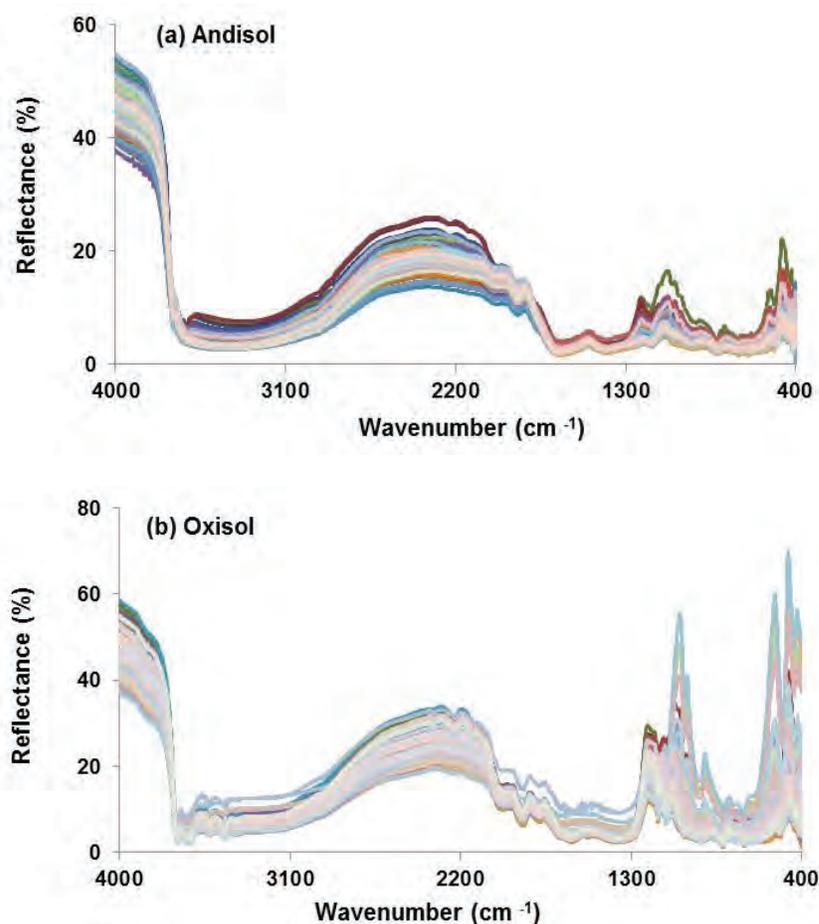


Figure 1. Spectral soil curves from (a) Cundinamarca and (b) Meta.

By looking at the spectra for the soil type and identifying where the attributes increased expression, it was verified that the Oxisol presented its maximum reflectance in the spectral region of 466 to 680 cm^{-1} , with values up to 69%. According to McDowell *et al.* (2012), the region of the spectral signature of soils located between 600 and 1500 cm^{-1} is where the majority of characteristics of the fundamental vibrations of silicate minerals in the soil are found. In Oxisols, McDowell *et al.* (2012) found that the spectral characteristics caused by iron oxides have great particularity because they produce an increase in reflectance at short wavelengths and a decrease in reflectance at slightly longer wavelengths, as can also be verified in Andisols.

High percentages of reflectance are also an effect of reflection of infrared light in the spectral range of light or dark colors. In the analyzed soils, the light emission could be an indicator of the low content of humic acids, responsible for providing dark colored solid that are high in OM. For the Andisol, the curve in the spectral region was smoother than that of the Oxisol, partly due to the higher content of OM. Dark colors in soils absorb light emitted from the spectrum, which reduces the reflectance percentage, resulting in a narrower curve. The region between 900 and 2000 cm^{-1} , according to McDowell *et al.* (2012), may be ambiguous due to overlapping attributes, such as organic compounds, carboxyl, amide and CH groups, as well as common minerals of quartz and kaolinite silicates.

Correlation between the attributes and the spectral response. In the analysis of the correlations, the Al in the Andisol presented a positive correlation in most of the spectral region, with increased expression with a correlation of 0.68 in the spectral region of 3502 cm^{-1} . For the Oxisol, lower correlation values (Figure 2) were observed. Correlations with amplitude values close to one (1) indicate that the spectral response can be used as an alternative to estimate the contents of an element, as seen for Al in the Andisol, whose amplitude was 0.78.

In the analysis of the correlations for exchangeable bases Ca, K, Mg and Na, a similar behavior was found in both soils, where the spectral response obtained in the Andisol had a broader amplitude than the Oxisol. For these attributes, the Andisol presented a negative correlation in most of the spectrum and a positive one in some points. The highest peak in the spectral region was at 1850 cm^{-1} , with values from 0.26 for K to 0.48 for Ca, an attribute that presented a range of 0.80, a figure that suggests that the spectral model presented a better performance in estimating this property. In turn, the Na had a lower amplitude, with a value of 0.52, influenced by factors that are not readily detected in the spectral response obtained in the MIR, a behavior due

to low levels of exchangeable Na and their variability in the landscape and Na levels in the external soil solution, among others (Dunn *et al.* 2002).

The contents of Mg and K presented an intermediate behavior with amplitudes of 0.68 and 0.60. According to Garzón *et al.* (2010), for these soils, the contents of K are most affected by the anthropic management, which can cause a loss of this attribute, reflecting a lower amplitude.

The Ca, K, Mg and Na in the Oxisol presented a low amplitude. Often, the spectral response in these soils presented a smooth and low expression. The lower amplitude curve observed for these attributes may decrease the accuracy in the estimating model, which has been attributed to low fertility and, therefore, low attributes. This reaction was expected because, in the sand and clay fraction of Oxisols, the predominant minerals are quartz and kaolinite, low indicators of potential soil fertility (Peña *et al.* 2009).

The OC had a correlation with a negative pattern less than -0.8 in the region of 1658 cm^{-1} for the Andisol. There was a positive correlation for the Oxisol and part of the curve for the Andisol, close to 0.6 in the regions of 1168 and 3693 cm^{-1} , respectively. Considering the soil orders, the Andisol had a higher amplitude than the Oxisol, with values of 1.30 and 0.55, respectively. According to Bellon-Maurel & McBratney (2011), carbonates are easy to find with MIR due to strong absorption bands. The higher contents of OC in the Andisol favored obtaining a better estimation model for this attribute.

In the Oxisol, the OM contents were low and the spectrum curve was flatter, indicating a lower expression of this attribute, despite having a direct correlation. The Oxisols could have this characteristic of identification due to the low OM contents in the correlation curve in the spectral region (Daza *et al.* 2006).

The P demonstrated a contrary correlation, where the Oxisol presented negative correlations. On the other hand, the Andisol had a positive correlation throughout the curve, higher than 0.5 with a positive correlation of 0.86 in the spectral region of 2054 cm^{-1} .

In the analysis of the curve amplitude, the P in the Andisol had the greater amplitude, 0.52, while for the Oxisol it was 0.07. It is worth mentioning that the analyzed soils presented agricultural intervention and that the broadest amplitude was associated with the higher contents of this attribute. Therefore, the wide amplitude observed in the correlation of P was mainly due to the phosphoric fertilization of crops and the presence of P in volcanic ash, which is released in the soil solution, allowing corrections in the pH (Muñoz *et al.* 2006).

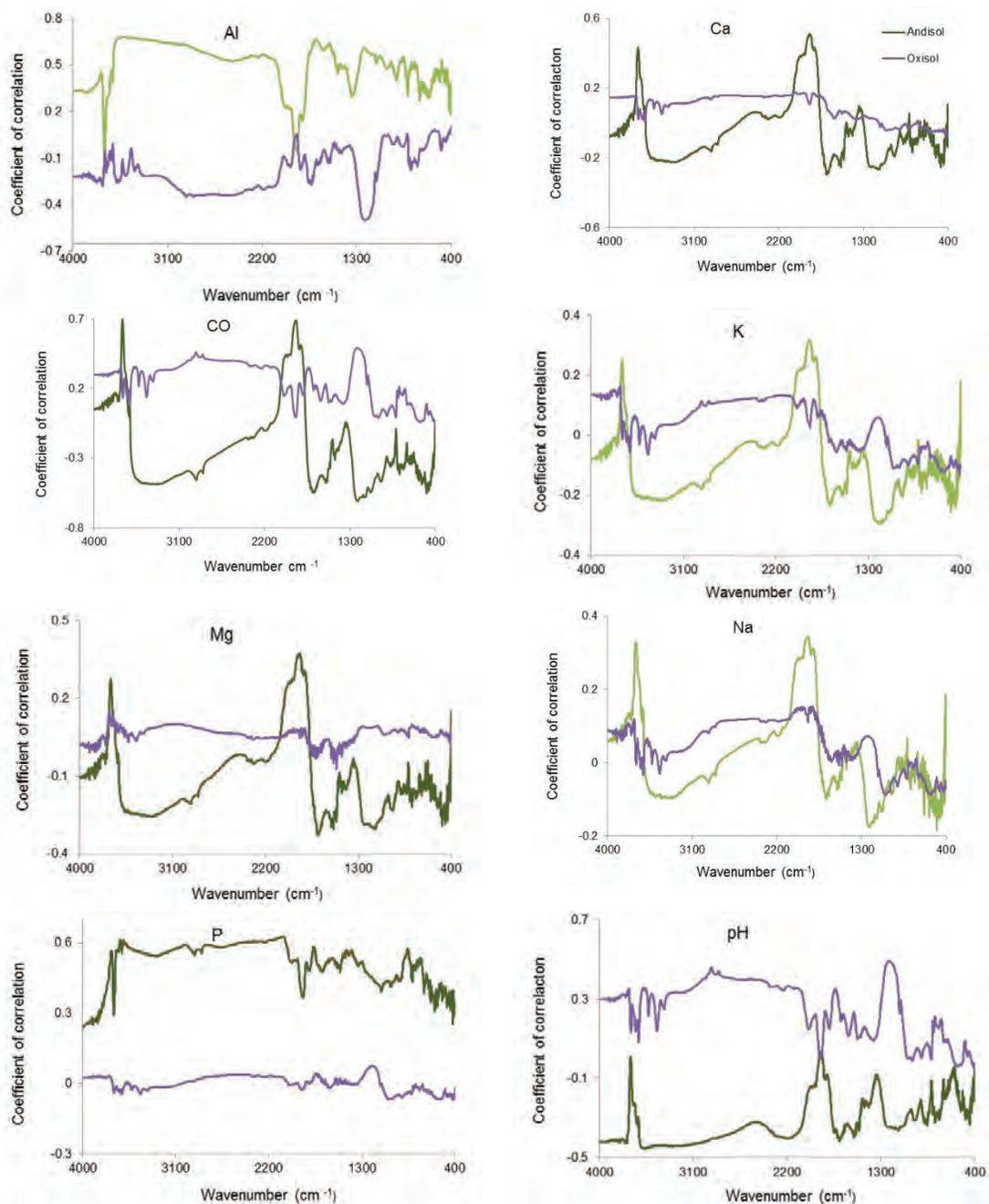


Figure 2. Spectral correlation with the soil attributes from Cundinamarca (Andisol) y Meta (Oxisol).

The pH in the Andisol had a -0.3 inverse correlation up to the region of 1747cm^{-1} , where it started to show a positive correlation. For the Oxisol, this property had a higher positive correlation of 0.5. By analyzing the amplitude of this attribute for these soils, the Oxisol presented a range of 0.55, being greater than the amplitude of the Andisol, whose value was 0.48. In general, one can say that these curves allowed for a similar estimation for this attribute from spectral models.

Calibration of the models. The models obtained for the Andisol were generally acceptable, where the outstanding attributes were OC ($R^2 = 0.82$, $\text{RPD} > 2.3$) and P ($R^2 = 0.69$, $\text{RPD} > 1.8$) (Table 1). In general, the soil OC always presented good models for estimating this attribute from the spectral responses (Camacho-Tamayo *et al.* 2014; McDowell *et al.* 2012). For the Oxisol, the models showed lower quality for different attributes, where the contents of OC and Al had a

good response, with values of $R^2 = 0.74$ and $RPD > 1.95$; $R^2 = 0.65$; $RPD > 1.61$, respectively. The other attributes did not indicate a good estimation from the models. These results are consistent with the correlations because the Oxisol was less reliable in the calibration models, coinciding with the report by Reeves *et al.* (2006).

Descriptive statistics. Once the models were calibrated and validated, the localization and dispersion measurements of the data recorded in the laboratory and those estimated with the models (Table 2) were verified, where a similarity between the measurements and estimations was observed for the different attributes with similar mean, median, coefficient of

Table 1. Results of the calibration models for soil attributes prediction from Cundinamarca y Meta.

ATRIBUTTE	DEPARTAMENT	R^2	RMSE	RPD
Al	Cundinamarca	0.75	1.43	1.98
	Meta	0.65	0.16	1.61
Ca	Cundinamarca	0.86	1.56	2.67
	Meta	0.01	2.03	1.00
CO	Cundinamarca	0.82	0.59	2.30
	Meta	0.74	0.10	1.95
K	Cundinamarca	0.21	0.54	1.03
	Meta	0.30	0.16	1.14
Mg	Cundinamarca	0.73	0.43	1.90
	Meta	0.35	0.02	1.16
Na	Cundinamarca	0.07	0.07	1.03
	Meta	0.20	0.01	1.06
P	Cundinamarca	0.69	8.17	1.80
	Meta	0.03	1.08	0.99
pH	Cundinamarca	0.76	0.14	2.02
	Meta	0.44	0.10	1.32

variation (CV), skewness and kurtosis values. This similarity was higher for the OC, Al and pH for the Andisol and Oxisol due to the better model, as compared to the results obtained for the other attributes, whose spectral models were slightly representative, with the exception of Ca, Mg and P for the Andisol. On the other hand, the attributes that resulted in good models also presented a similar behavior in the statistical description, estimated with the models.

In performing the analysis through the MIR spectroscopy, the soil properties demonstrated different levels of reflectivity in similar spectral regions. This difference was more notable in the Andisol, where the spectral peaks were lower, a fact attributable to the compounds of the OM, which tended to obscure the soil, absorbing the infrared light.

Geostatistical analysis. For the Andisol, the Al, Ca, CO, estimated K, Mg, estimated Na, measured P and pH were fit to the exponential model. The measured K and measured Na were fit to a Gaussian model and finally the estimated P was fit to the spherical model. In all of the attributes, the ranges

were different (Table 3). These results are similar to those reported by Esfandiarpour *et al.* (2010).

The spatial dependence in all of the analyzed attributes was moderate to strong. The Al, Ca, CO, K, Mg, Na, P and pH presented a moderate spatial dependence and the estimated Mg and Na had a strong spatial dependence, a similar behavior in studies by Jaramillo (2009) for soils with andic properties in Colombia. The moderate spatial dependence in most of the attributes may indicate that these soils still retain their edaphic-genetic variability, which comes from factors such as slope, relief and rainfall, among others, although these soils are used for agricultural activities. The R^2 for most of the attributes was greater than 0.70, which may indicate good accuracy of attributes with kriging (Table 3).

For the Oxisol, the exponential and Gaussian models presented a better fit. For the Al, OC, estimated Mg, estimated Na, P and measured pH, an exponential model was used and, for the Ca, K, measured Mg, and measured Na, spherical and Gaussian models were used (Table 3).

Table 2. Descriptive statistics of the attributes, for the measured (Med.) and estimated (Est.) data from the spectral models.

Parameter	ATTRIBUTE															
	Al		Ca		CO		K		Mg		Na		P		pH	
	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.
	ANDISOL															
Mean	0.42	0.42	6.72	6.67	5.56	5.58	0.80	0.77	1.12	1.12	0.06	0.06	15.81	15.76	5.39	5.39
Median	0.36	0.39	5.00	5.99	5.50	5.59	0.67	0.77	0.83	0.99	0.06	0.08	11.6	14.24	5.40	5.38
CV (%)	66.48	65.74	61.69	61.35	24.45	24.28	68.81	62.32	73.30	69.17	92.37	34.70	92.97	82.37	5.15	5.03
Minimum	0.10	-0.20	1.8	0.51	2.40	2.28	0.21	-0.26	0.17	-0.50	0.01	0.01	0.61	-5.32	4.70	4.78
Maximum	1.60	1.58	18.30	16.22	9.40	8.74	3.90	1.95	3.80	2.78	0.41	0.13	77.2	65.59	6.00	5.92
Skewness	1.78	1.55	0.98	0.71	0.11	-0.23	2.76	0.02	1.39	0.37	2.58	-0.05	1.76	1.38	-0.18	-0.14
Kurtosis	4.48	5.31	0.04	-0.26	0.2	0.43	11.51	-0.31	1.78	-0.44	7.91	-0.29	3.53	2.63	-0.33	-0.50
	OXISOL															
Mean	1.43	1.43	0.56	0.56	1.60	1.60	0.06	0.06	0.12	0.12	0.07	0.07	3.97	3.96	4.74	4.74
Median	1.40	1.42	0.37	0.60	1.61	1.60	0.06	0.06	0.11	0.12	0.07	0.07	3.62	3.99	4.76	4.75
CV (%)	18.24	17.92	359.78	23.34	12.83	10.87	29.88	25.00	18.83	17.01	18.32	13.84	45.09	2.48	2.71	2.14
Minimum	0.87	0.81	0.2	-0.20	0.88	1.04	0.03	0.02	0.07	0.06	0.04	0.04	2.00	3.56	4.30	4.43
Maximum	2.06	2.26	25.84	0.67	2.16	2.07	0.13	0.10	0.20	0.17	0.10	0.09	15.98	4.10	5.04	4.98
Skewness	0.03	0.09	12.51	-3.26	-0.35	-0.19	0.68	0.28	1.02	0.25	0.01	-0.22	3.55	-1.75	-0.63	-0.43
Kurtosis	-0.67	0.17	157.4	13.87	0.65	0.56	0.7	0.23	1.00	0.32	-0.87	0.19	18.17	4.08	1.15	0.47

Table 3. Parameters of the theoretical semivariogram models of the Andisol and Oxisol attributes, measured (Med.) and estimated (Est.) data from the spectral models.

Parameter	ATTRIBUTE																	
	Al		Ca		CO		K		Mg		Na		P		pH			
	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.	Med.	Est.		
	ANDISOL																	
Model	Exp.	Exp.	Exp.	Exp.	Exp.	Exp.	Gau.	Exp.	Exp.	Exp.	Gau.	Exp.	Exp.	Exp.	Exp.	Exp.	Exp.	
Co	0.020	0.014	7.530	3.780	0.942	0.433	0.086	0.005	0.349	0.035	0.003	0.00	77.400	7.350	0.043	0.027		
Co + C	0.062	0.040	15.070	10.040	1.885	0.914	0.181	0.010	0.723	0.320	0.007	0.001	256.10	17.770	0.087	0.056		
R, m	58.20	43.80	48.00	49.20	64.20	58.80	76.55	57.00	103.20	10.80	93.18	11.70	324.60	18.20	85.50	94.80		
R ²	0.82	0.95	0.78	0.9	0.92	0.86	0.8	0.76	0.78	0.68	0.82	0.58	0.72	0.65	0.84	0.81		
C/(Co+C)	0.681	0.649	0.500	0.624	0.500	0.526	0.528	0.519	0.517	0.890	0.637	0.882	0.698	0.586	0.501	0.525		
	OXISOL																	
Model	Exp.	Exp.	Sph.	Gau.	Exp.	Exp.	Gau.	Gau.	Sph.	Exp.	Gau.	Exp.	Exp.	Exp.	Exp.	Sph.	Sph.	
Co	0.009	0.005	1.0E-4	0.059	0.005	0.004	0.00	0.001	4.0E-6	0.026	0.00	0.00	0.828	1.258	0.003	0.006		
Co + C	0.063	0.044	0.013	0.443	0.042	0.032	0.00	0.002	1.0E-4	0.184	0.00	0.00	1.657	2.584	0.023	0.013		
R, m	213.60	165.60	57.50	44.30	102.9	90.90	309.0	358.5	63.50	81.30	572.1	95.10	213.90	284.40	217.50	285.60		
R ²	0.95	0.99	0.69	0.72	0.93	0.89	0.99	0.95	0.75	0.91	0.97	0.87	0.68	0.84	0.98	0.99		
C/(Co+C)	0.856	0.880	0.999	0.867	0.879	0.882	0.723	0.503	0.968	0.861	0.710	0.881	0.500	0.513	0.862	0.563		

Co: nugget; Co + C: sill; R: Range

For the K, measured Na, measured P, and estimated pH, there was moderate dependence and, for the rest of the analyzed attributes in the soils from Meta, there was a strong spatial dependence, as reported for the region by Camacho-Tamayo *et al.* (2008) and Peña *et al.* (2009). The R^2 of the attributes, as also reported by Martins *et al.* (2011), was above 0.80, except for the Ca, measured Mg, and measured P, which had R^2 values of 0.69, 0.72, 0.75 and 0.68, respectively. For the attributes with moderate spatial dependence, it could be concluded that the kriging estimation would have less precision, as established by Parfitt *et al.* (2009).

Contour maps. In figure 3, the Al is distributed with the higher values in the left part of the study area, which corresponds to the higher land, but represents a low percentage of the study area. In general, the majority of the studied land presented values lower than $0.35\text{cmol}_c\text{ kg}^{-1}$, located on the right and

central areas of the studied land on both the maps for the estimated and the measured values.

For the Ca, the spatial distribution was given by the higher percentage of the contents of $5.0\text{cmol}_c\text{ kg}^{-1}$, located in the upper-left area of the land, and in the higher contents of around $9.5\text{cmol}_c\text{ kg}^{-1}$, located in the lower-left side of the land, and that decreased toward the right in both maps for the estimated and measured values. The OC in the Andisol had a spatial distribution dominated by the high contents because the values above 6% occupied the higher percentage of the land, mainly in the map of the estimated values. This behavior was expected for this attribute because, in the models obtained for the OC, it presented good estimated. The K had a spatial distribution that was similar to that of the OC, where the contents over $0.82\text{cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ occupied the higher percentage and were located in the lower-left part of the land.

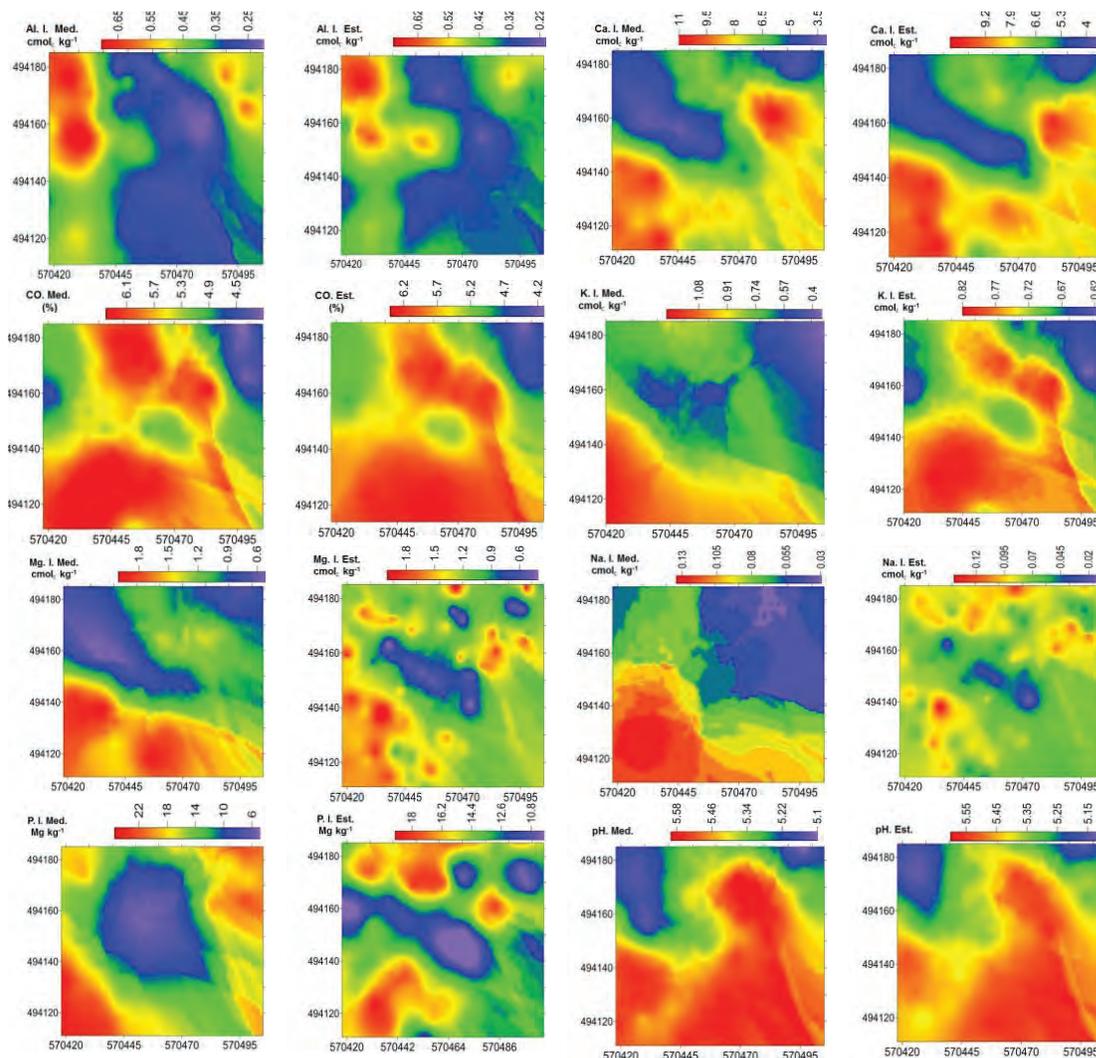


Figure 3. Spatial distribution for soil attributes of the Andisol, obtained by kriging for Al, Ca, CO, K, Mg, Na, P y pH, measurement (Med.) and estimated (Est.).

Attributes such as the Mg and Na did not have good estimation models; for this reason, there is a difference between the maps obtained with the measured values and the maps obtained with the estimated values, resulting from diffusion, spatial distribution. In the analysis of the contour maps for P, there were medium to low contents, with values below 14mg kg⁻¹ and distribution in the center of the map.

The prevailing pH values were 5.5, located at the bottom of the map. When the analysis was carried out, these contents did not vary too much, in a range where the solubility of some attributes was favored, but affecting the others. According to Camacho-Tamayo *et al.* (2008), areas with lower pHs have lower concentrations of Ca and Mg and, therefore, a predominance of low levels of certain bases in the soil.

In the contour maps of the Oxisol, there were different spatial trends for some attributes, where the spectral models did not show

good results, contributing to the quality and representativeness of the spatial distribution maps obtained from these models (Figure 4). The Al had a slightly homogeneous distribution. The higher contents were between 1.4 and 1.7cmol. kg⁻¹, located on the left side of the field. The lower content was between 1 and 1.3cmol. kg⁻¹, located on the right side and bottom of the land, and the intermediate contents were in the central area.

In the analysis of the kriging data interpolation for the pH, the maps had the better fit. The distribution of this attribute was more homogeneous than Al, probably due to the low variability in the content of the soils. On the maps obtained from the measured data as well as the estimated data from the spectral models, the higher pH values were at the bottom of the field, with values between 4.70 and 4.93, with lower ranges at the top, near 4.40. Accordingly, it can be concluded that the upper part of the land had serious acidity problems caused by excesses of Al.

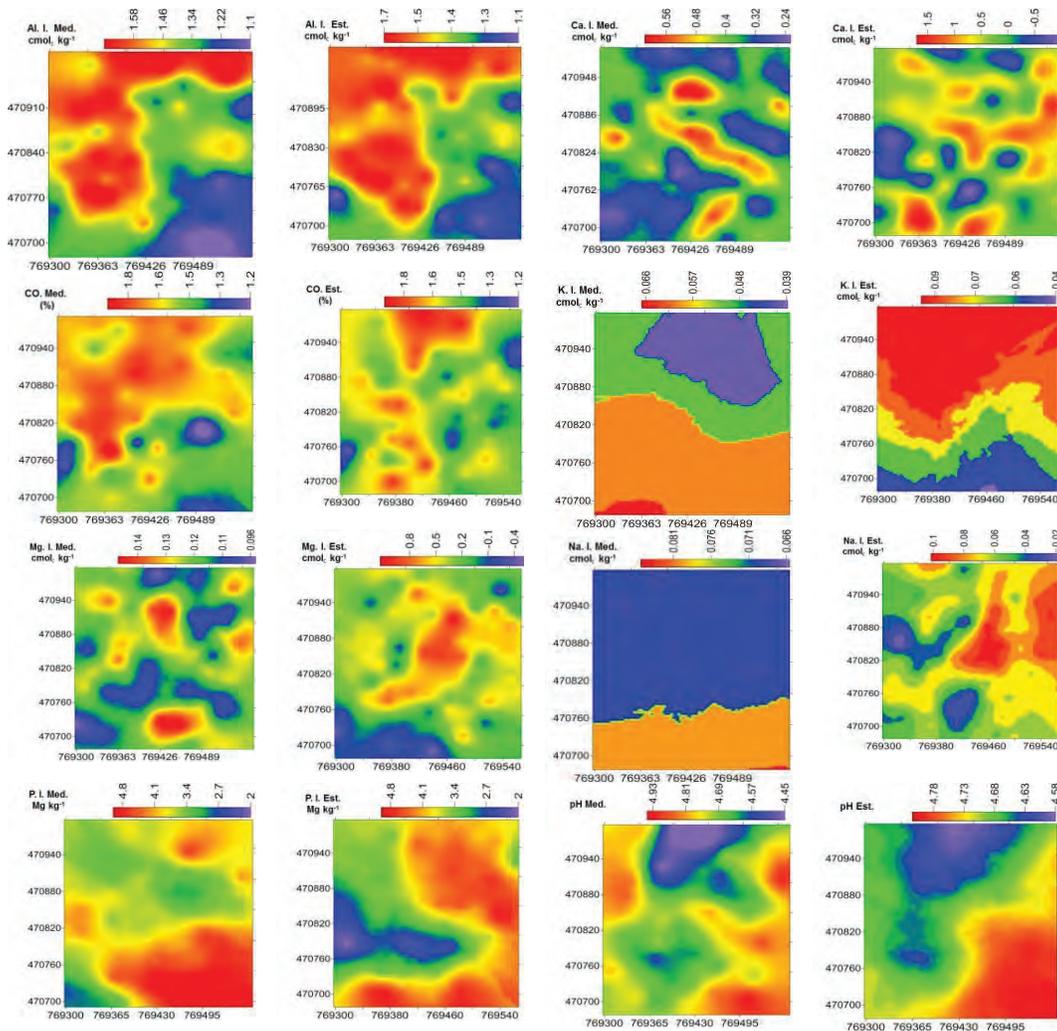


Figure 4. Spatial distribution for soil attributes of the Oxisol, obtained by kriging for Al, Ca, CO, K, Mg, Na, P y pH, measurement (Med.) and estimated (Est.).

Attributes such as exchangeable bases, Na and P did not show good results. This was expected since these attributes presented low contents in the soil and the resulting spectral models were unrepresentative, thereby generating inadequate estimations. This effect was particularly noticeable in the Oxisols, soils with a low cation exchange capacity (Camacho-Tamayo *et al.* 2008).

In analyzing the behavior of the maps, the existence of spatial variability of the soil attributes was confirmed, which provided the ability to identify areas that need amendments (Orjuela-Matta *et al.* 2012), resulting in a way to improve soil use, reducing production costs and environmental pollution (Martins *et al.* 2011).

Similarly, the results of this study demonstrate that, through the mid-infrared reflectance spectroscopy MIR technique, large amounts of samples can be processed, which can provide information for several parameters in one spectrum. In addition, the integration of the laboratory techniques and mathematical modeling based on MIR spectral responses can be successfully performed for the analysis of soil attributes. With the geostatistical analysis, it was concluded that most of the attributes fit to the exponential and spherical models. The analysis of the semivariograms showed that these attributes presented spatial dependence in both the Andisols and the Oxisols, where those attributes that presented a representative spectrum model provided adequate digital maps based on the values estimated by the models.

Acknowledgements. The authors would like to thank the División de Investigación de la Sede Bogotá of the Universidad Nacional de Colombia for partially financing this study through project Código QUIPU 13140. **Conflicts of interest:** This paper was prepared and revised with the participation of all of the authors who declare that there are no conflicts of interest that would negatively affect the validity of these results.

BIBLIOGRAPHY

1. BAILEY, T.C.; GATRELL, A.C. 1998. Interactive Spatial Data Analysis. Harlow, UK: Longman. 413p.
2. BELLON-MAUREL, V.; McBRATNEY, A. 2011. Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopic techniques for assessing the amount of carbon stock in soils - Critical review and research perspectives. *Soil Biol. Biochem.* 43(7):1398-1410.
3. BEHRENS, T.; SCHMIDT, K.; RAMÍREZ-LÓPEZ, L.; GALLANT, J.; ZHU, A.; SCHOLTEN, T. 2014. Hyper-scale digital soil mapping and soil formation analysis. *Geoderma* 213:578-588.
4. BILGILI, A.V.; ES, H.M.; AKBAS, F.; DÜRAK, A.; HİVELİ, W.D. 2010. Visible-near infrared reflectance spectroscopy for assessment of soil properties in a semi-arid area of Turkey. *J. Arid Environ.* 74(2):229-238.
5. BOUMA, J. 1989. Using soil survey data for quantitative le evaluation. *Adv. Soil Sci.* 9:177-213.
6. BOUMA, J.; Van LANEN, H.A.J. 1987. Transfer functions and threshold values: from soil characteristics to le qualities. In: International Workshop on Quantified le Evaluation Procedures, 1987, Washington. Proceedings. Washington. ITC Publ. p.106-110.
7. CAMACHO-TAMAYO, J.H.; RÚBIANO S., Y.; HURTADO S., M.P. 2014. Near-infrared (NIR) diffuse reflectance spectroscopy for the prediction of carbon and nitrogen in an Oxisol. *Agr. Col.* 32(1):86-94.
8. CAMACHO-TAMAYO, J.H.; LUENGAS, C.A.; LEIVA, F.R. 2008. Effect of agricultural intervention on the spatial variability of some soils chemical properties in the Eastern Plains of Colombia. *Chilean J. Agric. Res.* 68(1):42-55.
9. CAMBARDELLA, C.A.; MOORMAN, T.B.; NOVAK, J.M.; PARKIN, T.B.; KARLEN, D.L.; TURCO, R.F.; KONOPKA, A.E. 1994. Field-scale variability of soil properties in Central Iowa Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58:1501-1511.
10. DAZA, M.C.; ALVAREZ, J.; ROJAS, L. 2006. Efecto de materiales orgánicos e inorgánicos sobre las fracciones de fósforo en un Oxisol de los Llanos orientales Colombianos. *Agr. Col.* 24(2):326-333.
11. DUNN, B.W.; BEECHER, H.G.; BATTEN, G.D.; CIAVARELLA, S. 2002. The potential of near-infrared reflectance spectroscopy for soil analysis - a case study from the Riverine Plain of south eastern Australia. *Aust. J. Exp. Agric.* 42(5):607-614.
12. ESFANDIARPOOR BORUJENI, I.; MOHAMMADI, J.; SALEHI, M.H.; TOOMANIAN, N.; POCH, R.M. 2010. Assessing geopedological soil mapping approach by statistical and geostatistical methods: A case study in the Borujen region, Central Iran. *Catena.* 82(1):1-14.
13. GARZÓN, C.A.; CORTÉS, C.A.; CAMACHO-TAMAYO, J.H. 2010. Variabilidad espacial de algunas propiedades químicas en un Entisol. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 13(1):87-95.

14. GRÜNWARD, S. 2009. Multi-criteria characterization of recent digital soil mapping and modeling approaches. *Geoderma*. 152(3-4):195-207.
15. JARAMILLO, D. 2009. Variabilidad espacial de las propiedades ándicas de un andisol hidromórfico del Oriente Antioqueño (Colombia). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 62(1):4907-4921.
16. MARTINS, A.L.S.; MOURA, E.G.; CAMACHO-TAMAYO, J.H. 2011. Evaluation of corn production parameters and their spatial relationship with chemical attributes of the soil. *Agr. Col.* 29(1):99-106.
17. McDOWELL, M.L.; BRULAND, G.L.; DEENIK, J.L.; GRÜNWARD, S.; KNOX, N.M. 2012. Soil total carbon analysis in Hawaiian soils with visible, near-infrared and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Geoderma*, 189-190:312-320.
18. MINASNY, B.; McBRATNEY, A.; MENDONÇA-SANTOS, M.L.; SANTOS, H.G. 2003. Revisão sobre funções de pedotransferência (PTFs) e novos métodos de predição de classes e atributos do solo. Rio de Janeiro: Embrapa solos. (Série Documentos, 45). 50p.
19. MUÑOZ, J.D.; MARTÍNEZ, J.L.; GIRALDO, R. 2006. Variabilidad espacial de las propiedades edáficas y su relación con el rendimiento en un cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Agr. Col.* 24(2):355-366.
20. OKIN, G.S.; PAINTER, T.H. 2004. Effect of grain size on remotely sensed spectral reflectance of sandy desert surfaces. *Remote Sens. Environ.* 89(3):272-280.
21. ORJUELA-MATTA, H.M.; RUBIANO-SANABRIA, Y.; CAMACHO-TAMAYO, J.H. 2012. Spatial analysis of infiltration in an oxisol of the eastern plains of Colombia. *Chilean J. Agric. Res.* 72(3):404-410.
22. PARFITT, J.M.B.; TIMM, L.C.; PAULETTO, E.A.; SOUSA, R.O.; CASTILHOS, D.D.; de ÁVILA, C.L.; RECKZIEGEL, N.L. 2009. Spatial variability of the chemical, physical and biological properties in lowland cultivated with irrigated rice. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 33(4):819-830.
23. PEÑA, R.; RUBIANO, Y.; PEÑA, A.; CHAVES B. 2009. Variabilidad espacial de los atributos de la capa arable de un inceptisol del piedemonte de la cordillera oriental (Casanare, Colombia). *Agr. Col.* 27(1):111-120.
24. PLANT, R. 2001. Site-specific management: The application of information technology to crop production. *Comp. Electron Agr.* 30(1-3):9-29.
25. REEVES, J.B.; FOLLETT, R.F.; McCARTY, G.W.; KIMBLE, J.M. 2006. Can near or mid infrared diffuse reflectance spectroscopy be used to determine soil carbon pools? *Soil Sci. Plant Anal.* 37(15-20):2307-2325.
26. SHEPHERD, K.D.; WALSH, M.G. 2007. Infrared spectroscopy - enabling an evidence-based diagnostic surveillance approach to agricultural and environmental management in developing countries. *J. Near Infrared Spectrosc.* 15(1):1-20.
27. TITTONELL, P.; SHEPHERD, K.; VANLAUWE, B.; GILLER, K. 2008. Unravelling the effects of soil and crop management on maize productivity in smallholder agricultural systems of western Kenya: An application of classification and regression tree analysis. *Agr. Ecosyst. Environ.* 123(1-3):137-150.
28. VISCARRA-ROSSEL, R.A.; WALVOORT, D.J.J.; McBRATNEY, A.B.; JANIK L.J.; SKJEMSTAD J.O. 2006. Visible, near infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. *Geoderma*. 131(1-2):59-75.
29. VISCARRA-ROSSEL, R.A. 2008. ParLeS: Software for chemometric analysis of spectroscopic data. *Chemomet. Intell. Lab. Syst.* 90(1):72-83.
30. VOHLAND, M.; LUDWIG, M.; THIELE-BRUHN, S.; LUDWIG, B. 2014. Determination of soil properties with visible to near- and mid-infrared spectroscopy: Effects of spectral variable selection. *Geoderma*. 223-225:88-96.
31. WOLD, S.; SJÖSTRÖM, M.; ERIKSSON, L. 2001. PLS-regression: la basic tool of chemometrics. *Chemomet. Intell. Lab. Syst.* 58(2):109-130.

Recibido: Marzo 15 de 2015

Aceptado: Febrero 22 de 2016

Cómo citar:

Bonett, J.P.; Camacho-Tamayo, J.H.; Vélez Sánchez, J.E. 2016. Estimating soil properties with mid-infrared spectroscopy. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 55-66.

BACTERIAS ENDÓFITAS ASOCIADAS A LOS GÉNEROS *Cyperus* Y *Paspalum* EN SUELOS CONTAMINADOS CON MERCURIO

ENDOPHYTIC BACTERIA ASSOCIATED TO GENUS *Cyperus* AND *Paspalum* IN SOILS WITH MERCURY CONTAMINATION

Alexander Pérez¹, Dalila Martínez², Zafiro Barraza³, José Marrugo⁴

¹Dr. Agr. Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de investigación en Bioprospección Agropecuaria, e-mail: alexander.perez@unisucra.edu.co; ² Biol. Universidad de Sucre, cM.Sc. en Ciencias Ambientales, Grupo de investigación en Bioprospección Agropecuaria, e-mail: dalilamartinez23@hotmail.com; ³ Biol. Universidad de Sucre, M.Sc. en Biotecnología, Grupo de investigación en Bioprospección Agropecuaria, e-mail: zafiro.barraza@unisucra.edu.co; Campus Universitario Puerta Roja, carrera 28 No. 5 - 267, Sincelejo, Sucre, Colombia. ⁴Dr. Ing. Qui. Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de investigación de Aguas, Química Aplicada y Ambiental, e-mail: jmarrugo@correo.unicordoba.edu.co; Campus universitario, carrera 6 No. 76-103, Montería, Córdoba, Colombia.

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 67-76, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue aislar e identificar bacterias endófitas resistentes a mercurio, asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum*, en suelos de Mina Santa Cruz, Bolívar, Colombia. Para ello, se colectaron muestras de suelo y de plantas herbáceas, con el fin de evaluar, mediante espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío, la concentración de mercurio total. Se utilizaron muestras de tejidos vegetales para el aislamiento y la determinación poblacional de bacterias endófitas. La resistencia a mercurio *in vitro* de los aislados, se evaluó en agar nutritivo suplementado con HgCl₂; los aislados resistentes fueron identificados, a nivel molecular. La concentración de mercurio total en el suelo de Mina Santa Cruz fue de 4,7mg·kg⁻¹. Las especies vegetales colectadas fueron *Paspalum arundinaceum*, *Cyperus luzulae* y *Cyperus laxus*. La mayor concentración de mercurio en los tejidos vegetales fue encontrada en raíz, con un rango de 1,5 a 3,8mg·kg⁻¹. Las especies *P. arundinaceum* y *C. laxus* presentaron las mayores densidades poblacionales de endófitas en sus tejidos 1 x 10⁸ UFC, aproximadamente. Se aislaron siete bacterias endófitas resistentes, a concentraciones de 350 y 400 ppm de mercurio. De los tejidos de *P. arundinaceum*, se aislaron cuatro bacterias, que corresponden a *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia* sp. y dos aislados tuvieron gran similitud con *Bacillus* sp.; para *C. luzulae*, se aislaron dos endófitas resistentes a mercurio, una identificada como *Ralstonia solanacearum* y, la otra, como *Burkholderia*

sp.; para *C. laxus*, un aislado que hace parte de la familia Xanthomonadaceae, también tuvo resistencia a mercurio.

Palabras clave: Minería, metales pesados, resistencia, herbáceas.

SUMMARY

The objective of this study was to isolate and identify endophytic bacteria mercury resistant, associated to the genus *Cyperus* and *Paspalum* in the locality of Mine Santa Cruz, Bolivar, Colombia. Soil and herbaceous plant samples were collected to evaluate total mercury concentration in soil and plant tissues, using cold-vapour atomic absorption spectrophotometry. The plant tissue samples were used for isolation and population determination of endophytic bacteria. The mercury resistance of isolates was evaluated in nutrient agar supplemented with HgCl₂, the resistant isolates were identified molecularly. The total concentration of mercury in the soil of Mine Santa Cruz was 4.7mg·kg⁻¹. Plant species collected were *Paspalum arundinaceum*, *Cyperus luzulae* and *Cyperus laxus*. The highest concentration of mercury in plant tissues was found in root with a range of 1.5 to 3,8mg·kg⁻¹. The species *P. arundinaceum* and *C. laxus* presented the greater population densities of endophytic bacteria in their tissues about 1 x 10⁸ UFC. Seven endophytic bacteria, resistant to concentrations of 350 and 400ppm of mercury were isolated. From *P. arundinaceum* tissues four bacteria corresponding to *Burkholderia cepacia*,

Burkholderia sp. and two isolates similar to *Bacillus* sp., from *C. luzulae* two endophytic bacteria resistant to mercury, one identified as *Ralstonia solanacearum* and the other one as *Burkholderia* sp.; from *C. laxus* tissues one bacteria belonging to family Xanthomonadaceae, resistant to mercury, was isolated.

Key words: Mining, heavy metals, resistance, herbaceous plants.

INTRODUCCIÓN

El mercurio, se constituye como uno de los metales tóxicos que más afecta el bienestar de los ecosistemas y pone en riesgo a la salud humana. A nivel mundial, se ha confirmado que la exposición a altas concentraciones de mercurio genera efectos adversos a la salud, tales como desórdenes en el sistema nervioso central, cardiovascular, inmune y renal (Holmes *et al.* 2009). En las plantas las altas concentraciones de mercurio inducen estrés oxidativo, por la generación de especies reactivas de oxígeno, inhibición del crecimiento y peroxidación lipídica (Cui *et al.* 2014). Este metal también afecta la comunidad microbiana del suelo que soporta el ciclado de nutrientes, lo cual, disminuye la fertilidad y la descomposición de materia orgánica, en sitios contaminados.

En Colombia, la minería de oro es desarrollada por personas en condición de vulnerabilidad, sin asistencia técnica y con métodos muy rudimentarios, que generan un enorme impacto ambiental. Se calcula que el mercurio total liberado al ambiente puede alcanzar las 150t, dándole a Colombia un vergonzoso primer lugar, como el país que más contaminación de mercurio genera *per cápita*, en esta actividad (Cordy *et al.* 2011). El corregimiento de Mina Santa Cruz perteneciente al municipio de Barranco de Loba, sur de Bolívar, presenta una alta contaminación con mercurio en matrices ambientales, debido a las corrientes de amalgamación que salen de los molinos utilizados en la minería artesanal de oro, realizada en el casco urbano, de dicha población (Argumedo *et al.* 2013).

Actualmente, para mitigar los efectos de la contaminación con metales, se están utilizando técnicas, como la fitorremediación, que es una tecnología efectiva, económica y amigable con el medio ambiente, que está recibiendo mucha atención, a nivel mundial. El éxito de la fitorremediación depende de la habilidad de la planta para tolerar altas concentraciones de metales y producir gran cantidad de biomasa (Ma *et al.* 2011). Las bacterias endófitas que viven en los tejidos internos de las plantas favorecen la eficiencia del proceso de fitorremediación y aumentan la producción de biomasa vegetal, mediante tres mecanismos: incremento de la superficie de la raíz y la producción de pelos radiculares; incremento de la

disponibilidad de los metales y el incremento en la transferencia de metales solubles, desde la rizósfera hasta la planta (Weyens *et al.* 2009; Ma *et al.* 2011); algunos, de las bacterias endófitas estudiados.

Especies de bacterias endófitas asociadas a tejidos de plantas que crecen en suelos contaminados por mercurio pueden estar resistiendo *in situ* a dicho metal; para conocer esta realidad, se hizo necesario realizar el presente estudio, con el objetivo de aislar e identificar bacterias endófitas asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum*, que crecen en suelos contaminados con mercurio, en el departamento de Bolívar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Identificación de zonas contaminadas con mercurio en el departamento de Bolívar. Para la identificación, se hizo un levantamiento de la información bibliográfica que reporta ambientes contaminados con este metal pesado, en el caribe colombiano (Vidal *et al.* 2010; Argumedo *et al.* 2013). El sitio seleccionado correspondió al corregimiento de Mina Santa Cruz, jurisdicción del municipio de San Martín de Loba, ubicado en el sur de Bolívar, Colombia. Las coordenadas geográficas de este corregimiento son: 08° 42' 31" latitud Norte y 74° 11' 54,6" longitud Este. La comunidad de Mina Santa Cruz, se dedica, principalmente, a la explotación artesanal de oro, que se desarrolla dentro del casco urbano. Dicho proceso conlleva a concentraciones elevadas de mercurio en suelo, debido a las corrientes acuosas que salen de los molinos de amalgamación y a la quema de mercurio, para purificación de oro.

Recolección e identificación del material vegetal. El muestreo, se realizó aleatoriamente en forma de zig-zag, colectando, al mismo tiempo, muestras de suelos hasta completar 1kg y 10 plantas completas (raíz, tallo y hojas), por cada especie. Para la recolección y la selección de las plantas, se tuvieron en cuenta aquellas especies con buen estado fitosanitario y sin presencia de síntomas de fitotoxicidad. Las muestras de suelo y de plantas herbáceas fueron conservadas, identificadas y transportadas al laboratorio de investigaciones microbiológicas, de la Universidad de Sucre. Una parte de las muestras de suelo y de tejido fueron enviadas a la Universidad de Córdoba, para la determinación de la concentración total de mercurio; otra parte de la muestra de suelo fue destinada para análisis fisicoquímico. Una porción del material vegetal fue utilizada para identificación taxonómica, en el herbario Nacional Colombiano, de la Universidad Nacional de Colombia y, la otra, para el aislamiento y la determinación de bacterias endófitas asociadas por tejido.

Análisis físico-químico del suelo. Se colectaron las muestras en una extensión de una hectárea, marcando los puntos de muestreo al azar, abarcando toda el área. Para la

toma de muestra, se empleó la metodología recomendada por el IGAC (2015). Se tomaron 100g de suelo, se extendió sobre un plástico y se secó a temperatura ambiente, en un lugar seco, durante cuatro días; luego, se empleó un tamiz redondo de 2mm, para obtener tierra fina. Se utilizó la metodología de Olarte *et al.* (1979), para evaluar parámetros, como el pH, la materia orgánica, el fósforo, el CIC, el calcio, el magnesio, el potasio, el sodio, el aluminio intercambiable, la textura, la saturación de calcio, la saturación de magnesio, la saturación de sodio, la saturación de aluminio, la relación calcio/magnesio, la conductividad eléctrica y la densidad aparente.

Concentración de mercurio en muestras de suelo y plantas. Las muestras de plantas, se dividieron en diferentes tejidos raíz, tallo y hojas, que fueron lavados con agua destilada, para eliminar partículas minerales, adsorbidas por su superficie. Luego, cada tejido se depositó en bolsas de papel y se secó en horno a 60°C, durante 24 h. Para determinar el mercurio total en dichas muestras, se tomaron 0,5 g de material seco y se le adicionó una mezcla ácida HNO₃/H₂O₂ (5+2mL). Por otra parte, del suelo, previamente secado, se tomaron 0,5g y se le adicionaron 10mL de HNO₃ al 65%. Tanto las muestras de suelo como las de plantas fueron procesadas en un horno microondas Milestone ETHOS TOUCH serie 127697 y se analizó el mercurio total por espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío, según procedimientos descritos en Marrugo-Negrete *et al.* (2015).

Aislamiento de bacterias endófitas. Se llevó a cabo en el laboratorio de investigaciones microbiológicas de la Universidad de Sucre. Para ello, las muestras de material vegetal fueron sometidas a un proceso de desinfección superficial, descrito por Pérez *et al.* (2010). Luego de este proceso, cada tejido se maceró en un mortero de porcelana con nitrógeno líquido, hasta obtener una mezcla homogénea. De cada homogenizado, se prepararon diluciones seriadas, que se sembraron por técnica de difusión, sobre la superficie de agar R2A y se incubaron a 28°C, por 72 h. La densidad poblacional de bacterias endófitas por tejido, (UFC/g de tejido, se estimó por conteo directo de colonias en placas. Durante el conteo, se observaron y se seleccionaron las colonias en cuanto a forma, aspecto de la superficie, color y tamaño. Los morfotipos seleccionados fueron purificados y mantenidos en agar R2A (Pérez *et al.* 2015).

Evaluación *in vitro* de la resistencia a mercurio de bacterias endófitas. Los aislados bacterianos fueron sembrados en agar nutritivo suplementado con HgCl₂, a concentraciones de 100, 150, 200, 250, 300, 350 y 400 ppm; luego, se incubaron a 29°C, por 7 días (Sorkhoh *et al.* 2010).

Identificación molecular de bacterias endófitas. La extracción de ADN genómico de bacterias endófitas resistentes a mercurio, se realizó mediante el protocolo planteado por Oliveira *et al.* (2013). Para la amplificación del gen ARNr 16S, se utilizaron tres juegos de cebadores específicos: F BLS342 (5' CAGCAGTAGGGAATCTTC 3') y R 1392 (5' ACGGGCGGTGTGTACA 3'), para la clase firmicutes; F 948β (5' CGCACAAGCGGTGGATGA 3') y R 1492 (5' TACGG(C/T) TACCTTGTTACGACTT 3'), para la clase betaproteobacteria; FD2 (5' AGAGTTTGATCATGGCTCAG 3') y RP1 (5' ACGGTTACCTTGTTACGCTT 3'), para la clase gammaproteobacteria. Las condiciones utilizadas en cada reacción de amplificación, se basaron en el protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2013), empleando un termociclador mastercycler nexus eppendorf. Los productos obtenidos de la amplificación, se purificaron y se secuenciaron en MacroGen Corea. Las secuencias obtenidas, se compararon con las almacenadas en el Genbank. El alineamiento de las bases, se realizó en el programa Clustal w, su análisis y corrección en el programa Mega 5, las inferencias filogenéticas fueron obtenidas por el método de máxima similitud, basado en el modelo kimura-2-parámetro.

Análisis estadístico. Se utilizó un diseño completamente al azar con un solo factor, utilizando tres repeticiones. Para establecer diferencias entre las densidades poblacionales de las tres especies de pasto recolectadas en Mina Santa Cruz, se realizó una transformación de los datos para ajustarlos a la normalidad y se aplicó una ANOVA, utilizando el programa estadístico Infostat versión gratuita.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación del material vegetal. Se recolectaron tres especies de plantas establecidas en la región de Mina Santa Cruz: *Paspalum arundinaceum* Poiret, *Cyperus luzulae* (L.) Rottb. *ex* Retz y *Cyperus laxus* Vahl. La primera especie, *P. arundinaceum*, se conoce en la región como pasto, pertenece a la familia poaceae, se caracteriza por tener reproducción sexual y ser perenne y tiene una gran importancia económica, al ser utilizada para la producción de forraje (Evers & Burson, 2004). Por su parte, las especies *C. luzulae* y *C. laxus*, son conocidas en la región como coquito y hierba, respectivamente, ambas pertenecen a la familia cyperaceae, poseen reproducción sexual, son perennes y arvenses, están localizadas, principalmente, en áreas abiertas y ambientes perturbados (Bryson & Carter, 2008), tal como ocurre en Mina Santa Cruz.

Análisis físico-químico del suelo. Los resultados de los parámetros físico-químicos encontrados en la muestra de suelo recolectada en la zona de Mina Santa Cruz, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Análisis físico-químico suelo de Mina Santa Cruz.

Parámetro	Valor	Interpretación	Valores de referencia
pH (Agua 1:1 P/V)	4,39	Extremadamente ácido	5,80 – 7,20
Materia orgánica (%)	0,10	Contenido muy pobre	2,0 – 4,0
Fósforo (ppm), Bray II	17,76	Contenido moderado	15 – 30
C.I.C. (meq/100 gr de suelo)	9,00	Contenido pobre	10 – 20
Calcio (Cmol.kg ⁻¹ suelo)	2,20	Contenido muy pobre	5 – 7
Magnesio (Cmol.kg ⁻¹ suelo)	1,30	Contenido muy pobre	2 – 3
Potasio (Cmol.kg ⁻¹ suelo)	0,02	Contenido muy pobre	0,2-0,4
Sodio (Cmol.kg ⁻¹ suelo)	1,70	Contenido abundante	<1,0
Aluminio intercambiable (Cmol.kg ⁻¹ suelo)	5,59	Contenido excesivo	<0,2
Textura (M. Bouyoucos)	F.A.	Franco arenoso	Franco arcilloso
Arena (%)	57,25		20 – 50
Arcilla (%)	15,00		20 – 60
Limo (%)	27,75		20 – 70
Saturación de calcio (%)	20,35	Contenido pobre	50 – 70
Saturación de magnesio (%)	12,03	Contenido moderado	20 – 30
Saturación de sodio (%)	15,73	Contenido abundante	<6,0
Saturación de aluminio (%)	51,24	Contenido excesivo	<5,0
Relación calcio /magnesio	1,69	Baja	2 – 4 (normal)
Conductividad eléctrica (MicroS/cms)	386	Suelo sódico	< 2.000

La tabla indica que los suelos presentaron las siguientes características: Valores de pH extremadamente ácido; contenidos de materia orgánica, de calcio, de magnesio y de potasio, muy pobre; contenido de fósforo y porcentaje de saturación de magnesio, moderado; capacidad de intercambio catiónico y porcentaje de saturación de calcio, deficiente; abundantes contenidos de sodio; contenido abundante de aluminio y textura franco arenosa presente.

La presencia de un pH extremadamente ácido encontrado en la zona de estudio, quizá, indica que la absorción del mercurio es alta y, como consecuencia, es fácilmente transportado en el suelo por escorrentía hacia cuerpos de agua aledaños, lo que concuerda con lo reportado por Kabata-Pendias (2011) y Terán-Mita *et al.* (2013). Asimismo, el contenido excesivo de aluminio en estos suelos está muy relacionado con el pH ácido del mismo, lo que podría causar inhibición del crecimiento radical y, como resultado, reducción en la toma de agua y de nutrientes por parte de las plantas (Casierra-Posada & Aguilar-Avenidaño, 2007).

Con relación a la capacidad de intercambio catiónico deficiente del suelo en la zona de estudio es causada, principalmente, por la baja cantidad de materia orgánica y el bajo contenido de arcilla de dicho suelo. Valores bajos de CIC afectan significativamente el contenido de calcio,

de magnesio y de potasio, necesarios para el crecimiento y la nutrición de las plantas (Casierra-Posada & Aguilar-Avenidaño, 2007). Con respecto a la conductividad eléctrica, los suelos de Mina Santa Cruz son suelos sódicos, en los cuales, la presencia de sodio supera el 15%, en el complejo de intercambio del suelo; esto hace, que sean físicamente inestables, que se desmenucen y se agrieten cuando se secan y se hundan cuando están húmedos. Cuando se endurecen son relativamente impermeables al agua, favoreciendo la escorrentía que transporta arcilla en suspensión, materia orgánica y nutrientes, lo que limita el crecimiento de plantas, como el arroz y el maíz (Sánchez & Curetti, 2006).

Concentración de mercurio en muestras de suelo y de plantas. Las concentraciones de mercurio en suelos, generalmente, oscilan entre 0,01 y 0,2mg·kg⁻¹, de acuerdo a lo reportado por Adriano (2001), pero se pueden incrementar, significativamente, en suelos afectados por la minería. Esto se evidenció en la concentración de mercurio del suelo de Mina Santa Cruz, cuyo valor fue de 4,7mg·kg⁻¹, considerándose un suelo de categoría tóxico, por encontrarse dentro del rango de 0,3–5mg·kg⁻¹; a estas concentraciones, el mercurio comienza a inhibir procesos en el suelo, tales como la respiración microbiana, la mineralización y la nitrificación (Poschenrieder & Barceló, 2003; Kabata-Pendias, 2011).

Respecto a las concentraciones de mercurio registradas en los tejidos de las tres especies de plantas, se observaron diferencias, como se muestra en la figura 1.

Cabe señalar, que la raíz fue el tejido en todas las especies estudiadas que mayor concentración de mercurio presentó, seguido por las hojas y, por último, el tallo. Marrugo-Negrete

et al. (2015) confirman la acumulación de mercurio en mayor proporción en las raíces que en las partes aéreas de las plantas; lo anterior se explica, debido a que las raíces de las plantas están expuestas directamente al mercurio del suelo y, sobre ellas, se adhiere una gran cantidad del metal para evitar los efectos tóxicos, en las partes superiores de la planta (Wang & Greger, 2004).

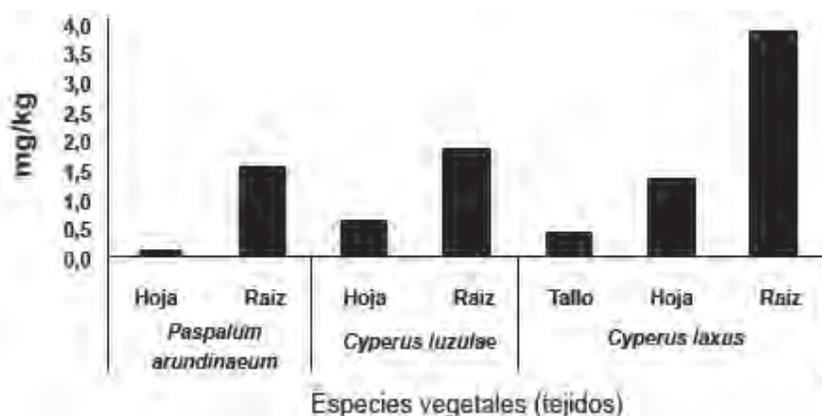


Figura 1. Concentración de mercurio en los tejidos de las tres especies de plantas establecidas en la zona de Mina de Santa Cruz, Bolívar, Colombia.

Por otra parte, la mayor concentración de mercurio en hojas, con respecto a tallos, se debe a que éstas son el receptor final del metal en la planta y allí cambia su estado de oxidación de Hg^{2+} a Hg^0 , debido a que es fitoquelado y acumulado en las vacuolas, como mecanismo de resistencia tóxica (Moreno *et al.* 2008). Además, gran parte del metal que llega a las hojas es potencialmente fitovolatilizado, lo que implica que no todo el mercurio que llega a esta parte de la planta es acumulado (Vidal *et al.* 2010).

Con respecto al tallo, la baja concentración de mercurio contenida en éste, se encuentra relacionada con la función que cumple dicho tejido, puesto que se encarga de transportar agua, minerales y alimentos a otras partes de la planta, como las hojas y no tiene como propósito acumular metal (Marrugo-Negrete *et al.* 2015).

Cyperus laxus tuvo la mayor concentración de mercurio en sus tejidos y, según Escalante-Espinosa *et al.* (2005), se considera una especie idónea para llevar a cabo procesos de fitorremediación, de forma satisfactoria. Esta especie, según Escalante-Espinosa *et al.* (2005) y López-Martínez *et al.* (2008), esta reportada como fitorremediadora de suelos contaminados con hidrocarburos, pero su excelente estado fitosanitario a concentraciones altas de mercurio y su abundancia en la zona de estudio, la convierten en una especie con gran potencial fitorremediador. Se ha

demostrado, según Kabata-Pendias (2011), que a partir de 1 a $8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ se establece un nivel crítico de mercurio para el crecimiento de las plantas, lo cual, induce estrés oxidativo por especies reactivas de oxígeno y cambios visibles en su fisiología (Yadav, 2010).

Densidad poblacional de bacterias endófitas. Se aislaron un total de 99 morfotipos de bacterias endófitas asociadas a la especie *P. arundinaceum*; 83 morfotipos, para *C. luzulae* y 93 morfotipos, para *C. laxus*. El análisis de varianza de la densidad poblacional de bacterias endófitas, para las tres especies de plantas, mostró diferencias altamente significativas ($p < 0,01$), tal como se observa en la figura 2, siendo las especies *P. arundinaceum* y *C. laxus* las que presentaron las mayores densidades poblacionales de bacterias endófitas en sus tejidos, con valores promedios de $1,3 \times 10^8$ y $1,2 \times 10^8$ UFC/g de tejido, respectivamente, mientras que *C. luzulae* fue la especie con menor densidad de bacterias endófitas, con un promedio de $2,7 \times 10^7$ UFC/g de tejido.

Al comparar estos valores con la densidad poblacional de bacterias endófitas aisladas de otras plantas herbáceas, como *Bothriochloa pertusa*, también conocida como pasto colosua, según lo demostrado por Pérez *et al.* (2010), el rango estuvo entre $3,4 \times 10^3$ a $5,3 \times 10^4$ UFC, mientras que la densidad poblacional de endófitas de las plantas de

Mina Santa Cruz fue mucho mayor, con un rango de $2,8 \times 10^7$ a $1,2 \times 10^8$ UFC. Lo anterior puede ser ventajoso para las plantas de los géneros *Paspalum* y *Cyperus* de Mina Santa Cruz, pues la gran densidad de bacterias endófitas que poseen, según Ma *et al.* (2011), ayuda a las plantas a

crecer bajo condiciones de estrés, debido a que las inducen a tolerar altas concentraciones de metales pesados y promueven su crecimiento, mediante la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, producción de sideróforos y de la ACC desaminasa, entre otros.

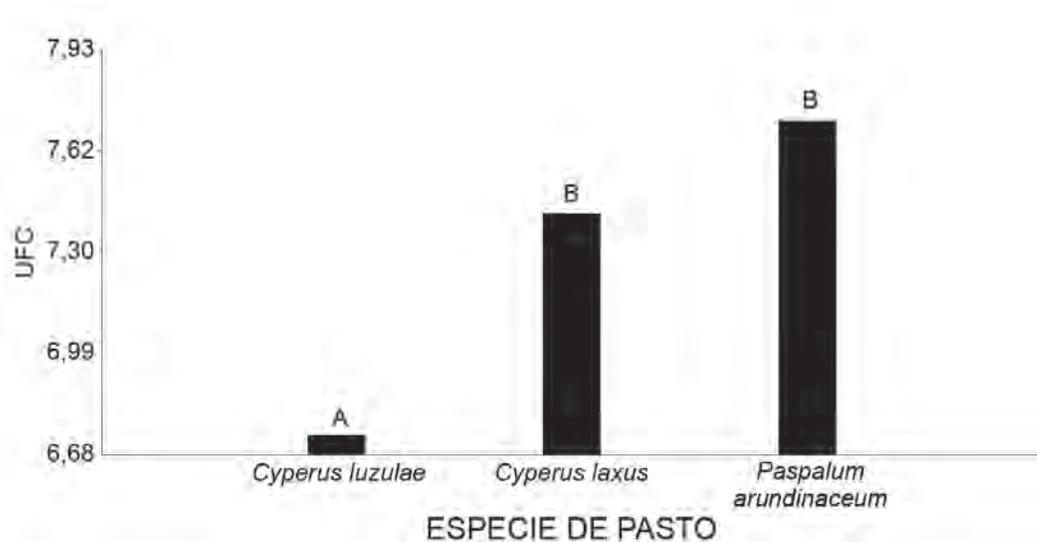


Figura 2. Diferencia de densidad poblacional entre los géneros *Cyperus* y *Paspalum*.

Evaluación *in vitro* de la resistencia a mercurio de bacterias endófitas: La tabla 2 muestra un total de siete bacterias endófitas asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum*, que crecieron a concentraciones de 350 y 400 ppm de mercurio. Cuatro morfotipos estaban asociados a la especie *Paspalum arundinaceum*: dos morfotipos, a *Cyperus luzulae* y un morfotipo, a *Cyperus laxus*. Como lo advierten Sorkhoh *et al.* (2010), el crecimiento a altas concentraciones de mercurio indica la resistencia de las bacterias endófitas a dicho metal.

Para Luo *et al.* (2011), la resistencia a altas concentraciones de metales que presentan las endófitas aisladas de plantas que crecen en ambientes contaminados, se debe a que se adaptan a vivir bajo condiciones de constante estrés por el metal. Algunos autores han descrito los beneficios de las endófitas resistentes a metales sobre el crecimiento y el desarrollo de plantas, entre ellos, se encuentran: la disminución de altas concentraciones de etileno en la planta que, en condiciones de estrés, provoca inhibición de su crecimiento; la producción de IAA, que estimula la división

Tabla 2. Resistencia a mercurio de bacterias endófitas asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum*.

Aislado	Concentración máxima de HgCl ₂ que resistió (ppm)	Especie de planta de la que fue aislada
1CR3	400	<i>Paspalum arundinaceum</i>
2AR1	400	<i>Cyperus luzulae</i>
2BR4	400	<i>Cyperus luzulae</i>
1BR1	400	<i>Paspalum arundinaceum</i>
1DH1	400	<i>Paspalum arundinaceum</i>
1ER4	350	<i>Paspalum arundinaceum</i>
3DR3	400	<i>Cyperus laxus</i>

celular; el mejoramiento del estado nutricional de la planta y la disminución de la fitotoxicidad, mediante la producción de sideróforos (Rajkumar *et al.* 2009; Ma *et al.* 2011).

Identificación molecular de bacterias endófitas resistentes a mercurio. El análisis filogenético del gen ARNr 16S de bacterias endófitas resistentes a mercurio asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum*, se muestran en la figura 3.

Según éste análisis, cuatro de los aislados pertenecen a la clase betaproteobacteria: dos pertenecen a la clase Firmicutes y un aislado, a las Gammaproteobacteria.

Cabe destacar que el aislado 1CR3 presentó un 97% de probabilidad de ser similar a *Burkholderia cepacia*, bacteria endófito aislada de *P. arundinaceum*. Esta especie bacteriana ha sido estudiada como endófito de *Lupinus luteus* resistente a níquel (Lodewyckx *et al.* 2001), pero hay escasos reportes sobre su capacidad de resistencia a mercurio. Es importante añadir que los aislados 2BR4 de *C. luzulae* y 1BR1 de *P. arundinaceum* presentaron una probabilidad del 100% de ser similares al género *Burkholderia*, el cual, también ha sido investigado por su capacidad de promoción del crecimiento vegetal y su resistencia a metales pesados, como el plomo y el cadmio (Jiang *et al.* 2008).

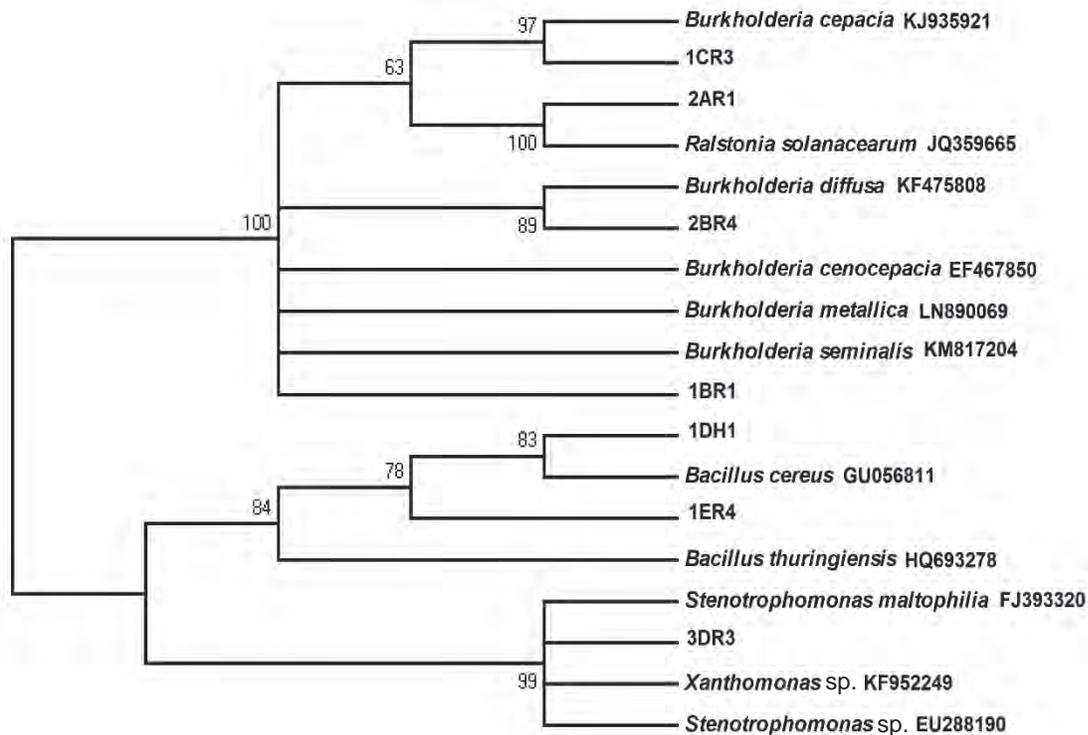


Figura 3. Árbol filogenético de máxima similitud de bacterias endófitas resistentes a mercurio.

El análisis filogenético mostró una probabilidad del 100% para el aislado 2AR1 de ser similar a *Ralstonia solanacearum*, endófito aislada de *C. luzulae*. La bacteria *R. solanacearum*, se considera un fitopatógeno de plantas, como la papa y la berenjena; sin embargo, Van Overbeek *et al.* (2004) la reporta como una endófito de plantas de tomate que es avirulenta y no ocasiona ninguna sintomatología. Es importante anotar que el género *Ralstonia* ha sido estudiado por su resistencia a mercurio; dichas bacterias fueron aisladas del suelo (Ranjard *et al.* 2000). Los aislados 1DH1 y 1ER4 de la especie *P. arundinaceum* presentaron gran probabilidad de similitud

con el género *Bacillus*, reportado como endófito, resistente a metales, como cadmio, en *Solanum nigrum* (Luo *et al.* 2011) y níquel, en *Oriza sativa* (Pérez *et al.* 2015). Este género también ha sido investigado por presentar resistencia a mercurio; no obstante, la mayoría de las cepas estudiadas provienen de sedimentos marinos (Nithya *et al.* 2011).

Por su parte, el aislado 3DR3 de *C. laxus* tuvo gran probabilidad de similitud con la familia Xanthomonadaceae. Ma *et al.* (2015) reporta bacterias del género *Stenotrophomonas*, como endófitas resistentes al cadmio. Por su parte, De *et*

al. (2003) encontró que bacterias del género *Xanthomonas* tienen la capacidad de resistir altas concentraciones de mercurio; dichos aislados fueron obtenidos de ambientes marinos.

Con este estudio, se concluye que la falta de información derivada del escaso conocimiento acerca de las bacterias endófitas asociadas a tejidos de especies vegetales en ambientes contaminados con mercurio, conlleva a un desconocimiento de la diversidad de estas bacterias y su capacidad de resistir a diferentes concentraciones de mercurio. Estos estudios, no sólo son cruciales para el conocimiento básico de la dinámica ecológica, sino como información base para la aplicación de herramientas, que permitan aumentar o estabilizar la productividad y el rendimiento sostenible de sistemas agrícolas y servicios ambientales. En el departamento de Sucre no existe reporte alguno de estudios de presencia de bacterias en suelos y en plantas, contaminados con mercurio, por lo que esta investigación inicia un proceso de generación de conocimiento sobre esta temática y de posibles alternativas de solución frente a problemas de contaminación, por este contaminante en la región. Estudios posteriores evaluarán la capacidad de las bacterias endófitas resistentes a mercurio para promover el crecimiento de las plantas en ambientes contaminados con este metal, en el sur del departamento de Bolívar, Colombia.

Agradecimientos: Los autores agradecen al programa jóvenes investigadores e innovadores de Colciencias y a la Universidad de Córdoba, por toda la colaboración brindada.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses, que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por la Universidad de Sucre.

BIBLIOGRAFÍA

- ADRIANO, D.C. 2001. Trace elements in the terrestrial environment. Springer, New York. p.411-450.
- ARGÜMEDO, M.; VIDAL, J.; MARRUGO, J. 2013. Mercurio total en animales domésticos en Mina Santa Cruz, sur de Bolívar – Colombia. Rev. Col. Ciencia Animal. 5 (2):366-379.
- BRYSON, C.; CARTER, R. 2008. The significance of Cyperaceae as weeds. Sedges, uses, diversity, and systematic of the Cyperaceae. Missouri: Monogr Syst. Bot. Mo. Bot. Gard. 108. p.15-101.
- CASIERRA-POSADA, F.; AGÜILAR-AVENDAÑO, O. 2007. Estrés por aluminio en plantas: reacciones en el suelo, síntomas en vegetales y posibilidades de corrección. Rev. Col. Ciencias Hort. 1(2):246-257.
- CORDY, P.; VEIGA, M.; SALIH, I.; AL-SAAD, S.; CONSOLE, S.; GARCIA, O.; MESA, L.; VELÁSQUEZ-LÓPEZ, P.; ROESER, M. 2011. Mercury contamination from artisanal gold mining in Antioquia, Colombia: The world's highest *per capita* mercury pollution. Sci. Total Environm. 410-411:154-160.
- CUI, W.; FANG, P.; ZHU, K.; MAO, Y.; GAO, C.; XIE, Y.; WANG, J.; SHEN, W. 2014. Hydrogen-rich water confers plant tolerance to mercury toxicity in alfalfa seedlings. Ecotoxicol. Environm. Safety. 105: 103-111.
- DE, J.; RAMAIAH, N.; MESQUITA, A.; VERLEKAR, X. 2003. Tolerance to various toxicants by marine bacteria highly resistant to mercury. Marine Biotechn. 5(2):185-193.
- ESCALANTE-ESPINOSA, E.; GALLEGOS-MARTÍNEZ, M.; FAVELA-TORRES, E.; GUTIERREZ-ROJAS, M. 2005. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system. Chemosphere. 59:405-413.
- EVERS, G.; BURSON, B. 2004. Dallisgrass and other *Paspalum* species. In: Moser, L.E.; Burson, B.L.; Sollenberger, L.E. (eds). Warm-Season (C4) Grasses, Agronomy Monographs 45. eds. Madison, Wisconsin. p.681-713.
- HOLMES, P.; JAMES, K.; LEVY, L. 2009. Is low-level environmental mercury exposure of concern to human health? Sci. Total Environm. 408(2):171-182.
- INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI –IGAC-. 2015. ¿Cómo realizar la toma de muestras para suelos? Disponible desde internet en: http://www.igac.gov.co/wps/portal/igac/raiz/iniciohome/tramites!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hHT3d_JydDRwN3t0BXA0_vUKMwf28PI4NQL_2CbEdFAJ67NCc!/?WCM_PORTLET=PC_7_AIGOB1A08AGF0ISG6J8NS30 (con acceso 26/03/2015).
- JIANG, C.; SHENG, X.; QUIAN, M.; WANG, Q. 2008. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal

- accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere*. 72(2):157-164.
13. KABATA-PENDIAS, A. 2011. Trace elements in soils and plants. 4th ed. CRC Press, Boca Ratón (Estados Unidos). p.304-312.
14. LODIEWYCKX, C.; TAGHAVI, S.; MERGEAY, M.; VANGRONSVELD, J.; CLIJSTERS, H.; VAN DER LELIE, D. 2001. The effect of recombinant heavy metal resistant endophytic bacteria in heavy metal uptake by their host plant. *Int. J. Phytoremed.* 3:173-187.
15. LÓPEZ-MARTÍNEZ, S.; GALLEGOS-MARTÍNEZ, M.; PÉREZ-FLORES, L.; GUTIÉRREZ-ROJAS, M. 2008. Contaminated soil phytoremediation by *Cyperus laxus* Lam. cytochrome p450 erod-activity induced by hydrocarbons in roots. *Int. J. Phytoremed.* 10:289-301.
16. LIU, S.; CHEN, L.; CHEN, J.; XIAO, X.; XU, T.; WAN, Y.; RAO, C.; LIU, C.; LIU, Y.; LAI, C.; ZENG, G. 2011. Analysis and characterization of cultivable heavy metal-resistant bacterial endophytes isolated from Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their potential use for phytoremediation. *Chemosphere*. 85:1130-1138.
17. MA, Y.; PRASAD, M.; RAJKUMAR, M.; FREITAS, H. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnol. Adv.* 29:248-258.
18. MA, Y.; OLIVEIRA, R.; NAI, F.; RAJKUMAR, M.; LIU, Y.; ROCHA, I.; FREITAS, H. 2015. The hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola* harbors metal-resistant endophytic bacteria that improve its phytoextraction capacity in multi-metal contaminated soil. *J. Environm. Managem.* 156:62-69.
19. MARRÚGO-NEGRETE, J.; DURANGO-HERNÁNDEZ, J.; PINEDO-HERNÁNDEZ, J.; OLIVERO-VERBEL, J.; DÍEZ, S. 2015. Phytoremediation of mercury-contaminated soils by *Jatropha curcas*. *Chemosphere*. 127:58-63.
20. MORENO, F.; ANDERSON, C.; STEWART, R.; ROBINSON, B. 2008. Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilisation and plant-accumulation aspects. *Environm. Exp. Bot.* 62:78-85.
21. NITHYA, C.; GNANALAKSHMI, B.; PANDIAN, S. 2011. Assessment and characterization of heavy metal resistance in Palk Bay sediment bacteria. *Marine Environm. Res.* 71(4):283-294.
22. OLARTE, L.; MUÑOZ, B.; BENAVIDES, G.; GARAVITO, F.; LUNA, C.; MEJÍA, L.; ROZO, E. 1979. Métodos analíticos del laboratorio de suelos. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. 4a. ed. Bogotá, Colombia.
23. OLIVEIRA, M.; SANTOS, T.; VALE, H.; DELVAUX, J.; CORDERO, P.; FERREIRA, A.; MIGUEL, P.; TOTOLA, M.; COSTA, M.; MORAES, C.; BORGES, A. 2013. Endophytic microbial diversity in coffee cherries of *Coffea arabica* from southeastern Brazil. *Can. J. Microbiol.* 59:221-30.
24. PÉREZ, A.; ROJAS, J.; FUENTES, J. 2010. Diversidad de bacterias endófitas asociadas a raíces del pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en tres localidades del departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biol. Col.* 15 (2):219-228.
25. PÉREZ, A.; ARROYO, E.; CHAMORRO, A. 2015. Resistencia a níquel en bacterias endófitas aisladas a partir de *Oriza sativa* en Colombia. *Rev. Soc. Venez. Microbiol.* 35:20-25.
26. POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. 2003. Estrés por metales pesados. In: Reigosa, M.J., Pedrol, N., Sánchez, A. (eds.). *Ecofisiología Vegetal*. Madrid. p.413-442.
27. RAJKUMAR, M.; NORIHARU, A.; FREITAS, H. 2009. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction. *Chemosphere* 77:153-160.
28. RANJARD, L.; BROTHIER, E.; NAZARET, S. 2000. Sequencing bands of ribosomal intergenic spacer analysis fingerprints for characterization and microscale distribution of soil bacterium populations responding to mercury spiking. *Appl. Environm. Microbiol.* 66(12):5334-5339.
29. SÁNCHEZ, E.; CURETTI, M. 2006. Los suelos salinos y sódicos. *Fruticult. Diversific.* 12(49):10-13.
30. SORKHOH, N.; ALI, N.; DASHTI, N.; AL-MAILEM, D.; AL-AWADHI, H.; ELIYAS, M.; RADWAN, S. 2010. Soil bacteria with the combined potential for oil utilization, nitrogen fixation and mercury resistance. *Int. Biodeterior. Biodegr.* 64:226-231.

31. TERÁN-MITA, T.; FAZ, A.; SALVADOR, F.; AROCENA, J.; ACOSTA, J. 2013. High altitude artisanal small-scale gold mines are hot spots for mercury in soils and plants. *Environm. Poll.* 173:103-109.
32. VAN OVERBEEK, L.; BERGERVOET, J.; JACOBS, F.; VAN ELSAS, J. 2004. The low-temperature-induced viable-but nonculturable state affects the virulence of *Ralstonia solanacearum* biovar 2. *Phytopathology*. 94:463-469.
33. VIDAL, J.; MARRUGO, J.; JARAMILLO, B.; PEREZ, L. 2010. Remediación de suelos contaminados con mercurio utilizando guarumo (*Cecropia peltata*). *Ing. Desarrollo*. 27:113-129.
34. WANG, Y.; GREGER, M. 2004. Clonal differences in mercury tolerance, accumulation, and distribution in willow. *J. Environm. Quality*. 33:1779-1785.
35. WEYENS, N.; VAN DER LELIE, D.; TAGHAVI, S.; VANGRONSVELD, J. 2009. Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Current Opinion Biotechn.* 20:248-254.
36. YADAV, S. 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South Afr. J. Bot.* 76:167-179.
- Recibido: Julio 21 de 2015
Aceptado: Enero 27 de 2016

Cómo citar:

Pérez, A.; Martínez, D.; Barraza, Z.; Marrugo, J. 2016. Bacterias endófitas asociadas a los géneros *Cyperus* y *Paspalum* en suelos contaminados con mercurio. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 67-76.

RENDIMIENTO Y CALIDAD DE HOJAS DE *Stevia rebaudiana* Bert. BAJO LA OFERTA EDAFOLÓGICA Y DOS NIVELES DE RADIACIÓN EN CINCO REGIONES DE COLOMBIA

YIELD AND QUALITY OF LEAVES OF *Stevia rebaudiana* Bert. UNDER PEDOLOGICAL OFFER AND TWO LEVELS OF RADIATION IN FIVE COLOMBIAN REGIONS

Jaime L. Hernández¹, Enrique M. Combatt², Alfredo Jarma O.³, Janer Polo S.⁴, Luis Rodríguez P.⁵

¹ Ingeniero Agrónomo, M.Sc. Mz 8 lote 11, villa Sorrento, Montería, Córdoba, e-mail: jhernandez@fca.edu.co; ² Ingeniero Agrónomo, Ph.D. Universidad de Córdoba, carrera 6ª No. 76-103, Montería, Córdoba-Colombia, e-mail: ecombatt@fca.edu.co, Autor para correspondencia; ³ Ingeniero Agrónomo, M.Sc. Ph.D. Universidad de Córdoba, carrera 11 No. 62B-47, Montería, Córdoba-Colombia, e-mail: jarma@fca.edu.co; ⁴ Ingeniero Agrónomo, M.Sc. Universidad de Córdoba, e-mail: jpolo@fca.edu.co; ⁵ Ingeniero Agrónomo, M.Sc. Universidad de Córdoba, Barrio P-5, transversal 12 No. 10-2, Montería, Córdoba, e-mail: larguez@fca.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 77-85, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

El uso actual de estevia, a escala industrial, se ha incrementado a nivel mundial, argumento que conlleva a buscar zonas de mejor adaptación del cultivo, en muchas regiones del país. El objetivo de este trabajo fue analizar la estabilidad de los rendimientos y los contenidos de glucósidos de esteviol de *Stevia rebaudiana* Bert., en función de la oferta de luz de cinco regiones de Colombia. En cada sitio, se construyeron cinco parcelas experimentales del cultivar Morita II, en las localidades de Montería, Córdoba; Campamento, Antioquia; Palmira, Valle del Cauca; Fonseca, La Guajira y Valledupar, Cesar, bajo un diseño de bloques completos al azar, con dos tratamientos de radiación difusa y directa, con cinco repeticiones. Se cuantificaron los contenidos de esteviosido (Stv), rebaudiosido A (RebA), glucósidos principales (GP) en mg.kg⁻¹ de hoja seca, por cromatografía líquida de alta eficacia; la relación RebA/Stv y el rendimiento de hoja seca, en kg.ha⁻¹. Se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Duncan ($\alpha=0,05$). Los niveles de radiación no afectaron la síntesis de Stv y RebA, tampoco se presentó interacción entre los niveles de radiación de las localidades. Se registraron diferencias significativas en los contenidos de Stv, RebA y la relación RebA/Stv, entre las localidades. En Palmira, con 132,26mg.kg⁻¹, se obtuvieron los mayores contenidos de RebA, mientras que la mayor relación RebA/Stv de 10:1mg.g⁻¹, que define la calidad de la hoja, se observó en Montería.

Palabras clave: Glucósidos de diterpeno, esteviosido, rebaudiosido A, interacción genotipo ambiente, radiación fotosintéticamente activa.

SUMMARY

The current use at industrial-scale of stevia has increased in the world, context that emphasizes the interest to search best areas for planting the crop in many regions of the country. The objective of this work was to analyze the yield stability and content of steviol glycosides of *Stevia rebaudiana* Bert. in function of light offer in five regions of Colombia. Five experimental plots of the cultivar Morita II were selected, located in Montería-Córdoba; Campamento - Antioquia; Palmira - Valle del Cauca; Fonseca - Guajira and Valledupar - Cesar, under a complete random block design with two treatments, diffuse and direct radiation, with five replicates for each locality. The content of stevioside (Stv), rebaudioside A (RebA), main glycosides (GP) in mg.kg⁻¹ of dry leaf, with a liquid chromatography of high-efficacy and the relationship RebA/Stv and yield in kg.ha⁻¹ of dry leaf was quantified. Data were analyzed through analysis of variance and Duncan's mean comparison test ($\alpha=0.05$). The analysis of variance indicated that radiation levels did not affect the synthesis of Stv and RebA and no interaction between radiation levels by locality was detected. Significant differences in the content of Stv, RebA and relation RebA/Stv between the localities were determined. At Palmira, with 132.26mg.kg⁻¹ the highest content of RebA was recorded, while the major relationship

RebA/Stv, which defines the leaf quality, of $10:1\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ was obtained at Montería.

Key words: Diterpene glycosides, stevioside, rebaudioside A, genotype environment interaction, photosynthetically active radiation.

INTRODUCCIÓN

La alta variabilidad de las condiciones ambientales en Colombia permite producir hoja de estevia durante todo el año; sin embargo, esta alta inestabilidad también genera zonas no aptas para su cultivo. En Colombia existen registros de cultivos en Antioquia, en Córdoba, en Tolima, en Huila, en Valle del Cauca y en Meta (Jarma, 2008), regiones que poseen diferencias considerables en la oferta edáfica y ambiental. La estevia posee gran capacidad de adaptación, ya que se puede cultivar desde 300 hasta 3000 msnm, según lo expuesto por Madan *et al.* (2010) y Yadav *et al.* (2011), con rangos de precipitación entre 1200 y 2000mm anuales, niveles de temperatura entre 9 y 26°C , de acuerdo con Singh & Rao (2005) y humedad relativa de 85%; a pesar de esto, es posible que la producción de los glucósidos de esteviol se vea afectada por las variaciones de las condiciones ambientales en los distintos lugares donde es cultivada (Jarma *et al.* 2005).

Los genotipos cultivados en Colombia se conocen popularmente como Morita 1 y Morita 2, de los cuales, poco se ha estudiado su estabilidad fenotípica; según Jarma *et al.* (2011), lo anterior implica un alto riesgo derivado de su variabilidad genética estrecha que, asociada a la alta variabilidad ambiental del país, los hace sensibles a factores, tanto bióticos como abióticos.

La estevia se está estableciendo en muchas partes del mundo, debido a sus propiedades terapéuticas y edulcorantes; es así como el glucósido de esteviol, que es una molécula de la estevia, se ha introducido en el mercado europeo como aditivo alimentario (Wolwer-Rieck, 2012). Serfaty *et al.* (2013) explican que el contenido de glucósidos de esteviol en estevia se determina en función de su concentración en las diferentes partes de la planta y la acumulación de biomasa; sin embargo, el desarrollo fenológico, la acumulación y la distribución de biomasa son notablemente afectadas por variaciones en las condiciones ambientales. Jaitak *et al.* (2008) encontraron que los edulcorantes de estevia registran valores entre 3,3 a 6,7%, de esteviósidos y 1,2 a 2,3%, de Rebaudiósido A.

Las variaciones en brillo solar, en temperatura, en radiación incidente y los factores edáficos, afectan el inicio de la floración en estevia que, a su vez, incide sobre los contenidos de glucósidos de esteviol, ya que en este punto se da la máxima acumulación de estas moléculas en las hojas, además de causar cambios en las expresiones fenotípicas y fisiológicas

de la planta (Ceunen & Geuns, 2013; Jarma, 2008; Ramesh *et al.* 2006).

En Colombia, se están estableciendo cultivos de estevia en diferentes lugares, sin que a la fecha se conozcan cuáles son las condiciones donde se presenta la mejor oferta de suelos y de ambientes para el establecimiento y obtener mayor rendimiento del cultivo. Esta investigación tuvo por objetivo cuantificar y analizar los contenidos de esteviósido, rebaudiósido A y los rendimientos de hoja de estevia, bajo dos niveles de radiación, en función de la oferta ambiental, de cinco regiones de Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental. Se seleccionaron cinco lotes comerciales correspondientes a cinco localidades; Palmira (Valle del Cauca), Campamento (Antioquia), Montería (Córdoba), Fonseca (La Guajira) y Valledupar (Cesar), a una altitud de 1001, 1700, 18, 12 y 168msnm, respectivamente. En cada una, se delimitaron parcelas experimentales, bajo la estructura de un diseño de bloques completos al azar, con dos tratamientos de radiación incidente (RI), T1= 47% (Polisombra, conocida como polisombra al 50%) y T2=100%.

La tabla 1 muestra los niveles de radiación, evaluados en cada tratamiento y localidad, así como las condiciones de temperatura, de precipitación y de brillo solar, observadas durante el periodo de 6 meses, que se realizó la investigación. En estas localidades, se encontraron que el pH osciló entre 4,52, en Campamento, Antioquia y 7,58, en Fonseca, La Guajira y contenidos de fósforo, entre 125 y $5,9\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, en estas mismas localidades. Los mayores contenidos de bases de intercambio, como Ca, K y Na ($20,12; 1,96$ y $0,92\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$) se registraron en Fonseca y en La Guajira y los menores contenidos, en Campamento, Antioquia, con $3,82, 0,44$ y $0,06\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$; las texturas oscilaron entre franco arenosas y arcillosas. Con base en la oferta ambiental de las cinco regiones estudiadas y para efectos de la discusión de resultados más claros, los ambientes se agruparon en condiciones de radiación y de temperaturas máximas y mínimas, que se pueden considerar como altas (Fonseca y Valledupar), intermedias (Montería y Palmira) y bajas (Campamento).

Cada experimento estuvo constituido por cinco unidades experimentales (UE), de 10m^2 cada una ($62,5$ plantas m^{-2}), para un total de 10 UE por localidad, que se establecieron como cinco repeticiones para cada nivel de radiación, por localidad. El genotipo utilizado fue Morita II.

En cada UE, se seleccionaron cinco plantas sanas en competencia y de similar edad fisiológica de crecimiento y se cuantificaron los contenidos de esteviósido (Stv), rebaudiósi-

Tabla 1. Variables ambientales de las localidades de Colombia, donde se estableció el cultivo de estevia, *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Localidad	RI 100%	RI 50%	Tmax	Tmin	Tprom	P	BS
	$\mu\text{moles fotones.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$		-----°C-----			mm	horas
Palmira (Valle del Cauca)	790	395	31,9	16,1	23,7	1065	1946
Campamento (Antioquia)	659	330	26,2	13,2	19,5	3973	1391
Montería (Córdoba)	834	417	35,5	20,9	28	1247	2180
Valledupar (Cesar)	1010	505	37,2	21	29	1324	2676
Fonseca (La Guajira)	1097	548	36	23,9	28	839	2591

RI: radiación incidente; Tmax: temperatura máxima; Tmin: temperatura mínima; Tprom: temperatura promedio; P: precipitación y BS: brillo solar anual.

do A (RebA) en mg g^{-1} de peso seco de la hoja, por el método de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), tal como lo muestra el cromatograma de la figura 1. Las condiciones de operación que se definieron y que fueron usadas para la calibración con los estándares puros y las muestras de las cinco regiones son las siguientes: Fase móvil: Acetonitrilo (ACN): Agua (H_2O), 70:30; Isocrático; Flujo de trabajo: $500\mu\text{L}/\text{min}$; Volumen de muestra inyectado: $5\mu\text{L}$; Detector PDA – 210nm; Tiempo de corrida: 20 min; Temperatura: ambiente. A partir de los resultados, se estimó la relación RebA/Stv para cada localidad y se cuantificó el rendimiento de hoja seca por hectárea (REND) en el primer corte, por cada unidad experimental en gramos y convertido a $\text{kg}.\text{ha}^{-1}$. La cosecha en cada localidad, se realizó en el momento antes de la floración, con la aparición de los primeros botones florales.

Análisis de datos. La información, se procesó por medio de análisis de varianza individual para cada localidad, bajo

el modelo planteado; posteriormente, luego de verificar la homogeneidad de varianzas y el cumplimiento de supuestos, se implementó un análisis de varianza combinado entre localidades, para analizar la diferencia entre localidades (L), niveles de radiación (NR) y su interacción. Se realizó la prueba de comparación de medias de Duncan al 5%, utilizando el paquete estadístico SAS (versión 9.1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los contenidos de glucósidos principales (GP) oscilaron entre 10,26%, para la localidad de Fonseca y 15,26%, para Palmira, al 50% de la radiación incidente. Entre los niveles de radiación no se presentaron diferencias ($12,99\pm 0,06\text{mg kg}^{-1}$), aunque estas sí fueron evidentes entre localidades ($P\leq 0,05$), siendo los ambientes denominados como intermedios; Palmira y Montería, los de mayor concentración de estas moléculas (Tabla 2).

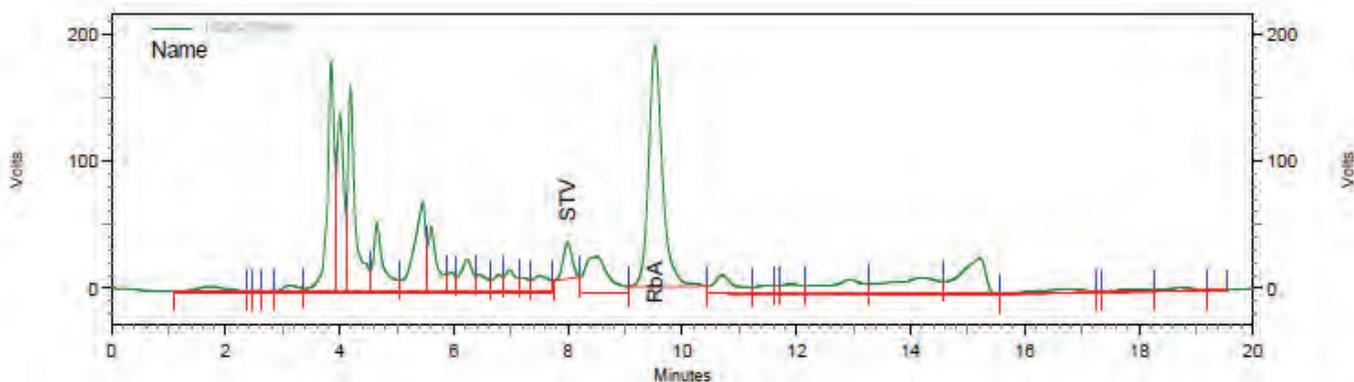


Figura 1. Cromatograma de muestra de hoja de estevia analizada.

Tabla 2. Contenido de glucósidos principales en hojas de estevia, *Stevia rebaudiana* Bertoni, bajo dos condiciones de radiación incidente, en cinco ambientes de Colombia.

Localidad	100% RI	50% RI	Promedios de GP
Palmira (Valle de Cauca)	14,84 a	15,62 a	15,23 a
Montería (Córdoba)	15,20 a	14,99 a	15,10 a
Campamento (Antioquia)	12,65 b	12,55 b	12,60 b
Valledupar (Cesar)	10,50 b	11,85 b	11,18 b
Fonseca (La Guajira)	11,46 b	10,26 b	10,86 b

Promedios con la misma letra en una columna son iguales estadísticamente, de acuerdo al test protegido de Duncan (0,05%).

Aunque el contenido de los GP es similar a lo reportado en otras partes de la relación entre las moléculas que componen los GP (RebA+Stv), varía significativamente, demostrando el efecto diferencial del ambiente, tal como lo afirman Jarma *et al.* (2005).

Los resultados del análisis de varianza combinado que compararon el contenido de estos dos glucósidos y los rendimientos de hoja seca por hectárea, se muestran en la tabla 3. Se puede observar que todas las variables fueron afectadas significativamente por los efectos simples de la localidad y que solo el rendimiento fue influenciado por la disminución de la radiación en un 50%. Al analizar la interacción de las localidades por niveles de radiación, se observó que ninguna de estas fue significativa.

Por su parte, los coeficientes de variación de las variables no superaron el 17%, indicando la precisión de los datos experimentales, para condiciones de campo.

Como se indicó anteriormente, los resultados observados en el contenido de los GP, indican que la radiación no tuvo un efecto importante sobre la concentración de estos; sin embargo, al considerar independientemente el efecto de las localidades, se pudo constatar que hubo diferencias entre localidades para la concentración de Stv, siendo Campamento, en Antioquia, la de mayor promedio de esta molécula, con el siguiente orden Antioquia > Valle del Cauca > Cesar, Córdoba y La Guajira (Tabla 4).

Si los contenidos de esteviósido encontrados en este estudio se expresan en términos de porcentaje, equivalen a concentraciones entre 1 y 4%, lo que estaría por debajo de los registrados por Geuns (2000), quien plantea que los esteviósidos están presentes en un rango de alrededor de 4 al 20%, en la materia seca de las hojas de la planta y, además, indica que estos contenidos dependen, principalmente, de las características del cultivar y de los factores ambientales; no obstante, es importante aclarar que esta reducción del Stv se hace

Tabla 3. Cuadrados medios para concentración de glucósidos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de hoja) y rendimiento ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) en estevia, *Stevia rebaudiana* Bertoni, plantada en cinco localidades de Colombia, bajo dos niveles de radiación.

FV	GL	GP	Stv	RebA	RebA/Stv	REND
LOC	4	387,88**	962,72 **	4925,01**	71,65 **	12236833,67**
BLO (LOC)	5	258,17 ^{ns}	3,81 ^{ns}	230,59 ^{ns}	1,10 ^{ns}	201684,38 ^{ns}
NR	1	27,96 ^{ns}	7,64 ^{ns}	6,36 ^{ns}	1,91 ^{ns}	451350,27**
LOC*NR	4	214,19 ^{ns}	3,56 ^{ns}	198,36 ^{ns}	1,31 ^{ns}	126710,09 ^{ns}
ERROR	29	184,85	6,53	138,73	0,92	92544,36
TOTAL	43	535,99	94,91	597,12	7,58	1246459,36
MEDIA		129,99	20,11	109,87	6,54	1262,74
CV		10,45	12,71	10,71	14,73	17,03

^{ns}=no significativo; *=significativo al 5%; **= altamente significativo al 5%; Stv: esteviósido; RebA rebaudiósido A; RebA/Stv: calidad de la hoja; LOC: localidades; NR: nivel de radiación.

Tabla 4. Contenido porcentual de esteviósido (Stv), rebaudiósido A (RebA) y relación RebA/Stv en hojas de estevia, *Stevia rebaudiana* Bertoni, plantada en cinco ambientes de Colombia.

Localidad	RebA	Stv	RebA/Stv
	----- % -----		
Palmira (Valle de Cauca)	13,23 a	2,00 b	6,6 b
Montería (Córdoba)	13,74 a	1,34 c	10,3 a
Campamento (Antioquia)	8,66 b	3,94 a	2,2 c
Valledupar (Cesar)	9,99 b	1,62 c	6,2 b
Fonseca (La Guajira)	9,46 b	1,40 c	6,7 b

Promedios con la misma letra en una columna son iguales estadísticamente, de acuerdo al test protegido de Duncan (0,05%).

a expensas de aumento en los contenidos porcentuales de RebA, como se discutirá más adelante.

Jarma *et al.* (2012) indican que aún se desconoce gran parte de cómo la planta traduce los estímulos de temperaturas en señales particulares; lo cierto es que las altas temperaturas inducen cambios y adaptaciones, a través de un regulador transcripcional (bHLH) denominado, frecuentemente, como factor interactuante del fitocromo 4 (PIF4), que está regulado por el genotipo e integra múltiples estímulos ambientales, durante el desarrollo de la planta (Koini *et al.* 2009).

Es posible que la variación de los contenidos de esteviósidos entre las localidades pueda estar explicada por las variaciones de la temperatura y el brillo solar entre las localidades, ya que estos dos factores influyen sobre la fotosíntesis, la respiración y muchos otros procesos metabólicos en la planta, incluida la síntesis de las principales moléculas edulcorantes (Jarma *et al.* 2012; Bondarev *et al.* 2003; Ceunen & Geuns, 2013). Lo anterior podría explicar los resultados, porque en la localidad de Campamento se presentaron la temperatura y el brillo solar más bajos de las cinco localidades, con un promedio de 19,5°C y 1391 horas año⁻¹, como se observa en la tabla 2, mientras que las localidades Montería, Valledupar y Fonseca, con mayor temperatura y brillo solar promedio, fueron precisamente las que registraron los menores contenidos de Stv en la hoja, notándose una relación inversa entre temperatura y brillo solar con los contenidos de Stv, tal vez porque la exposición prolongada de la planta a altas temperaturas y altos niveles de radiación, afecta negativamente la síntesis de la molécula.

El análisis de varianza combinado mostró diferencias altamente significativas, solamente para el contenido de RebA, entre localidades (Tabla 3). La prueba de comparación de medias señala que las localidades que presentaron mayor síntesis de RebA fueron Montería (137,13mg.g⁻¹) y Palmira

(132,26mg.g⁻¹), seguidas de Valledupar (95,71mg.g⁻¹), Fonseca (94,44mg.g⁻¹) y Campamento (86,56mg.g⁻¹), tal como lo registra la tabla 5. El análisis de varianza combinado no mostró diferencias estadísticas entre los niveles de radiación del 50 y 100%, indicando que las variaciones en estos niveles no afectaron la síntesis de rebaudiósido A; tampoco, se registró interacción de localidades por nivel de radiación, para esta variable.

Los resultados de esta investigación coinciden con trabajos adelantados por Jarma *et al.* (2012), quienes informaron de una relación inversa entre la concentración de RebA y altas temperaturas (máximas y mínimas) y altos niveles de radiación, como se presentan en Valledupar y Fonseca, de tal manera que valores altos de las tres variables ambientales inducirían valores bajos de RebA y que en los ambientes donde esta oferta ambiental es intermedia (Montería y Palmira), se favorece la síntesis de RebA; sin embargo, en Campamento, esta lógica no es evidente, debido, probablemente, a los altos niveles de sombreado ambiental que se presentan naturalmente, que reducirían, de manera importante, las tasas de fotosíntesis y, consecuentemente, bajos niveles de glucósidos totales, como se muestra en la tabla 2. Entonces, se podría considerar a Montería y a Palmira, como las localidades con mejor oferta ambiental, para la síntesis de RebA.

Estudios sobre la actividad del fitocromo en estevia, realizados por Ceunen *et al.* (2012), sugieren que las condiciones ambientales, sobretudo el fotoperiodo, la radiación y la temperatura influyen considerablemente en el desarrollo fenológico de la estevia, incluida la acumulación de las principales moléculas edulcorantes. Asimismo, la edad fisiológica juega un papel importante, ya que es, en el momento entre la formación de la yema y la iniciación de la floración, donde se da un gran incremento en los contenidos de los glucósidos (Vanidze *et al.* 2009) y esta etapa fenológica podría estar determinada por las unidades de calor acumuladas, las cua-

les, están definidas como la diferencia entre la temperatura ambiente y la temperatura base de crecimiento de la planta (Ruiz *et al.* 2002).

Al respecto, Bondarev *et al.* (2003) advierten que se afectan procesos básicos del metabolismo de la planta, por lo que es posible que al ser RebA sintetizado por la ruta de los terpenos (Azcón-Bieto & Talón, 2008), la susceptibilidad de esta vía a variaciones de luz (Jarma *et al.* 2012) y temperatura (Taiz & Zeiger 2010), influyan de forma diferenciada en la síntesis de esta molécula, cuando es sometida a una oferta ambiental diversa; sin embargo, en contrastes con lo reportado por Jarma *et al.* (2012), en este estudio, no se encontraron diferencias para los niveles de radiación, por lo que, probablemente, la disimilitud entre los contenidos de RebA, para las localidades, pudieron estar dadas por otros factores ambientales, que afectan el desarrollo fenológico y el metabolismo secundario de la estevia o por la disponibilidad de nutrientes en cada localidad, ya que estos también afectan la síntesis y la acumulación de glucósidos de esteviol, como lo mencionan Bondarev *et al.* (2003).

El análisis de la relación RebA/Stv, en la tabla 3, indica que se presentaron diferencias estadísticas entre localidades, pero no entre niveles de radiación. La prueba de comparación de medias señaló que en Montería, se presentó la mayor relación RebA/Stv, con un promedio de 10,3:1, seguida de Fonseca, con 6,7:1, Palmira 6,6:1, Valledupar 6,2:1 y Campamento 2,2:1 (Tabla 4).

Estos resultados discrepan con los de Gardana *et al.* (2010), que referencian un contenido de Rebaudiósido A, en concentraciones de 2 a 4% y de esteviósido, de 4 al 13%. Asimismo, De Oliveira *et al.* (2007) exponen que la calidad de la hoja se determina por la relación RebA/Stv que, generalmente, está alrededor de 0,4, obteniendo un producto de mejor calidad, en la medida que esta relación sea igual o mayor de 1 (De Oliveira *et al.* 2007; Carakostas *et al.* 2008). Cabe resaltar que en este estudio se encontró que en todas las localidades la relación fue superior a 1.

La importancia de estimar la relación RebA/Stv, para este cultivo en Colombia, es que a nivel mundial se documentan concentraciones de RebA menores que las reportadas en esta investigación, por lo tanto, se puede deducir que en Colombia, se presentan condiciones edáfico ambientales, que favorecen el contenido de Rebaudiósido A en la hoja y, con ello, se logra un dulzor más agradable, contrario al sabor obtenido, cuando los contenidos de esteviósido son superiores, ya que este usualmente ofrece una sensación con características similares a un sabor amargo (Mitchell, 2006).

Por lo anterior, si se logra incrementar la siembra de este cultivo con rendimiento en hoja de estevia con estos atributos,

se podría ofrecer a los productores una ventaja competitiva en el mercado de este producto.

De igual forma, las concentraciones de glucósidos principales (Stv + RebA), en todas las localidades, superan el promedio mundial, donde los edulcorantes de estevia registran valores entre 3,3 a 6,7%, de esteviósidos y 1,2 a 2,3%, de Rebaudiósido A (Jaitak *et al.* 2008), mientras que en este estudio, se encontraron valores de esteviósidos, entre 1,34 a 3,94% y de Rebaudiósido A, entre 8,66 a 13,74%. Lo anterior indica que, a pesar de que se observaron diferencias estadísticas entre las localidades evaluadas, la estevia presenta buena capacidad de adaptación a las condiciones ambientales en estas localidades, lo que en términos generales, se traduce en una mayor proporción de glucósidos totales en la hoja y en una mayor calidad comercial de este producto.

Respecto a los resultados en rendimiento de hoja seca por hectárea en el primer corte, entre todas las localidades, se encontró que para niveles de radiación del 100%, se obtuvo un promedio de 1364kg.ha⁻¹, mientras que para la radiación al 50%, se presentó un promedio en rendimiento de 1161,46kg.ha⁻¹, resultados que concuerdan con los encontrados por Jarma *et al.* (2005), donde se indica que la mayor acumulación de materia seca de hojas se obtuvo cuando Morita II fue expuesta a 100% de radiación incidente.

Ante la respuesta positiva del rendimiento a un mayor nivel de radiación, Raffo & Iglesias (2004) indican que la radiación fotosintéticamente activa captada por una planta, determina la cantidad de materia seca producida y la calidad de la producción, influyendo sobre el crecimiento y la productividad. Es posible que este genotipo (Morita II) responda de una manera más eficiente a la fijación de CO₂ por unidad de superficie fotosintética y al envío de fotoasimilados a la hoja, ya que según Taiz & Zeiger (2010), la cantidad de luz y CO₂ determinan la respuesta fotosintética de las hojas y que, en algunas situaciones, esta respuesta fotosintética puede ser limitada por un inadecuado suministro de luz, de tal forma, que el aumento en el flujo fotónico implica un aumento proporcional de la tasa fotosintética.

Al realizarse la prueba de comparación de medias, se encontraron diferencias estadísticas entre los rendimientos obtenidos en cada localidad, siendo Palmira, donde se lograron los mayores, con 3477kg, de hoja seca por hectárea, en el primer corte de hoja; entre las demás localidades no se registraron diferencias estadísticamente significativas (Figura 2).

Estos resultados son comparables con los encontrados por Kandus *et al.* (2010), en maíz y por Rodríguez *et al.* (2011), en trigo, donde se indica que los genotipos tienen un comportamiento desigual en cada ambiente, donde se realizaron las investigaciones. Los distintos rendimientos entre las lo-

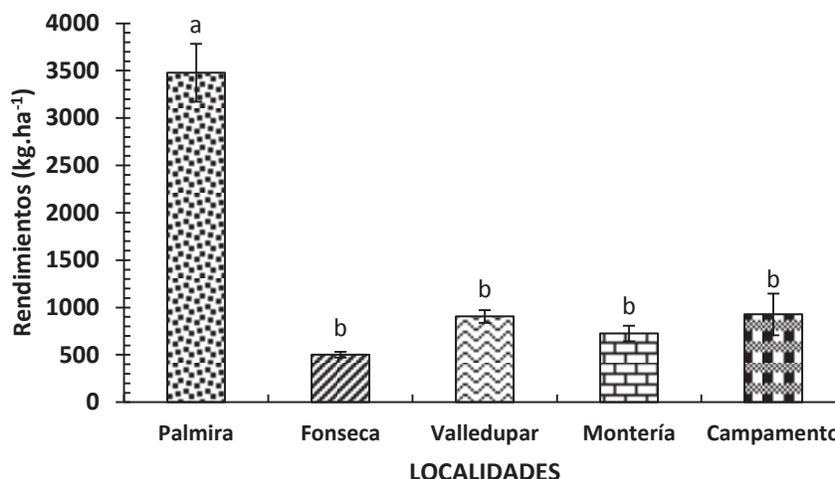


Figura 2. Rendimientos de hoja de estevia, *Stevia rebaudiana* Bertoni, plantada en cinco localidades de Colombia.

calidades que se determinaron, se pueden entender a partir de las diferentes condiciones ambientales, propias de cada localidad. Montemayor *et al.* (2006) y Serfaty *et al.* (2013) explican que diversas condiciones ambientales afectan notablemente el desarrollo y la acumulación de biomasa de plantas de estevia, debido a que los factores ambientales, como radiación solar, precipitación y temperatura, afectan las expresiones fenotípicas y fisiológicas de las plantas, como la fotosíntesis, la respiración, la división celular y el crecimiento celular, entre otras. Fuera de Mizukami *et al.* (1983), Ceunen & Geuns (2013) indican que la irradiación, la temperatura y los nutrientes disponibles, también pueden afectar la acumulación de los glucósidos de steviol, en hojas de estevia.

De la presente investigación se puede concluir, que la disminución de radiación en un 50%, no afectó la síntesis de los glucósidos en ninguna de las localidades, consideradas en el estudio.

La oferta edafoambiental de las diferentes localidades afectó diferencialmente la síntesis de esteviosido y rebaudiosido A, siendo Palmira y Montería las localidades con mayores valores, respecto a Campamento, Valledupar y Fonseca.

En Campamento, se presentó el mayor promedio de los contenidos de esteviosido, resultado que pudo ser influenciado por las bajas temperaturas y el bajo brillo solar de esta localidad.

En Montería y en Palmira, se registraron los mayores contenidos de RebA, debido, probablemente, por el efecto de las temperaturas y el brillo solar (promedio entre máximas y mínimas evaluadas).

Aunque la mejor calidad de hoja se obtuvo en Montería, donde existe mayor relación RebA/Stv, con 10,177:1mg.g⁻¹, los rendimientos de hoja seca, fueron mayores en Palmira.

Agradecimientos: Al Centro de Investigación CIIC de la Universidad de Córdoba y al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural –CENIREL–, por la financiación del macro proyecto “Determinación de zonas agroecológicas óptimas en función del contenido de los glucósidos en *Stevia rebaudiana* en Colombia”. **Conflicto de interés:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de interés que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. AZCÓN-BIETO, J.; TALÓN, M. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill Interamericana de España, Madrid. 325p.
2. BONDAREV, N.I.; SUKHANOVA, M.A.; RESHETNYAK, O.V.; NOSOV, A.M. 2003. Steviol Glycoside content in different organs of *Stevia rebaudiana* and its dynamics during ontogeny. *Biologia Plantarum*. 47(2):261-264.
3. CARAKOSTAS, M.C.; CURRY, L.L.; BOILEAU, A.C.; BROSICK, D.J. 2008. Overview; the history, technical occurring steviol glycoside, for use, in food and beverages. *Food Chem. Toxicol.* 7(3):SI-S10.
4. CEUNEN, S.; WERBROUCK, S.; GEUNS, J.M.C. 2012. Stimulation of steviol glycoside accumulation in *Stevia rebaudiana*.

- via rebaudiana* by red LED light. *J. Plant Physiol.* 169:749-752.
5. CEUNEN, S.; GEUNS, J.M.C. 2013. Influence of photoperiodism on the spatio-temporal accumulation of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Plant Science.* 198(2):72-82.
 6. CHATSUDTHIPONG, V.; MUANPRASAT, C. 2009. Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol. Therapeutics.* 121:41-54.
 7. DE OLIVEIRA, B.H.; PACKER, J.F.; CHIMELLI, M.; DE JESÚS, D.A. 2007. Enzymatic modification of stevioside by cell-free extract of *Gibberella fujikuroi*. *J. Biotechnol.* 131(1):92-99.
 8. GARDANA, C.; SCAGLIANTI, M.; SIMONETTI, P. 2010. Evaluation of steviol and its glycosides in *Stevia rebaudiana* leaves and commercial sweetener by ultra-highperformance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatography A* 1217(9):1463-1470.
 9. GEUNS, J.M.C. 2000. Safety of stevia and stevioside. *Recent Res. Developments. Phytochem.* 4(2):75-88.
 10. JAITAK, V.; GUPTA, A.; KAUL, A.V.; AHUJA, P. 2008. Validated high-performance thin-layer chromatography method for steviol glycosides in *Stevia rebaudiana*. *J. Pharmac. Biomed. Analysis.* 47(4-5):790-794.
 11. JARMA, A.; CARDONA, C.; FERNÁNDEZ, C. 2012. Efecto de la temperatura y radiación en la producción de glucósidos de esteviol en *Stevia rebaudiana* en el Caribe húmedo colombiano. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 15(2):339-347.
 12. JARMA, A.; ARAMENDIZ, H.; CLEVES, J.A. 2011. Estabilidad fenotípica y densidades de planta de genotipos de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) en la región Caribe de Colombia. *Acta Agronómica.* 60 (2): 176-182.
 13. JARMA, A. 2008. Estudios de adaptación y manejo integrado de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.): nueva alternativa agroindustrial del Caribe colombiano. Una revisión. *Rev. Col. Cienc. Hort.* 2(1):109-120.
 14. JARMA, A.; RENGIFO, T.; ARAMENDIZ, T.H. 2005. Aspectos fisiológicos de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en el Caribe colombiano: I. Efecto de la radiación incidente sobre el área foliar y la distribución de biomasa. *Agr. Col.* 23(2):207-216.
 15. KANDUS, M.; ALMORZA, D.; BOGGIO, R.; RONCEROS, D.; SALERNO, J.C. 2010. Statistical models for evaluating the genotype-environment interaction in maize (*Zea mays* L.). *Phyton (B. Aires).* 79(1):39-46.
 16. KOINI, M.A.; ALVEY, L.; ALLEN, T.; TILLEY, C.A.; HARBERT, N.P.; WHITELAM, G.C.; FRANKLIN, K.A. 2009. High temperature-mediated adaptations in plant architecture require the bHLH transcription factor PIF4. *Current Biology.* 19(5):408-413.
 17. MADAN, S.; AHMAD, S.; SINGH, G.N.; KOHLI, K.; KUMAR, Y.; SINGH, R.; GARG, M. 2010. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni—a review. *Ind. J. Nat. Prod. Resource.* 1(1):267-286.
 18. MITCHELL, H. 2006. Bulking Agents: Multi-functional Ingredients. In: Mitchell, H. (ed). *Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology.* Blackwell Publ. 1st ed. p.65-85.
 19. MIZUKAMI, H.; SHIBA, K.; OHASHI, H. 1983. Effect of temperature on growth and stevioside formation of *Stevia rebaudiana*. *Shoyakugaku Zasshi.* 37:175-179.
 20. MONTEMAYOR, J.; ZERMEÑO, J.A.; OLAGUE, J.; ALDACO, R.; FORTIS, M.; SALAZAR, E.; CRUZ, J.; VÁSQUEZ, C. 2006. Efecto de la densidad y estructura del dosel de maíz en la penetración de la radiación solar. *Rev. Int. Bot. Exp. (YTON).* 75:47-53.
 21. RAFFO, M.; IGLESIAS, D. 2004. Efecto de la intercepción y distribución de la radiación fotosintéticamente activa en manzanos cv. 'Fuji', bajo cuatro sistemas de conducción en alta densidad. *Rev. Invest. Agropec.* 33(2):29-42.
 22. RAMESH, K.; VIRENDRA, S.; MEGEJI, N.W. 2006. Cultivation of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: a comprehensive review. *Adv. Agron.* 89(1):137-177.
 23. RODRÍGUEZ, R.E.; PONCE, J.T.; RUEDA, E.O.; AVENDAÑO, L.; PAZ, J.J.; SANTILLANO, J.; CRUZ, M. 2011. Interacción genotipo-ambiente para la estabilidad de rendimiento en trigo en la región de Mexicali, B.C. México. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14:543-558.
 24. RUIZ C., J.A.; FLORES L., H.E.; RAMÍREZ, D., J.L.; GONZALEZ E., D.R. 2002. Temperaturas cardinales

- y duración del ciclo de madurez del híbrido de maíz H-311 en condiciones de temporal. *Agrociencia*. 36(5):569-577.
25. SERFATY, M.; IBDAH, M.; FISCHER, R.; CHAIMOVITSH, D.; SARANGA, Y.; DUDAI, N. 2013. Dynamics of yield components and stevioside production in *Stevia rebaudiana* grown under different planting times, plant stands and harvest regime. *Industr. Crops Products*. 50(2):731-736.
26. SINGH, S.; RAO, G. 2005. Stevia: The herbal sugar of 21st century. *Sugar Technol.* 71(2):17-24.
27. TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2010. *Plant physiology*. 5th ed. Sinauer Associates, Inc. Redwood City, CA. p.644-645.
28. VANIDZE, M.R.; KALANDIYA, A.G.; CHANUKVADZE, K.R. 2009. Identification and quantitative determination of the content of diterpene glycosides in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Khim. Rastit. Syr'ya*. 4(2):155-158.
29. YADAV, A.K.; SINGH, S.; DHYANI, D.; AHUJA, P.S. 2011. A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. *Can. J. Plant Science*. 91(3):1-27.
30. WOLWER-RIECK, U. 2012. The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review. *J. Agr. Food Chem.* 60:886-895.
- Recibido: Agosto 20 de 2015
Aceptado: Marzo 19 de 2016

Cómo citar:

Hernández, J.L.; Combatt, E.M.; Jarma O., A.; Polo S., J.; Rodríguez P., L. 2016. Rendimiento y calidad de hojas de *Stevia rebaudiana* Bert. bajo la oferta edafológica y dos niveles de radiación en cinco regiones de Colombia. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 77-85.

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CV ICA CERINZA, BAJO ESTRÉS SALINO

EVALUATION OF BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) CV 'ICA CERINZA' GROWTH, UNDER SALT STRESS

Wilmer Alejandro Quintana-Blanco¹, Elberth Hernando Pinzón-Sandoval², David Fernando Torres³

¹ Estudiante Ingeniería Agronómica. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Boyacá. Av. Central del Norte, e-mail: wilquintana61@hotmail.com; ² Ing. Agrónomo, M.Sc. Fisiología Vegetal, Grupo de Investigaciones Agrícolas. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (IPTC). Av. Central del Norte. Tunja, Boyacá, e-mail: elberth02@gmail.com; ³ Ing. Agrónomo, cM.Sc. Fisiología Vegetal. IPTC - Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, e-mail: mollisol89@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 87-95, Enero- Junio, 2016

RESUMEN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los productos más importantes en la alimentación humana. Además, se encuentra ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. En la actualidad, la mayoría de las zonas aptas para la agricultura presentan problemas de salinización, ya sea por la condición natural del suelo o por acción antrópica. El frijol es sensible a la salinidad, ya que puede reducir su rendimiento hasta en un 50%. El objetivo de esta investigación fue evaluar el comportamiento del cultivar Ica Cerinza, sometido a diferentes concentraciones de NaCl, en condiciones de invernadero; los tratamientos para generar estrés por salinidad fueron 0, 20, 40 y 60mM de NaCl. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA). Se evaluaron parámetros fisiológicos, como resistencia estomática, contenido total de clorofila, área foliar, peso fresco y seco de órganos, grosor de la hoja y longitud de raíz. A medida que se aumentó la dosis de NaCl, el contenido total de clorofila disminuyó y la resistencia estomática aumentó, lo que se vio reflejado en el escaso crecimiento y acumulación de materia seca y fresca, por parte de la planta; sin embargo, el cultivar mostró una tolerancia a una condición moderada de salinidad, ya que generó respuestas de tipo morfológico, con lo que evitó una disminución drástica del crecimiento en su etapa vegetativa.

Palabras clave: Salinidad, comportamiento fisiológico, leguminosa, crecimiento.

SUMMARY

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important products for human feeding. In addition, bean

cultivations is widely distributed in tropical and subtropical regions. At present most areas suitable for agricultural purposes have salinization problems either by natural soil conditions or because of human action. The common bean is sensitive to salinity, as this condition could reduce yield up to 50%. The objective of this research was to evaluate the behavior of the cultivar Ica Cerinza, subjected to different concentrations of NaCl under greenhouse conditions. The treatment to generate salt stress were 0, 20, 40 and 60mM of NaCl. The experimental design used was completely randomized. Physiological parameters such as, stomatal resistance, chlorophyll content, leaf area, fresh and dry weight of organs, leaf thickness and root length were evaluated. Result showed that as NaCl dose was increased, chlorophyll content decreased and stomatal resistance increased, which was reflected in scarce growth and accumulation of dry and fresh matter from the plant. However the cultivar showed a tolerance to a moderate salinity condition, since it generated morphological type responses, which avoided a drastic reduction of increase during the vegetative growth stage.

Key words: Salinity, physiological behavior, leguminous, growth.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la especie más importante para el consumo humano, entre las leguminosas de grano alimenticias y tiene gran importancia en la dieta de la población colombiana, por su alto contenido proteico y de minerales esenciales, siendo un producto clave en la seguridad alimentaria de la población (Delgado *et al.* 2013). Presenta otras características, que hacen ventajoso su consumo, desde el punto de vista nutricional, como su elevado

contenido de lisina, fibra alimentaria y presencia de vitaminas del complejo B. América Latina es el mayor productor y consumidor, con más del 45% de la producción mundial (CNPAF- EMBRAPA, 2003; Arias *et al.* 2007). En Colombia, para el primer semestre de 2015, la producción de frijol ascendió a 62.974t, de la cual, el departamento de Boyacá participó con 1.189t, en un área de 820 ha y una producción promedio de 1,5t.ha⁻¹ frijol seco (FENALCE, 2016).

La salinidad en los suelos es un problema para la agricultura del mundo, uno de los factores que más limita la productividad de los cultivos (Gouia *et al.* 1994); en Colombia, aproximadamente el 1% de los suelos están afectados por problemas de este tipo (FAO, 2000). Las zonas susceptibles a la salinización en el país abarcan gran parte de la región Caribe, los valles interandinos (ríos Magdalena y Cauca) y los altiplanos, donde actualmente se concentra la producción agrícola del país (MAVDT, 2004). En Boyacá, se consideran que existen 23.500 ha con susceptibilidad a procesos de salinización, debido a la formación de suelos sulfatados, ácidos salinos en los valles de Tundama, Sugamuxi, Ubaté y Cucunubá (Castro & Gómez, 2015).

Las sales tienen efectos adversos sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo (Gili *et al.* 2004). Varias son las causas vinculadas a los procesos de salinización, entre las cuales, es posible citar el excesivo uso de fertilizantes, calidad del agua de riego, falta de obras de ingeniería, como los drenajes y ampliación de la frontera agrícola hacia zonas de vegetación nativa (Coca *et al.* 2012).

El estrés salino ocurre por altas concentraciones de sodio (Na⁺) y cloro (Cl) en la solución nutritiva, que induce serias alteraciones en el metabolismo de la planta, que repercute en su crecimiento y desarrollo (Hasegawa *et al.* 2002). Sumado a lo anterior, conduce a otros tipos de estrés, como el ocasionado por el déficit hídrico, debido al efecto osmótico y denominado mecanismo no específico de la salinización, que se torna en uno de los factores que reducen la tasa de fijación de dióxido de carbono (CO₂), con el que se afectan los procesos fotosintéticos de las plantas (Sudhir & Murthy, 2004).

El frijol común es sensible a la salinidad, ya que puede reducir su rendimiento hasta en un 50%, cuando se presenta una conductividad eléctrica (CE) del suelo, mayor o igual a 2dS/m, equivalente a 20mM NaCl (Bayuelo-Jiménez *et al.* 2002). Una elevada concentración salina del suelo o el sustrato afecta también, considerablemente, la tasa de germinación, debido a la disminución del potencial hídrico, con lo que se reduce la disponibilidad de agua, necesaria para imbibición que requiere la semilla para germinar (Kaymakanova *et al.* 2008). La reducción de la germinación es diferencial entre cultivares, como lo indican Can Chulim *et al.* (2014), quienes encontraron disminución de 25,3 hasta

41,7%, cuando se presentó una conductividad eléctrica de 6,3dS m⁻¹.

Se ha encontrado que algunas especies del género *Phaseolus* presentan mecanismos de tipo genético y morfológico, que les permiten tolerar la salinidad y los efectos adversos, ocasionados por el déficit hídrico, como respuesta al estrés por salinidad (Lizana *et al.* 2006). La reducción del impacto de la salinidad sobre el crecimiento de los vegetales, bajo un modelo convencional, requiere, con frecuencia, el uso de enmiendas aplicadas al suelo (Casierra & García, 2006) o de tecnologías, como el uso de biofertilizantes, biopolímeros o aplicación de campos electromagnéticos (Zúñiga *et al.* 2011), que incrementan los costos de producción y no son totalmente efectivas. Por lo anterior, la investigación tuvo como finalidad, la evaluación de parámetros fisiológicos en etapa vegetativa del cultivar de frijol, de mayor importancia en la región de Boyacá, con el fin de conocer su respuesta al estrés, causado por salinidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo, se desarrolló en el invernadero de vidrio de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, sede Tunja, ubicada a 5°32'25"N 73°21'41"O, con una altura de 2.691 msnm, humedad relativa promedio de 80% y temperatura promedio de 26°C.

Para determinar el efecto de la salinidad por NaCl sobre el crecimiento en plantas de frijol, se seleccionó el cultivar Ica Cerinza, que es una material regional para zonas de clima frío y frío moderado, de tipo arbustivo, uniforme en cuanto a tamaño, número de granos y distribución en la planta, grano de tipo radical de tamaño mediano y color rojo oscuro (Ríos & Quirós, 2002; Astudillo & Blair, 2008), que se cultiva comúnmente en Boyacá. Las semillas fueron obtenidas de FENALCE, con el fin de garantizar las características genéticas del cultivar; posteriormente, se sembraron en materas plásticas, con capacidad para 2kg. El sustrato utilizado fue suelo negro, al cual, se le realizó análisis de laboratorio, para descartar que presentara alta conductividad o elevado contenido de sodio (Tabla 1).

Las plantas, se establecieron en el primer semestre del 2015. La condición de estrés, se simuló mediante la aplicación de Cloruro de Sodio (NaCl), siendo los tratamientos: T0: sin aplicación de NaCl; T1: 20mM de NaCl; T2: 40mM de NaCl y 60mM de NaCl, cada uno con tres réplicas, para un total de 12 unidades experimentales, cada una compuesta por dos plantas. El NaCl, se diluyó y aplicó a cada matera, con una frecuencia de riego de 2 días, en volumen de 100mL por planta, durante seis semanas. Las aplicaciones comenzaron cuando las plantas se encontraron en estadio V14 hasta el estadio V19, con el fin de garantizar que estuvieran comple-

tamente establecidas y presentaran homogeneidad (Feller *et al.* 1995).

Los parámetros fisiológicos no destructivos evaluados fueron: clorofila total, relacionada con el contenido de nitrógeno de la hoja, con un clorofilómetro Minolta SPAD 502 plus:

se tomó por planta un total de 10 mediciones, para generar un promedio por cada unidad experimental; resistencia estomática, mediante un porómetro Decagon Devices SC-1: se realizó la medición en hojas del tercio superior. Las mediciones, se efectuaron semanalmente, posterior al inicio de los tratamientos.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del sustrato.

Propiedades	Resultado
Densidad aparente	1,2g cm ⁻³
Densidad real	2,3g cm ⁻³
Porosidad	48%
Conductividad eléctrica	0,2dS m ⁻¹
pH	4,8
M.O	4,8%
Na	0,88cmol kg ⁻¹ de suelo
Ca	1,58cmol kg ⁻¹ de suelo
Mg	0,27cmol kg ⁻¹ de suelo

Para la evaluación de los parámetros fisiológicos destructivos, se determinó el peso fresco total y peso seco total, secando las muestras en estufa de secado, durante 48h, momento en el que alcanzaron peso constante; las muestras fueron pesadas, con una balanza electrónica Acculab VIC 612 de 0,01 g de precisión y secadas en una estufa de secado Memmert; grosor de hoja, por medio de un calibrador digital Mitutoyo precisión $\pm 0,05$ mm y área foliar, con un medidor LICOR 2000. Lo anterior, se procedió, luego de seis semanas de aplicación de tratamientos, momento en el que terminó el ensayo.

Los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de normalidad y de homogeneidad de varianza, mediante las pruebas de Shapiro-Will y Levene, respectivamente. Comprobados los supuestos, se realizó análisis de varianza; las variables que mostraron diferencias estadísticas fueron sometidas a pruebas de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0,05$). Los análisis se formalizaron con el programa estadístico SAS v.9.2e SAS Institute Inc., Cary,NC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de clorofila total presentó diferencias significativas ($P \leq 0,05$), entre las dosis utilizadas. Se pudo observar que, luego de dos semanas de aplicación de la condición de estrés, los contenidos de clorofila comenzaron a descender en los tratamientos con las mayores dosis (Figura 1); mientras mayor estrés se presentó en las plantas a causa

del NaCl, menor fue el contenido de clorofila. El método utilizado fue de tipo no destructivo y el que, como mencionan Fang *et al.* (2010), se puede utilizar para monitorear el contenido de N en la hoja. La salinidad generó senescencia foliar, acompañada de removilización de nutrientes, como nitrógeno de las hojas maduras a las jóvenes, debido a la baja absorción de iones, como el nitrato, tal como lo reportan McCue & Hanson (1990). Existen investigaciones que coinciden en que el aumento en la concentración de Na⁺ en la solución del suelo y de la planta afectan la concentración de pigmentos fotosintéticos, debido, principalmente, a la destrucción de los cloroplastos y a un aumento de la actividad de la enzima clorofilasa, dando paso a la degradación de las clorofilas (Flowers & Yeo, 1986; Appels & Lagudah, 1990). Los resultados encontrados en el presente estudio coinciden con algunas investigaciones, en las que se indica que cultivos de *P. vulgaris* disminuyen el contenido de clorofila al aumentar las dosis de NaCl, por encima de 20mM (Jaramillo *et al.* 2009).

En cuanto a la resistencia estomática, se observaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre las dosis de NaCl aplicadas (Figura 2), siendo la dosis de 60mM (6dS m⁻¹) la que presentó el mayor valor, con una resistencia estomática de $721 \pm 66,06$ m² s mol⁻¹, luego de 28 días de inicio de aplicación del tratamiento. Se pudo observar que este parámetro aumentó, de manera notoria, con cualquiera de las dosis aplicadas, mientras que el tratamiento testigo se mantuvo estable, a través del tiempo. La condición de estrés genera que

desde la raíz se presente una síntesis de ácido abscísico (ABA), como respuesta temprana, que produce cambios fisiológicos locales, como reducción de la conductividad hidráulica y a distancia, cierre estomático (Hartung *et al.* 2002).

Una de las respuestas primarias de las plantas al estar sometidas a condiciones de estrés es el cierre estomático, que genera un bloqueo directo de la fotosíntesis, debido a que se

limita la entrada de CO₂, sustrato necesario para el ciclo de Calvin. Esto ocasiona un bloqueo de la fase foto, por la nula demanda del poder reductor y ATP, dando como resultado la producción de oxígeno, con un consecuente daño de las membranas de los cloroplastos y posterior desintegración de los mismos (Appels & Lagudah, 1990). Lo anterior correlaciona con la disminución en los niveles de clorofila, observados en la presente investigación (Figura 1).

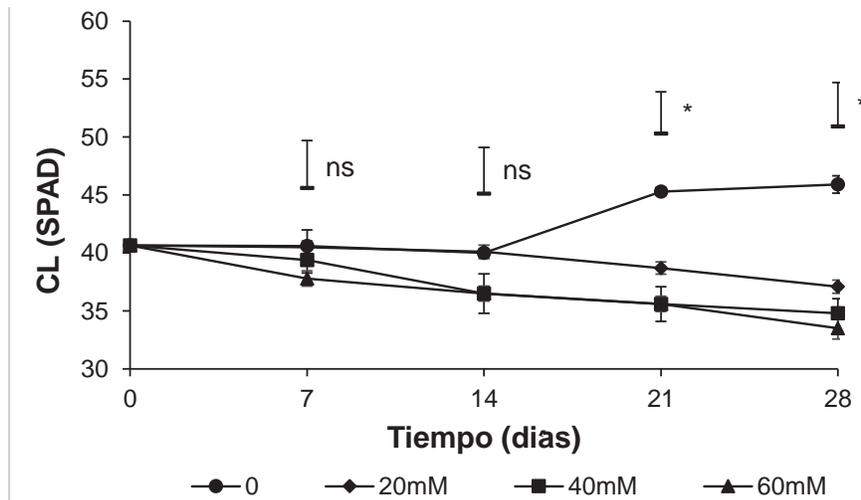


Figura 1. Comportamiento de la clorofila total en fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Ica Cerinza, sometido a diferentes dosis de NaCl, en condiciones controladas. Barras verticales en los tratamientos indican error estándar (n=4). Barras en cada punto de muestreo indica la diferencia mínima significativa, según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), ns: no existen diferencia estadística, *: diferencias significativas al 95%.

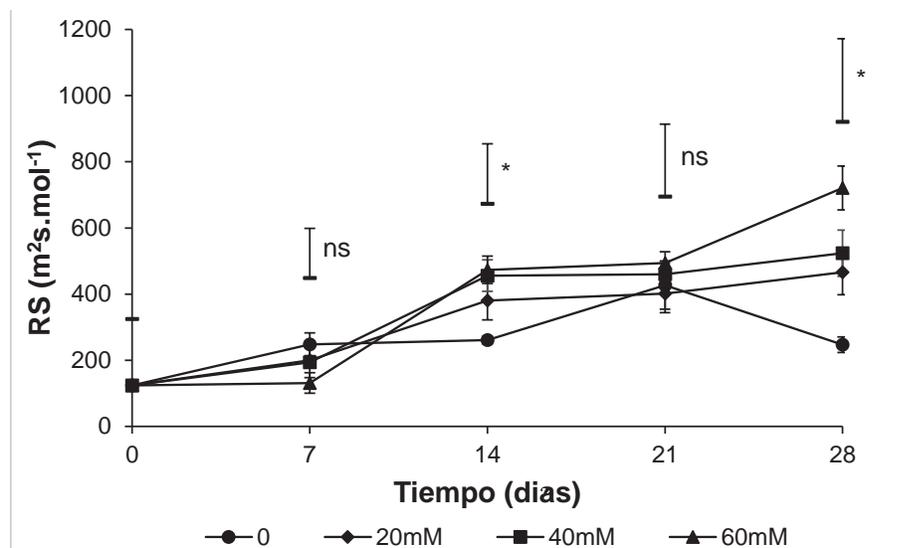


Figura 2. Comportamiento de la resistencia estomática en fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Ica Cerinza, sometido a diferentes dosis de NaCl, en condiciones controladas. Barras verticales en los tratamientos indican error estándar (n=4). Barras en cada punto de muestreo indica la diferencia mínima significativa, según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), ns: no existen diferencia estadística, *: diferencias significativas al 95%.

El estrés por salinidad también tiene un efecto importante en el proceso de transpiración, relacionado con el incremento de la resistencia al flujo de agua hacia el interior de la planta, dependiente de la regulación estomática (Tabatabaei, 2006). Los resultados indican que el frijol es una especie sensible al estrés por salinidad. Algunos autores afirman que este es un cultivo que sufre daños considerables, a partir de 1dS m^{-1} , equivalente a 10mM de NaCl (Maas, 1990). La salinidad altera las relaciones hídricas y el intercambio gaseoso de especies cultivadas y silvestres del género *Phaseolus* (Bayuelo-Jiménez *et al.* 2002).

No se presentaron diferencias estadísticas para el grosor de hoja y la longitud de raíz (Figura 3A); sin embargo, el tratamiento sin aplicación de NaCl presentó un grosor de hoja de $0,35\pm 0,04\text{mm}$, mientras que los tratamientos con algún tipo de aplicación de NaCl, mostraron valores entre $0,25\pm 0,02\text{mm}$ y $0,26\pm 0,05\text{mm}$, siendo inferiores al obtenido en el testigo. Las plantas sometidas a la condición de estrés presentan impedimento para mantener un buen estatus hídrico, debido al cierre estomático y el desajuste osmótico, reflejado en una menor cantidad de agua almacenada en órganos, como la hoja.

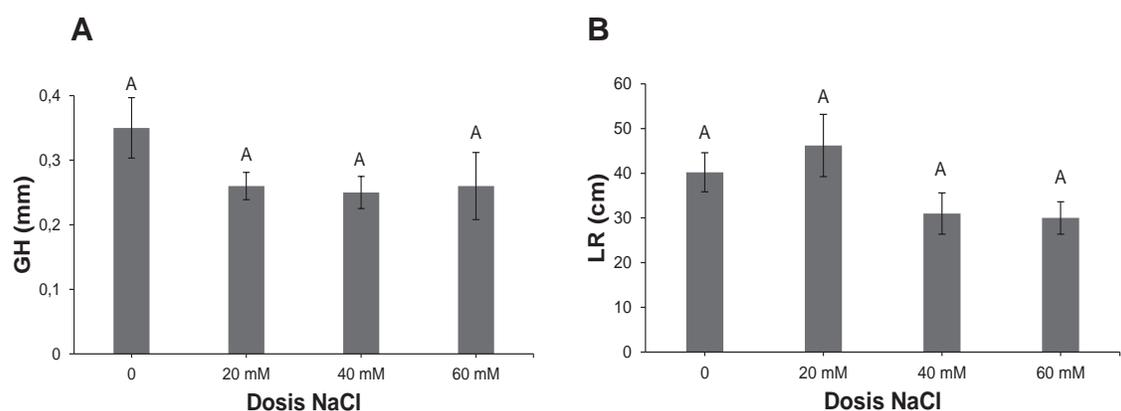


Figura 3. A) Grosor de hoja; B) Longitud de raíz, en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Ica Cerinza, sometido a diferentes dosis de NaCl, en condiciones controladas. Tratamientos seguidos de letras distintas presentan diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P\leq 0,05$), barras verticales indican error estándar ($n=4$).

Por su parte, la variable longitud de raíz presentó un valor máximo de $46,2\pm 6,9$ cm, que correspondió al tratamiento de 20mM de NaCl, mientras en los tratamientos de 40 y 60mM , el tamaño de la raíz se vio afectado de manera notoria, pues se observaron valores de $31\pm 4,6\text{cm}$ y $30\pm 3,6\text{cm}$, respectivamente (Figura 3B). Lo encontrado en esta variable indica que una condición de estrés moderada, dosis de 20mM , generó, como respuesta, un aumento de la longitud de la raíz. Campos *et al.* (2011) observaron también un aumento en la longitud del sistema radical en cultivares de frijol sometidos a estrés por NaCl, lo que representó una ventaja en cuanto a la capacidad para la obtención del agua en perfiles subsuperficiales del suelo, lo que contribuye a enfrentar el estrés osmótico, impuesto por las sales. Por el contrario, Velázquez *et al.* (2002) hallaron que al aplicar sales sódico-alcalinas inhibieron el crecimiento de la raíz, debido a los procesos hidrolíticos y el Na^+ , que actúan a nivel de meristemas, destruyendo las células vegetales e inhibiendo la síntesis de hormonas, lo que limita el crecimiento de la planta.

Por su parte, el área foliar, peso fresco total y peso seco total presentaron diferencias significativas entre tratamien-

tos, según la prueba de Tukey ($P\leq 0,05$) (Figura 4 y 5). El tratamiento de 20mM de NaCl mostró el mayor valor para la variable área foliar, con $182,6\pm 18,4\text{cm}^2$ y reveló diferencias significativas frente a los tratamientos 3 y 4, en los cuales, se evidenciaron los menores valores, con $88,2\pm 16,1$ y $92,61\pm 18,7\text{cm}^2$, respectivamente. Lo observado en el tratamiento 20mM , se puede deber a una respuesta morfológica por parte de este cultivar, para buscar sobreponerse a la condición de salinidad, bajo una concentración moderada de NaCl; esta respuesta indica que la planta generó mayor superficie de tejido foliar, con el fin de buscar una dilución por crecimiento (Campos *et al.* 2011). Los mismos autores indican que en cultivares de *P. vulgaris*, sometidos a condiciones de salinidad, redujeron el área foliar, así como otros componentes de crecimiento, debido, tal vez, al desajuste osmótico o al efecto tóxico, ocasionado por el NaCl, en concentraciones de 40mM . Lo anterior correlaciona con lo observado en los tratamientos 3 y 4 (40 y 60mM).

Aschan & Pfan (2003) indican que el crecimiento de las plantas es el resultado directo de una masiva y rápida expansión de las células jóvenes producidas por las divisiones

meristemáticas; no obstante, la expansión celular, tanto de la raíz como del área foliar, puede ser inhibida por la salinidad, cuando se presenta en concentraciones altas, como lo reporta Ashraf & Leary (1996), que concuerda con lo observado en el presente estudio.

Se presentaron diferencias significativas en cuanto a las variables peso fresco y seco de parte aérea y peso fresco de raíz. El tratamiento de 20mM fue el que mostró los mayores valores, mientras que en los tratamientos 3 y 4, se evidenció una disminución notable, en cuanto a los pesos frescos y secos de raíz y parte aérea (Figura 5).

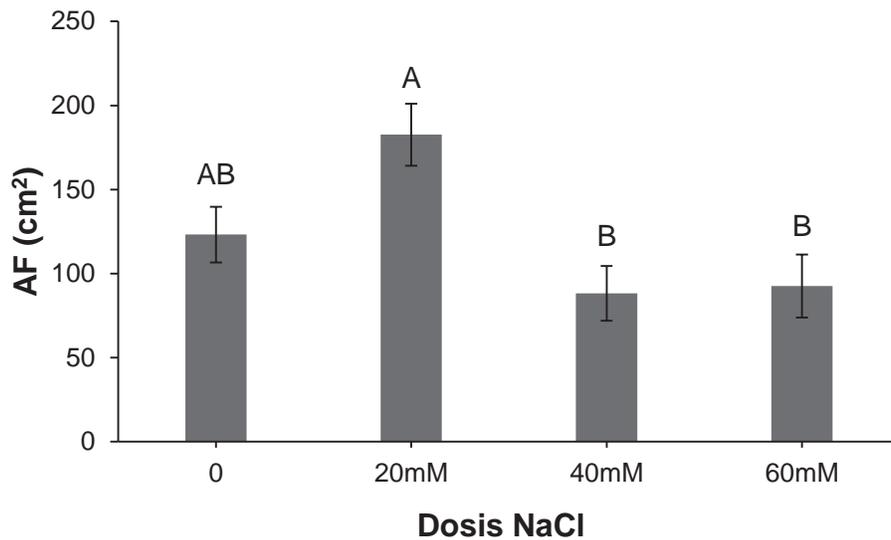


Figura 4. Área Foliar en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Ica Cerinza, sometido a diferentes dosis de NaCl, en condiciones controladas. Tratamientos seguidos de letras distintas presentan diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), barras verticales indican error estándar ($n=4$).

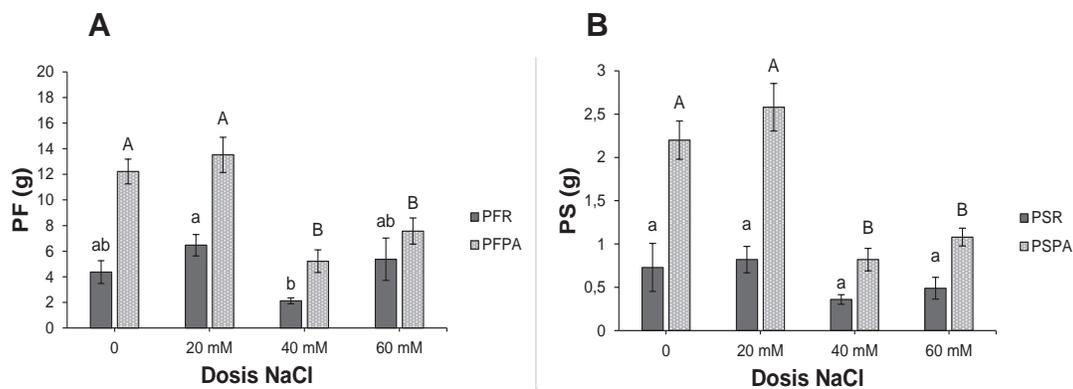


Figura 5. A) PFR: Peso fresco de raíz; PFA: Peso fresco parte aérea; B) PSR: Peso seco de raíz; PSA: Peso seco parte aérea, en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Ica Cerinza, sometido a diferentes dosis de NaCl, en condiciones controladas. Tratamientos seguidos de letras distintas presentan diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), barras verticales indican error estándar ($n=4$).

La ganancia de peso fresco, se relaciona, principalmente, con la entrada de agua a la planta vía corriente transpiratoria, la cual, se vio afectada, debido a la disminución de la resistencia estomática (Figura 2). Se pudo observar que al generar un aumento en la dosis de NaCl (40 y 60mM), se disminuyó, considerablemente, el crecimiento, tanto de la raíz como de la parte aérea. La reducción del crecimiento de las plantas bajo estrés salino, se atribuye a una alteración en la tasa fotosintética y modificación en el metabolismo de los carbohidratos y su posterior distribución (Argentel *et al.* 2009). Los mismos autores indican que la producción de biomasa y relación raíz/follaje son criterios comúnmente utilizados, para seleccionar individuos con tolerancia a la salinidad, ya que el efecto inhibitorio, que causa el estrés salino sobre estas variables de crecimiento, es más notable en los cultivares sensibles a la salinidad, que en los tolerantes de la misma especie; esto indica, que el cultivar evaluado, se podría clasificar como sensible, debido a la drástica disminución del peso seco presentada al aumentar la concentración por encima de 20mM de NaCl.

Kumar (1991) indican que la disminución en la acumulación parte aérea/raíz ha sido muy estudiada, pero que este fenómeno no es general, sino característico de algunas especies; sin embargo, Mano & Takeda (2001) observaron que las plantas, generalmente, mantienen una proporción característica entre raíz/follaje, cuando esta proporción es afectada; la respuesta inmediata de la planta es disminuir la acumulación de materia seca en ambas partes y, muchas veces, trata de compensar la pérdida, mediante un rápido crecimiento de la parte afectada, para restablecer la proporción raíz/follaje que la caracteriza. Esto correlaciona con lo observado en este trabajo, en que la relación raíz/parte aérea guardó una proporción en cada uno de los tratamientos.

Por su parte, Viswanathan & Zhu (2003) discuten que el potencial del plasmalema en las células vegetales favorece el transporte pasivo del Na⁺ hacia el interior de las células, especialmente, bajo condiciones de alto contenido de Na⁺ extracelular; sin embargo, el exceso de Na⁺ extracelular entra a la célula, a través del transportador HKT1 y de los canales transportadores de cationes no selectivos, que resulta en una disminución de la relación K⁺/Na⁺ en el citosol, que tiene como consecuencia la alteración de los procesos metabólicos, en los cuales, está implicado el K⁺ y, por tanto, el crecimiento, expresado en términos de acumulación de materia seca, se ve seriamente afectado. Casierra & García (2006) indican que al someter a condiciones de estrés a plantas de tipo glicófitas, se reduce el crecimiento, debido a que se comprometen algunos de los factores determinantes del proceso fotosintético, como la entrada de CO₂ o la disponibilidad de K⁺.

Se puede concluir, que el cultivar de frijol Ica Cerinza mostró diferencias significativas, en parámetros fisiológicos, como

resistencia estomática, contenido de clorofila total, área foliar y acumulación de materia fresca y seca de parte aérea. La condición de salinidad, a la cual, fue sometido el cultivar, generó un desbalance notable, a nivel de intercambio gaseoso, debido, posiblemente, al cierre estomático, desencadenando problemas en los procesos, como la fotosíntesis y la toma de nutrientes vía flujo en masa, lo que se vio reflejado en el escaso crecimiento y acumulación de materia seca, por parte de la planta; sin embargo, el cultivar reveló una tolerancia a la condición moderada de salinidad, ya que generó respuestas de tipo morfológico, con lo que evitó una disminución drástica del crecimiento en su etapa vegetativa.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentado.

BIBLIOGRAFÍA

1. APPELS, A.; LAGUDAH, H.E. 1990. Manipulation of chromosomal segments from wild wheat for the improvement of bread wheat. *Austral. J. Plant Physiol.* 17:253-266.
2. ARIAS, J.H.; JARAMILLO, M.; RENGIFO, T. 2007. Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en la producción de frijol voluble. CORPOICA – MANA – FAO. C.I. La Selva. Medellín. 168p.
3. ARGENTEL, L.; LÓPEZ, D.; GONZÁLEZ, L.; LÓPEZ, R.; GÓMEZ, E.; GIRÓN, R.; FONSECA I. 2009. Contenido de clorofila e iones en la variedad de trigo harinero Cuba-C-204 en condiciones de estrés salino. *Cultivos Tropicales.* 30(4):32-37.
4. ASCHAN, G.; PFANZ, H. 2003. Non-foliar photosynthesis-a strategy of additional carbon acquisition. *Flora.* 198(2):81-97.
5. ASHRAF, M.; LEARY, J.W.O. 1996. Effect of drought stress on growth, water relations, and gas exchange of two lines of sunflower differing in degree of salt tolerance. *Int. J. Plant Sci.* 157(6):729-732.
6. ASTUDILLO, C.; BLAIR, M. 2008. Contenido de hierro y cinc en la semilla y su respuesta al nivel de fertilización con fósforo en 40 variedades de frijol colombianas. *Agron. Colom.* 26(3):471-476.
7. BAYUELO-JIMÉNEZ, J.; DEBOUCK, D; LYNCH, J. 2002. Salinity tolerance in *Phaseolus* species during early vegetative growth. *Crop Science.* 42:2184-2192.

8. CAN CHULIM, Á.; RAMÍREZ, L.; ORTEGA, H.; CRUZ, E.; ROMÁN, D.; SÁNCHEZ, E.; MADUEÑO A. 2014. Germinación y crecimiento de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. en condiciones de salinidad. Rev. Mex. Ciencias Agr. 5(5):753-763.
9. CAMPOS, G.; GARCÍA, M.; PÉREZ, D.; RAMIS, C. 2011. Respuesta de 20 variedades de carota (*Phaseolus vulgaris* L.) ante el estrés por NaCl durante la germinación y en la fase plantular. Bioagro. 23(3):215-224.
10. CASIERRA, F.; GARCÍA, N. 2006. Crecimiento y distribución de materia seca en cultivares de fresa (*Fragaria* sp.) bajo estrés salino. Agron. Colom. 23(1):83-89.
11. CASTRO, H.; GOMEZ, M. 2015. Suelos sulfatados ácidos; el caso del valle alto del río Chicamocha Boyacá-Colombia. Editorial U.P.T.C. Tunja (Colombia). 238p.
12. CNPAF-EMBRAPA. 2003. Cultivo de feijoeiro. Disponible desde internet en:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm> (con acceso el 15/09/2015).
13. COCA, A.; CARRANZA, C.; MIRANDA, D.; RODRIGUEZ, M. 2012. Efecto del NaCl sobre los parámetros de crecimiento, rendimiento y calidad de la cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) bajo condiciones controladas. Rev. Colomb. Cienc. Hortíc. 6(2):196-212.
14. DELGADO, H.; PINZÓN, E.H.; BLAIR, M.; IZQUIERDO, P.C. 2013. Evaluación de líneas de fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.) de retrocruce avanzado entre una accesión silvestre y radical cerinza. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1):79-86.
15. FANG, L.F.; FENG, L.; SONG, Q.J.; YUAN-S., D.; SU, C.L.; WANG, K. 2010. Investigation of SPAD meter-based indices for estimating rice nitrogen status. Computers Electronics Agricult. 715:560-565.
16. FEDERACIÓN NACIONAL DE CULTIVADORES DE CEREALES Y LEGUMINOSAS –FENALCE-. 2016. Cifras de producción frijol primer semestre de 2015. Disponible desde internet en ww.fenalce.org/~fenalce/nueva/plantillas/arch_web/APR2015AA5.pdf (con acceso el 16/01/2016).
17. FELLER, C.; BLEIHOLDER, H.; BÜHR, L.; HACK H.; HESS, M.; KLOSE, R.; MEIER, U.; STAUSS, R.; VAN DEN BOOM, T.; WEBER, E. 1995. Phänologische Entwicklungsstadien von Gemüsepflanzen: II. Fruchtgemüse und Hülsenfrüchte. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutz. 47:217-232.
18. FLOWERS, T.; YEO, A. 1986. Ion relations of plants under drought and salinity. Australian J. Scientific Res. 13(1):75-91.
19. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION –FAO-. 2000. Land resource potential and constraints at regional and country levels. Land and Water Development Division. FAO, Rome. 63p.
20. GILI, P.; MARANDO, G.; IRISARRI, J.; SAGARDOY, M. 2004. Efecto de las técnicas de lavado y fertilización sobre la salinidad en suelos del alto valle de río negro y neuquén, Argentina. Agr.Técnica. 64(3):295-304.
21. GOUIA, H.; GHORBAL, M.; TOURAIWE, C. 1994. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and NO⁻³ reductase rate withing whole plant of salt-sensitive bean and tolerant cotton. Plant Physiol. 105:1409-1418.
22. HARTUNG, W.; SAUTER, A.; HOSE, E. 2002. Abscisic acid in the xylem: where does it comes from, where does it goes to? J. Exp. Bot. 53: 27-32.
23. HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.; ZHU, J.; BOHNERT, H. 2002. Plant celular and molecular responses to high salinity. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51: 463-499.
24. JARAMILLO, C.; OLIVA, M.; FERREIRA, R. 2009. Respuesta fotosintética de diferentes ecotipo de fríjol a la radiación y la salinidad. Corpoica. Cienc. Tecnol. Agropec. 10(2):129-140.
25. KAYMAKANOVA, M.; STOEVA, N.; MINCHEVA, T. 2008. Salinity and its effects on the physiological response of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Central Eur. Agric. 9(4):749-756.
26. KUMAR, D. 1991. Salt-tolerance of some induced mutants of HD 2009 wheat. Indian J. Agr. Sci. 51(7):475-479.
27. LIZANA, C.; WENTWORTH, M.; MARTÍNEZ, J.; VILLEGAS, D.; MENESES, R.; MURCHIE, E.; PASTENES, C.; LECARI, B.; VERNIERI, P.; HORTON, P.; PINTO, M. 2006. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress I. Effect of drought on yield and photosynthesis. J. Exp. Bot. 56: 699-709.

28. MAAS, E. 1990. Crop salt tolerance. In: Tanjii, K. (ed.) Agricultural salinity assessment and management manual. ASCE. New York. p.262-304.
29. MANO, Y.; TAKEDA, K. 2001. Genetic resources of salt-tolerance at germination and the seedling stage in wheat. Jap. J. Crop Sci. 70(2):215-220.
30. McCUE, K.; HANSON, A. 1990. Drought and salt tolerance, towards understanding and application. Trends Biotechnol. 8: 358-362.
31. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL –MAVDT-. 2004. Plan de acción nacional de lucha contra la desertificación y la sequía en Colombia. MADVT, Bogotá. 33p.
32. RÍOS, M.; QUIRÓS, J. 2002. El frijol su cultivo, beneficio y variedades, edit. Produmedios, Bogotá, D.C, Primera Edición. 193p.
33. SÚDHIR, P.; MURTHY, S. 2004. Effects of salt on basic process of photosynthesis. Photosynthetica. 42(4):481-486.
34. TABATABAEI, S.J. 2006. Effects of salinity and N on the growth, photosynthesis and N status of olive (*Olea europaea* L.) trees. Scientia Horticulturae. 108(4):432-438.
35. VELÁZQUEZ M., M.A; ORTEGA E., M.; MARTÍNEZ G., A.; KOHASHI S., J.; GARCÍA C., N. 2002. Relación funcional PSI-RAS en las aguas residuales y suelos del Valle de Mezquital, Hidalgo. México. Terra Latinoam. 20:459-464.
36. VISWANATHAN, C.; ZHU, J. 2003. Plant salt tolerance. En: Hirt, H.; Schinozaki, K. (eds). Plant responses to abiotic stress. Topics in current genetics. Berlin: Springer-Verlag. p.241-270.
37. ZÚÑIGA, O.; OSORIO, J.; CUERO, R.; PEÑA, J. 2011. Evaluación de tecnologías para la recuperación de suelos degradados por salinidad. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 64(1):5769-5779.

Recibido: Enero 12 de 2016

Aceptado: Mayo 23 de 2016

Cómo citar:

Quintana-Blanco, W.A.; Pinzón-Sandoval, E.H.; Torres, D.F. 2016. Evaluación del crecimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Cv ICA Cerinza, bajo estrés salino. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 87-95.

CUANTIFICACIÓN VOLTAMÉTRICA DE PLOMO Y CADMIO EN PAPA FRESCA

VOLTAMMETRIC QUANTIFICATION OF LEAD AND CADMIUM IN FRESH POTATO

Yuri Lorena Moreno Mariño¹, José Mauricio García Colmenares², Sandra Patricia Chaparro Acuña³

¹ Químico de Alimentos, Estudiante M.Sc. en Química, Facultad de Ciencias. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Avenida Central del Norte 39-115, Tunja-Boyacá, Colombia, e-mail: yuri.moreno@uptc.edu.co; ² Químico de Alimentos, Investigador Grupo de Investigación en Química Ambiental, Facultad de Ciencias. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, e-mail: josemauricio.garcia@uptc.edu.co; ³ Químico de Alimentos, Especialista y Magister en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Profesor Asistente, Escuela de Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Grupo de Investigación en Química Ambiental, e-mail: patricia.chaparro@uptc.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 97-104, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

La presencia de metales pesados en alimentos ha sido reportada como uno de los problemas de alto impacto, debido a su toxicidad y afecciones en la salud humana. El método voltametría de onda cuadrada (VOC) fue validado para la cuantificación de cadmio y de plomo en tubérculos de papa fresca. Este estudio, se realizó usando: como buffer, solución Britton-Robinson (B-R, pH 4,8); carbono vítreo, como electrodo de trabajo; Ag/AgCl, como electrodo de referencia y platino, como electrodo auxiliar. La aplicación de la técnica VOC fue realizada en tubérculos recolectados en la central de abastos de Tunja-Boyacá, Colombia. El análisis de varianza de la validación no presentó diferencia estadística; el análisis fue realizado con un nivel de confiabilidad de 94,5%, para cadmio y 92,0%, para plomo. La concentración de estos metales en las muestras analizadas estuvieron entre un rango de 0,111 a 0,304ppm, que sobrepasa los límites máximos establecidos por las normas nacionales e internacionales, vigentes para papa de consumo humano.

Palabras clave: Electroquímica, electrodo de carbono vítreo, metales pesados, tubérculo.

SUMMARY

The presence of heavy metals in food has been reported as one of the high impact problems due to their toxicity and human health problems. The square wave voltammetry method (VOC) was validated for quantification of cadmium and lead in potato. This study was conducted using as buffer solution Britton-Robinson (BR, pH 4.8), glassy carbon as working electrode, Ag / AgCl as reference electrode and

platinum as counter electrode. The application of VOC technique was performed in tubers from the central supply of Tunja (Boyacá-Colombia). The analysis of variance showed no statistical difference validation, analysis was performed with a confidence level of 94.5% to 92.0% for cadmium and lead. The concentration of these metals in the samples analyzed were within the range of 0.111 to 0.304ppm exceeding the limits set by national and international standards for tubers of human consumption.

Key words: Electrochemistry, glassy carbon electrode, heavy metals, tuber.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la producción nacional de papa se ha incrementado en un 3,4%, paralelo a su nivel de rendimiento agronómico, situación de la cadena productiva, donde el departamento de Boyacá se ubica en un segundo lugar en Colombia (Barrientos *et al.* 2014; IICA, 1999). Tales logros, involucran prácticas agrícolas con amplio uso de agroquímicos y, en algunos casos, descontrolada dosificación. Las aplicaciones sucesivas de productos agrícolas que contienen impurezas de metales pesados, como zinc, manganeso, plomo y cadmio y la exposición por parte de suelos y ambientes agrícolas a contaminantes provenientes de la explotación y la refinación de metales, conllevan a la formación de depósitos y de residuos, en los alimentos cosechados en las zonas expuestas a los desequilibrios ambientales, involucrados en estas acciones (Huang *et al.* 2014; Gebrekidan *et al.* 2013). Alimentos agrícolas, como el tomate, la papa, la espinaca y la lechuga son reconocidos bioindicadores ambientales, debido a su capacidad de retención e incorporación de com-

puestos durante su crecimiento, reflejando la presencia de los mismos, por alteraciones fenotípicas (Kabata, 2000).

Los metales pesados son sustancias no degradables, por tanto, se consideran contaminantes estables y persistentes, al ser depositados al medio ambiente. Esto ocasiona alteraciones en los diferentes ecosistemas, llegando a reducir la calidad de vida de los seres vivos (Madero & Marrugo, 2011). Los metales, como plomo (Pb) y cadmio (Cd) deben su toxicidad a la fuerte afinidad de sus cationes hacia el átomo de azufre y, por ende, hacia los grupos sulfhidrilo (-SH), los cuales, están presentes, comúnmente, en las enzimas que participan en las reacciones metabólicas de los organismos acuáticos y terrestres. Los metales pesados pueden entrar en el cuerpo humano, a través de la cadena alimenticia, llevando a un incremento de enfermedades crónicas, como deformidades y cáncer (Chang *et al.* 2014). Se ha demostrado que el consumo de frutas y de vegetales es el primer paso de la exposición del hombre a los metales pesados, por lo que es de vital importancia evaluar el contenido de estos elementos en los alimentos, como la papa. El plomo, en el organismo humano, puede causar lesiones al sistema urinario, nervioso, reproductor, inmunológico (Yucra *et al.* 2008), cardiovascular y gastrointestinal (FAO, 2004). El *Codex Alimentarius* (FAO, 2014) reporta un límite máximo para plomo y cadmio de 0,1mg/kg, en tubérculo y la Unión Europea, para la papa pelada, un límite de a 0,1mg/kg, peso fresco de plomo y de cadmio (Unión Europea, 2014). El *Codex Alimentarius* estableció una Ingesta Mensual Tolerable Provisional de 25µg/kg de peso corporal para cada uno de estos elementos y destaca que el plomo está asociado con una disminución de al menos tres puntos del cociente de inteligencia, en los niños y un aumento en la presión arterial, en los adultos. En Colombia, el Ministerio de Salud y Protección Social (2013), en la Resolución 4506 de 2013, estableció un límite máximo para plomo y para cadmio de 0,1mg/kg peso fresco en papa pelada.

Los métodos típicos para el análisis simultáneo de metales son la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo- (ICP-MS), espectrometría de fluorescencia de rayos X y espectrometría de absorción atómica (Behrooz *et al.* 2009; Klamtet *et al.* 2007; Isha *et al.* 2007); sin embargo, el análisis implica instrumentos sofisticados y mantenimiento e insumos de alto costo. Por el contrario, el método electroquímico es una de las técnicas más favorables para la determinación de contaminantes del medio ambiente, ya que es un ensayo no destructivo, de fácil operatividad y puede alcanzar una mayor sensibilidad (Rosolina *et al.* 2015; Guzinski *et al.* 2013; Segura, 2003; Jakumnee *et al.* 2001). Entre los diferentes métodos electroquímicos, la voltametría de onda cuadrada (VOC) ha demostrado ser un método sencillo y eficaz para la determinación de iones de metales pesados (Mhammedi *et al.* 2010).

En el presente estudio, se validaron los métodos voltamétricos para la determinación de plomo y de cadmio en papa cruda, recolectada en la central de abastos del sur de Tunja, permitiendo el diagnóstico del grado de inocuidad, según la Unión Europea y el *Codex Alimentarius* del producto, ofrecido en este principal espacio de acopio regional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos: Todos los reactivos usados fueron de grado analítico: hidróxido de sodio Panreac, 99% de pureza; ácido acético JT Baker, 99,8%; ácido bórico JT Baker, 99%; ácido fosfórico Panreac, 85% de pureza; nitrato de plomo JT Baker, 99% de pureza; nitrato de cadmio Panreac, 99% de pureza; ácido nítrico Panreac, 65% de pureza; cloruro de sodio, 99%; JT Baker, 99% de pureza y soluciones patrón de 1000ppm de cadmio y plomo JT Baker, 99% de pureza. Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada Sistema Milli-Di™ y Simplicity con conductividad menor a 0,05uS.

Equipos: Se verificaron las condiciones óptimas de funcionamiento y de calibración de los equipos, necesarios para la validación del método, dentro de los que se encuentran polarógrafo BAS CV 50W, equipado con un analizador voltamperométrico; electrodo de trabajo de carbón vítreo BASI MF-2070; electrodo de referencia Ag/AgCl BASI MF-2052 y un electrodo auxiliar de platino BASI MW-1032; balanza analítica Aventure Ohaus y pH-metro Sartorius Scohott CG842. La comparación de resultados de voltametría de onda cuadrada frente al método espectrofotométrico por absorción atómica, se realizó en espectrofotómetro de llama de acetileno-aire (Marca Shimadzu), con previa digestión húmeda de la muestra, según método SM 3111B y SM 3030E.

Soluciones de trabajo: A partir de soluciones stock de plomo y de cadmio (JT Baker, 99% de pureza y Panreac, 99% de pureza), se prepararon dos soluciones estándar 100ppm y 1ppm.

Electrolito de soporte (buffer Britton Robinson): Se adicionó a un balón de 100mL, 0,618g de ácido bórico, 0,56mL de ácido acético y 0,48mL de ácido orto fosfórico, se ajustó a pH 5, con NaOH 0,1N y se aforó con agua desionizada.

Parámetros voltamétricos: Se optimizaron las condiciones del análisis voltamétrico, tales como tiempo de desoxigenación, tiempo de quietud, rango de trabajo, sensibilidad, amplitud de onda y frecuencia de onda, mediante análisis por triplicado.

Respuesta señal del sistema electroquímico: Se realizó verificación del blanco, seleccionado agua desionizada y buffer relación de volumen 1:1, mediante barrido exploratorio, en un rango de -800 a -200mV por voltametría cíclica; el vol-

tagrama del blanco no presentó señal que pueda interferir en la identificación de los analitos e indica que el medio de análisis favoreció las condiciones de reversibilidad para las reacciones de reducción, sobre el electrodo de trabajo. Con el rango de potencial seleccionado, se analizó un blanco (Figura 1a) y un estándar de cadmio y de plomo para confirmar el potencial de onda media de los analitos; los metales presentaron señales de reducción de -584 y -395mV, respectivamente (Figura 1b), cercanos a los reportados por Rosolina *et al.* (2015); Rutyna & Korolczuk (2014) y AOAC (1990).

Optimización de condiciones instrumentales: Los parámetros optimizados, se seleccionaron con base en la obtención de una alta señal instrumental y una onda limpia; se registró con $10\mu\text{A/V}$ de sensibilidad, 20mV de amplitud de la onda, 15Hz frecuencia, -800mV a -200 mV de un rango de potencial. Las demás condiciones instrumentales fueron 5min de desoxigenación y 5seg de tiempo de quietud.

Validación de la técnica voltamétrica: Se llevó a cabo la linealidad del método (de 0,05 a 3,000mg/L) y se determinaron

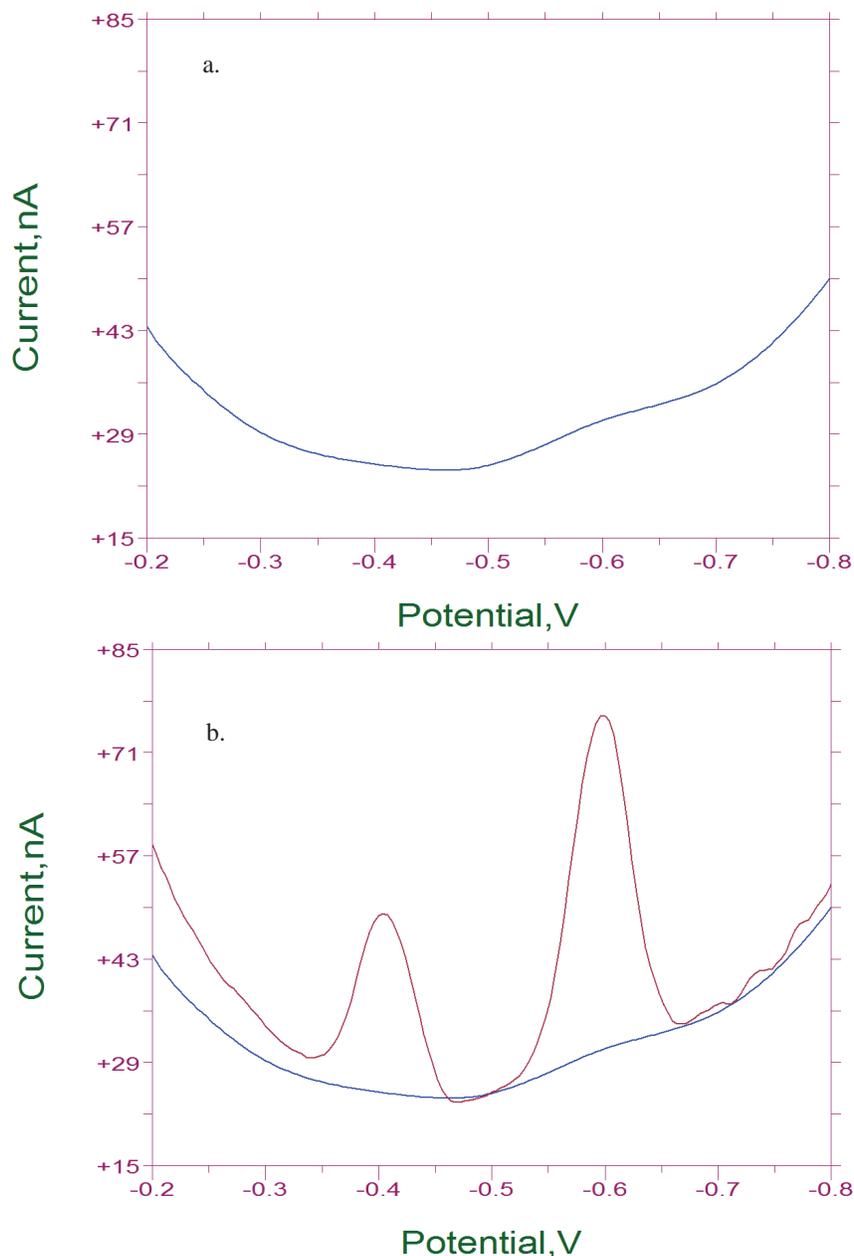


Figura 1. Voltagramas obtenidos en la técnica VOC. a) Blanco analítico y b) Estándar de plomo y de cadmio.

los principales atributos de validación, como límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC), precisión (desviación estándar y coeficiente de variación CV), exactitud (porcentaje de recuperación), rango útil, sensibilidad e incertidumbre (Eurachem, 2005). Para la validación, se evaluaron seis lotes de soluciones, compuestas por un blanco, un estándar alto (2,7mg/L), un estándar bajo (0,5mg/L), dos muestras naturales (papa) y una muestra fortificada con un estándar alto y bajo (2,7mg/L y 0,5mg/L), llevando a cabo el estudio dos analistas.

Muestreo y pretratamiento de la muestra: Se tomaron 4 muestras mensuales, una cada semana, en la jornada de mayor comercialización de papa (los viernes), principalmente, de las variedades Diacol Capiro, Ica Única, Betina y Pastusa Suprema, en la central de abastos de Tunja, durante siete meses (marzo a septiembre de 2014). La papa, se recolectó al azar en los diferentes expendios hasta lograr una muestra representativa de 5 kg y en el laboratorio, se tomó una porción aleatoria de 1kg, para ser analizada. El material fresco, se cortó en rodajas, se deshidrató a 105°C por 6h, en la estufa marca MLW; el residuo ($\pm 200g$), se calcinó a 500°C por 6h, en la mufla marca Termo Scientific y, finalmente, se sometió a un proceso de digestión, con 2mL de ácido nítrico concentrado, hasta la obtención de cenizas blancas, que se diluyeron en el mismo reactivo, hasta un volumen final de 50mL (AOAC, 1990).

Cuantificación de plomo y cadmio en las muestras: Se llevó a cabo por el método de adición estándar. Se trasladó a la celda electroquímica una mezcla de 3mL de muestra y 4mL de la solución electrolítica y posterior adición de 70 μ L de solución estándar de 1ppm de cadmio y de plomo.

Diseño experimental: La validación, se evaluó a través de un diseño factorial completamente al azar 2^6 ; las muestras, se analizaron al azar por triplicado; en total, 64 ensayos, con dos analistas. Las diferencias estadísticas, se determinaron mediante un análisis de varianza, utilizando el software estadístico SPSS 18 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Curva de calibración: La curva, se construyó en un rango de concentración de 0,005 a 3,000mg/L para ambos analitos (Figura 2), obteniendo coeficientes de correlación de 0,9967 y 0,9943, para plomo y para cadmio, respectivamente. Los anteriores resultados evidencian que existe una relación lineal alta entre la intensidad de corriente y la concentración de los analitos e, indica, que el método puede ser empleado en la cuantificación de estos metales. El valor del coeficiente de correlación está dentro de los criterios de aceptación de la guía de validación de Ministerio de Salud (2011).

Atributos del método: Los atributos del método de cuantificación de plomo y de cadmio por voltametría de onda cuadrada, se presentan en la tabla 1, encontrándose que el método posee mayor sensibilidad para la cuantificación de plomo; en contraste, la exactitud y la precisión son próximas a los criterios de aceptación de la guía de validación de Ministerio de Salud (2011). El cadmio muestra una mayor exactitud en un rango de concentración alto (113%), mientras que el plomo, en un rango bajo (115%); sin embargo, este parámetro en los dos métodos validados está por encima del 80% y la precisión es alta (CV menor del 5%). Los límites de detección y de cuantificación están dentro de los resultados obtenidos en otras investigaciones (Wang *et al.* 2016; Yavuz *et al.* 2016; Wang *et al.* 2015).

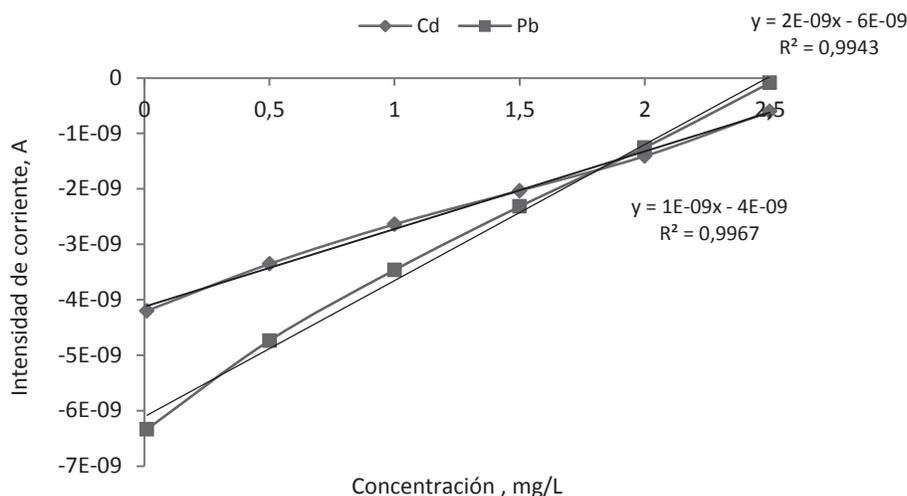


Figura 2. Curva de calibración de plomo y de cadmio.

En cuanto a la reproducibilidad de la señal instrumental de las muestras fortificadas, se determinó que las intensidades de corriente de la muestra enriquecida con estándar en los seis ensayos realizados por los dos analistas, no presentaron variaciones estadísticas, de acuerdo al análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo del paquete estadístico. Las contramuestras analizadas, mediante espectrofotometría de absorción atómica, no presentaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$), en el contenido de plomo y de cadmio. La concentración de Pb de $0,0220 \pm 0,0011 \mu\text{g/g}$ obtenida por voltametría es próxima a la obtenida por AAS, que fue de $0,0154 \pm 0,0841 \mu\text{g/g}$. La concentración de Cd hallada por voltametría es de $0,0064 \pm 0,0009 \mu\text{g/g}$, mientras que el obtenido por AAS fue de $0,0010 \pm 0,0841 \mu\text{g/g}$.

Cuantificación de las muestras: La central de abastos del sur de Tunja es el lugar de acopio intermedio de productos agrícolas provenientes del departamento (principalmente,

de la provincia Centro) y cuyo destino final es la capital del país y la comercialización a minoristas y mayoristas (Municipio de Tunja, 2012). Los municipios que pertenecen a esta provincia representan el 57% de la producción de papa del departamento, equivalente a 375.612t/año, con capacidad de abastecimiento permanente de este alimento de alto consumo en la capital del departamento y en el país (Fedepapa, 2014). Este estudio exploratorio permitió verificar la presencia de plomo y de cadmio en el tubérculo fresco con cáscara, comercializado en Tunja y obtenido de diversos municipios, como Boyacá-Boyacá, Siachoque, Ráquira, Toca, Samacá, Chivatá, Ciénega, Ventaquemada, Ramiriquí y Oicatá, principalmente. No se tuvo en cuenta ni variedad, ni zona de cosecha.

Los resultados muestran (Figura 3) que el contenido promedio de plomo y de cadmio oscila entre 0,085 a 0,150 y 0,210 a 0,440mg/kg papa fresca, respectivamente. El Pb es

Tabla 1. Atributos analíticos del método de validación para Cd y Pb.

Atributo	Cadmio	Plomo
Límite de detección, mg/kg	0,004	0,005
Límite de cuantificación, mg/kg	0,05	0,01
Sensibilidad, nA/mg/kg	2,0xE-9	1,0xE-9
Exactitud rango alto	112,6%	81,5%
Exactitud rango bajo	82,4%	115,2%
Precisión (coeficiente de variación)	4,6%	3,5%
Incertidumbre (mg/kg)	$\pm 0,005$	$\pm 0,008$
Nivel de confianza	94,5%	92,0%

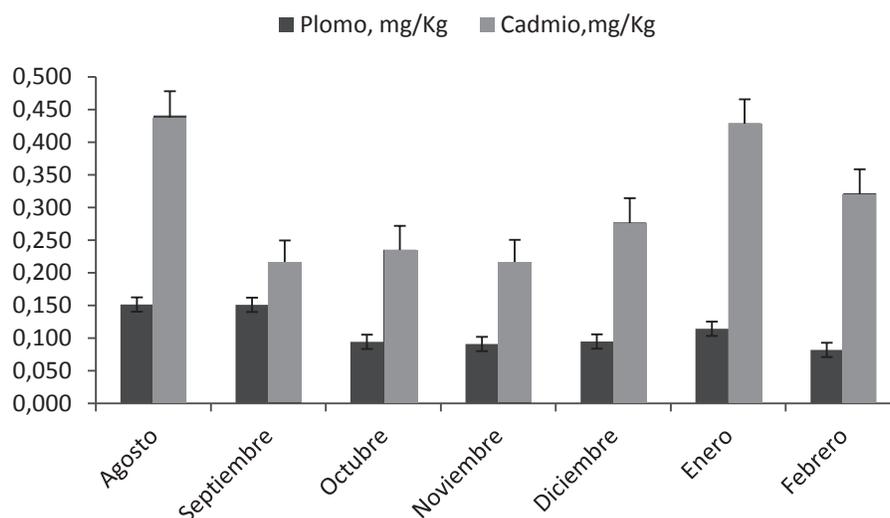


Figura 3. Presencia de cadmio y de plomo en papa fresca, comercializada en la central de abastos del sur de Tunja.

ligeramente superior al máximo permisible, establecido por el *Codex Alimentarius* y la Unión Europea, que corresponde a 0,1mg/kg papa fresca con cáscara (Unión Europea, 2014), pero el cadmio sobrepasa estos niveles. Kabata (2000) reporta un contenido de plomo de 0,5 a 3,0mg/kg peso seco y de cadmio de 0,041 a 1,05mg/kg peso seco en papa. Hortalizas, como lechuga, apio, repollo y brócoli, regadas con aguas del río Bogotá, mostraron niveles altos de cadmio y de plomo y, en algunos casos, superando el límite máximo de la norma de la Unión Europea (Miranda *et al.* 2008). En Cuba, hortalizas cultivadas en una zona altamente urbanizada de la ciudad de la Habana mostraron concentraciones que sobrepasaron los límites permitidos (Olivares *et al.* 2013).

El análisis estadístico demostró que no hay diferencia estadística entre el contenido de plomo hallado en la papa durante los siete meses del estudio, caso contrario es el cadmio, en el que el F calculado (65535) fue mayor que el F crítico (2,84). En general, se puede observar que los metales, durante octubre y noviembre, los contenidos están más bajos, mientras que en agosto y enero –para cadmio- y agosto y septiembre –para plomo-, se detectan los valores más altos, lo que puede indicar que en los meses de sequía hay una mayor absorción de metales en los tubérculos.

Teniendo en cuenta que la papa puede ser un bio-acumulador de los excesos de las sustancias presentes en los ecosistemas agrícolas, los resultados presentados pueden indicar la contaminación de suelos o condiciones de pH favorables para el intercambio de estos minerales (Gebrekidan *et al.* 2013; Martin *et al.* 2006). Como fue un estudio exploratorio y aleatorio no se puede demostrar específicamente de dónde provienen estos metales, pero, en forma general, la contaminación del suelo por metales pesados es a menudo consecuencia directa o indirecta de las actividades antropogénicas (Paiva *et al.* 2009; Gratão *et al.* 2005; FAO, 2004). En el caso del plomo, incluye los residuos urbanos e industriales, la minería, las industrias metalúrgicas y la polución del aire, debido a la combustión de la gasolina, que contiene aditivos de plomo y por los depósitos de estas partículas del aire en el suelo (Freije, 2015; Demir *et al.* 2010); en cuanto al cadmio, las fuentes relevantes de este elemento son las actividades industriales, como minería, la fundición de metales no férricos, la producción de compuestos de cadmio, la industria manufacturera de baterías y la galvanoplastia (Kuriakose & Prasad, 2008). Además, las principales fuentes de emisiones de cadmio en el aire son la combustión de combustibles fósiles, producción de hierro y de acero e incineración de residuos sólidos municipales (Jones *et al.* 1993). Aunque el centro de Boyacá es una región agrícola por excelencia, no se puede negar el impacto de las fuentes de estos metales, nombradas anteriormente, pero las principales causas parecen ser los pesticidas, los fertilizantes químicos y el riego con aguas residuales. Hasta la década de los 50, las plagas

de los diferentes cultivos eran controladas con arseniato de plomo, un plaguicida de amplio espectro, que fue reemplazado por otros insecticidas, como los organofosforados, que son más amables con el medio ambiente, pero que pudieron haber dejado residuos de este metal pesado en el suelo (FAO, 2004). Por otro lado, los fertilizantes fosfatados son otra fuente de metales pesados en la agricultura, pues contienen 25 y 10mg/kg de cadmio y de plomo, respectivamente (FAO, 2004; Mortvedt & Beaton, 1995; Van Assch & Ciarletta, 1992) y el Cd tiene una alta capacidad para transferirse del suelo a los vegetales (Chang *et al.* 2014). También, se debe tener en cuenta que, factores como el pH del suelo, el contenido de materia orgánica y el proceso de intercambio iónico, influyen en la disponibilidad y en la transferencia de estos metales. Se recomienda llevar a cabo un estudio más profundo y focalizado, donde se manejen otras variables, como variedad de papa, lugar de cosecha y estación climática. Además, que se tengan en cuenta si el suelo o el agua utilizados en el cultivo presentan metales pesados.

El método de voltimetría de onda cuadrada fue válido para la cuantificación de cadmio y de plomo, en uno de los productos básicos de la alimentación de la región cundiboyacense. La papa recolectada en la central de abastos de Tunja presenta cantidades de cadmio y de plomo superiores a los límites permisibles, dados por el *Codex Alimentarius* y la Unión Europea. Es apropiada la realización de estudios más detallados para la detección de la fuente de los altos contenidos de estos analitos.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Dirección de Investigaciones de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, por la financiación al proyecto titulado “Determinación de Plomo (II) por Polarografía presente en papa comercializada en la Central de Abastos del Sur de Tunja” SGI 1331. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC-.1990. Official Methods of Analysis. 15 Ed. Cap. 9. p.237-250.
2. BARRIENTOS, J.C.; RONDÓN, C.; MELO, S. 2014. Comportamiento de precios de las variedades de papa Parida Pastusa y Diacol Capiro en Colombia (1995-2011). Rev. Col. Cien. Hort. 8(2):272-286.
3. BEHROOZ, J.; NAFICEH, S.; MOHAMMAD, R.O.; ABDOL-AZIM, B.; HOSSEIN, K.; ALIREZA, S. 2009. Simultaneous determination of lead, cadmium, cop-

- per and zinc in infant formula by anodic stripping voltammetry: Iran. J. Pharm. Res. 8(3):159-162.
4. CHANG, C.Y.; YU, H.Y.; CHEN, J.J.; ZHANG, H.H.; LIU, C.P. 2014. Accumulation of heavy metals in leaf vegetables from agricultural soils and associated potential health risks in the Pearl River Delta, South China. *Environ. Monit. Assess.* 186(3):1547-1560.
 5. DEMIR, G.; YIGIT, S.; OZDEMIR, H.; BORUC, G.; SARAL, A. 2010. Elemental concentrations of atmospheric aerosols and the soil samples on the selected playgrounds in Istanbul. *J. Residual Sci. Tech.* 7(2):123-130.
 6. EURACHEM. 2005. *Métodos analíticos adecuados a su propósito*. Segunda Edición. México. p.7-14.
 7. FAO. 2014. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias Comisión del *Codex Alimentarius* 37. Período de sesiones 14-18 de julio de 2014. Ginebra (Suiza).
 8. FAO. 2004. Código de prácticas para la prevención y reducción de la presencia de plomo en los Alimentos CAC/RCP 56-2004. Comisión del *Codex Alimentarius*. Disponible desde Internet en: http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/10099/CXP_056s.pdf (con acceso 04/12/2015).
 9. FEDEPAPA. 2014. Cultivo de la papa. Disponible desde Internet en: http://www.fedepapa.com/?page_id=401 (con acceso 14/02/2015).
 10. FREIJE, A.M. 2015. Heavy metal, trace element and petroleum hydrocarbon pollution in the Arabian Gulf: Review. *J. Assoc. Arab. Univ. Bas. Appl. Sci.* 17:90-100.
 11. GEBREKIDAN, A.; WELDEGEBRIEL, Y.; HADERA, A.; BRUGGEN, B. V. 2013. Toxicological assessment of heavy metals accumulated in vegetables and fruits grown in Ginfel river near Sheba Tannery, Tigray, Northern Ethiopia. *Ecotox. Environ. Safe.* 95:171-178.
 12. GRATÃO, P.L.; POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. 2005. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. *Funct. Plant Biol.* 32:481-494.
 13. GUZINSKI, M.; LISAK, G.; KUPIS, J.; JASINSKI, A.; BOCHENSKA, M. 2013. Lead (II)-selective ionophores for ion-selective electrodes: A review. *Anal. Chim. Acta.* 791:1-12.
 14. HUANG, Z.; PAN, X.D.; WU, P.G.; HAN, J.L.; CHEN, Q. 2014. Heavy metals in vegetables and the health risk to population in Zhejiang, China. *Food Control.* 36:248-252.
 15. INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA –IICA-. 1999. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. IICA. Acuerdo de competitividad cadena agroalimentaria de la papa. Disponible desde Internet en: http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/jspui/bitstream/11348/5559/1/20051130134357_acuerdopapa%201999%20si.pdf (con acceso 5/12/2014).
 16. ISHA, A.; YUSOF, N.A.; ABDUL MALIK, M.; HAMDAN, H. 2007. Simultaneous spectrophotometric determination of Pb(II) and Cd(II) using artificial neural networks. *J. Phys. Sci.* 18:1-10.
 17. JAKUMNEE, J.; SUTEERAPATARANON, S.; VANEESORN, Y.; GRUDPAN, K. 2001. Determination of cadmium, copper, lead and zinc by flow voltammetric analysis. *J. Anal. Sci. Suplem.* 17:399-401.
 18. JONES, R.; LAPP, T.; WALLACE, D. 1993. Locating and estimating air emissions from sources of cadmium and cadmium compounds. Prepared by Midwest Research Institute for the U.S. Environmental Protection Agency, Office of Air and Radiation, Report. EPA:453/R: 93-040.
 19. KABATA, A. 2000. Trace elements in soil and plants. Third Edition. CRC Press. Boca Ratón, USA. 413p.
 20. KLAMTET, J.; SANGUTHAI, S.; SRIPRANG, S. 2007. Determination of lead in aqueous samples using a flow injection analysis system with on-line preconcentration and spectrophotometric detection: *NÚ. Science J.* 4:122-131.
 21. KURIAKOSE, S.V.; PRASAD, M.N.V. 2008. Cadmium as an environmental contaminant: Consequences to plant and human health. En: Prasad, M.N.V. (ed.) Trace elements as contaminants and nutrients: Consequences in ecosystems and human health. John Wiley & Sons, Inc. p.373-412.
 22. MADERO, A.; MARRUGO, J. 2011. Detección de metales pesados en bovinos, en los valles de los ríos Sinú y San Jorge, departamento de Córdoba, Colombia. *Rev. MVZ.* 16:2391-2401.
 23. MARTIN, D.; VOLLENWEIDER, P.; BUTTLER, A.; GÜNTHARDT-GOER, M.S. 2006. Bioindication of heavy metal contamination in vegetable gardens. *For. Snow Landsc. Res.* 80:169-180.
 24. MHAMMEDI, M.A.; ACHAK, M.; BAKASSE, M. 2010. Square wave voltammetry for analytical determination of cadmium in natural water using $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

- modified platinum electrode. *Amer. J. Anal. Chem.* 1(3):150-158.
25. MINISTERIO DE SALUD. 2011. Guía de validación de métodos analíticos. Disponible desde Internet en: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/tramites-ms/registro-de-productos-de-interes-sanitario/medicamentos-1/documentos-de-interes-3/guias-de-registro-medicamentos/2472-guia-de-validacion-de-metodos-analiticos/file> (con acceso 15/12/2014).
26. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. 2013. Resolución 4506 de 2013. p.6,7.
27. MIRANDA, D.; CARRANZA, C.; ROJAS, C.A.; JEREZ, C.M.; FISCHER, G.; ZURITA, J. 2008. Acumulación de metales pesados en el suelo y plantas de cuatro cultivos hortícolas, regados con aguas del río Bogotá. *Rev. Col. Cienc. Hort.* 2(2):180-191.
28. MORTVEDT, J.J.; BEATON, J.D. 1995. Heavy metal and radionuclide contaminants in phosphate fertilizers. In: Tiessen H, (ed.). *Phosphorus in the global environment: transfer, cycles and management*. New York: Wiley. p.93-106.
29. MUNICIPIO DE TUNJA. 2012-2015. Plan de Desarrollo "Hechos de Verdad". Tunja, Boyacá. Colombia.
30. OLIVARES, S.; GARCÍA, D.; LIMA, L.; SABORIT, I.; LLIZO, A.; PÉREZ, P. 2013. Niveles de cadmio, plomo, cobre y zinc en hortalizas cultivadas en una zona altamente urbanizada de la ciudad de la Habana Cuba. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 29(4):285-294.
31. PAIVA, L.B.; OLIVEIRA, J.G.; AZEVEDO, R.A.; RIBEIRO, D.R.; SILVA, M.G.; VITÓRIA, A.P. 2009. Ecophysiological responses of water hyacinth exposed to Cr^{3+} and Cr^{6+} . *Environ. Exp. Bot.* 65:403-409.
32. ROSOLINA, S.M.; CHAMBERS, J.Q.; LEE, C.W.; XUE, Z.L. 2015. Direct determination of cadmium and lead in pharmaceutical ingredients using anodic stripping voltammetry in aqueous and DMSO/water solutions. *Anal. Chim. Acta.* 893:25-33.
33. RUTYNA, I.; KOROLCZUK, M. 2014. Determination of lead and cadmium by anodic stripping voltammetry and bismuth film electrodes following double deposition and stripping steps. *Sensor Acuat B: Chem.* 204:136-141.
34. SEGURA, J.M. 2003. Polarografía moderna una herramienta indispensable en el análisis de contaminantes a niveles de e-trazas y ultra trazas. *Química e Industria.* 541:18-28.
35. UNIÓN EUROPEA. 2014. Contenidos máximos de metales pesados en productos alimenticios. Disponible desde Internet en: <http://plaguicidas.comercio.es/MetalPesa.pdf> (con acceso 15/01/2014).
36. VANASSCH, F.J.; CIARLETTA, E.P. 1992. Cadmium in the environment: Levels, trends and critical pathways. In: Edited Proceedings Seventh International Cadmium Conference-New Orleans, Cadmium Association, London, Cadmium Council, Reston VA, International Lead Zinc Research Organization, Research Triangle Park, NC.
37. WANG, Y.; CHEN, H.; TANG, J., YE, G.; GE, H.; HU, X. 2015. Preparation of magnetic metal organic frameworks adsorbent modified with mercapto groups for the extraction and analysis of lead in food samples by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 181:191-197.
38. WANG, Y.; HAN, J.; LIU, Y.; WANG, L.; NI, L.; TANG, X. 2016. Recyclable non-ligand dual cloud point extraction method for determination of lead in food samples. *Food Chem.* 190:1130-1136.
39. YAVUZ, E.; TOKALIOGLU, S.; SAHAN, H.; PATAT, S. 2016. Nanosized spongelike Mn_3O_4 as an adsorbent for preconcentration by vortex assisted solid phase extraction of copper and lead in various food and herb samples. *Food Chem.* 194:463-469.
40. YÚCRA, S.; GASCO, M.; RUBIO, J.; GONZÁLES, G. 2008. Exposición ocupacional a plomo y pesticidas organofosforados: efectos sobre la salud reproductiva masculina. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública.* 25(4):394-402.

Recibido: Octubre 21 de 2015

Aceptado: Abril 29 de 2016

Cómo citar:

Moreno Mariño, Y.L.; García Colmenares, J.M.; Chaparro Acuña, S.P. 2016. Cuantificación voltamétrica de plomo y cadmio en papa fresca. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 97-104.

CARACTERIZACIÓN DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE CAFÉ EN NARIÑO, COLOMBIA

CHARACTERIZATION OF COFFEE PRODUCTION SYSTEMS IN NARIÑO, COLOMBIA

Hernando Criollo Escobar¹, Tulio César Lagos Burbano², Tito Bacca Ibarra³, Johanna Alixa Muñoz Belalcazar⁴

¹ Ing. Agrónomo, Ph.D., profesor asociado, fisiología vegetal. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Grupo de investigación en producción de frutales andinos, Torobajo, Pasto-Nariño, Colombia, e-mail: hcriollo@udenar.edu.co; ² Ing. Agrónomo, Ph.D., profesor titular, mejoramiento genético. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Grupo de investigación en producción de frutales andinos, Torobajo, Pasto-Nariño, Colombia, e-mail: tclagosb@udenar.edu.co; ³ Ing. Agrónomo, Ph.D., profesor titular, entomología. Universidad del Tolima, Sede Santa Helena Parte Alta, Ibagué-Tolima, Colombia, e-mail: titobacca@ut.edu.co; ⁴ Ing. Agrónomo, M.Sc. Grupo de investigación en producción de frutales andinos, Torobajo, Pasto-Nariño, Colombia, e-mail: mjohannaalixa@yahoo.es

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 105-113, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

El objetivo fue caracterizar los sistemas productivos de café en los ecotopos 220A y 221A, de acuerdo con la clasificación establecida por la Federación Nacional de Cafeteros localizados en el departamento de Nariño. En cada uno de estos ecotopos, se estudiaron los sistemas productivos de café, localizados a menos de 1500msnm, entre 1501 y 1800msnm y por encima de 1800msnm. Se utilizaron variables categorizadas relacionadas con el sistema productivo de café, tomadas de 159 encuestas a productores, identificados aleatoriamente, desde un marco muestral de 16.767 unidades productivas cafeteras. Estas variables, se sometieron a los análisis multivariados de correspondencias múltiples y análisis de clasificación jerárquica. El ecotopo 220A, se caracterizó por poseer buenas vías de acceso, cultivos de café con edades menores a seis años, con áreas de una a tres hectáreas. Los cultivos de café de este ecotopo están asociados con árboles de naranja y guamos. El Ecotopo 221A tiene buenas vías de acceso, los cafetales están asociadas con frutales, principalmente, con plátano y con banano; igualmente, se observó que el 9,2% de los cultivos se plantan sin sombrío. La fertilización y el control de plagas son eminentemente químicos. En ambos ecotopos, la mayoría de los productores fertilizan sin realizar previamente análisis de suelo, predominan los cultivos asociados sin un ordenamiento aparente, que permita manejar adecuadamente los niveles de sombrío.

Palabras clave: *Coffea arabica* L., sombra permanente, análisis multivariado, ecotopo.

SUMMARY

The aim of this research was to characterize the coffee production systems in ecotopes 220A and 221A, classification established by the National Coffee Growers Federation, in the department of Nariño. In each of these ecotopes the coffee production systems located at less than 1500 meters above sea level, between 1501 and 1800m and above 1800m were studied. Variables related to the productions system were evaluated through surveys of 159 growers, taken randomly from a sampling frame of 16767 coffee production units. These variables were subjected to multiple correspondence analysis and hierarchical classification. The ecotope 220A is characterized by having good access roads, coffee plantations younger than six years, comprising areas from one to three hectares. The coffee of this ecotope is associated with orange and guamos trees. The ecotope 221A, has good access roads, the coffee plantations are associated with fruit trees, mainly bananas and cooking bananas. Results showed that 9.2% of the crops are grown without shade. Fertilization and pest control are principally made by chemical means. In both ecotopos, most producers fertilize without knowing soil analyses results; in the area predominate coffee crops grown in associations, in no apparent order, which would manage shade levels.

Key words: *Coffea arabica* L., permanent shade, multivariate analysis, ecotope.

INTRODUCCIÓN

Para el 2013, Colombia produjo 10.900.000 sacos de café de 60kg, que representan el 7,4% de la producción mundial, siendo el cuarto país productor de café en el mundo, después de Brasil, Vietnam e Indonesia (OIC, 2014). Urueña (2013) indica que el cultivo de café tiene gran importancia en la economía colombiana, constituyendo el 15% del PIB agropecuario, para el 2012; además, se caracteriza por poseer cafetales de ocho años de edad, con densidades promedio de 5.015 plantas por hectárea.

Para el 2013, Colombia registra 771.731 ha cultivadas en café, de las cuales, el departamento de Nariño aporta 32.137 ha, que representan el 4,16% (Agronet, 2015), cuya producción es muy apreciada en el comercio internacional, por su denominación de origen (Oberthür *et al.* 2011). En Nariño, el 87,3% de la caficultura es tecnificada, con árboles jóvenes de 2 a 8 años, variedades resistentes a la roya en un 52,6% (Saldías, 2013) y un promedio de rendimiento de 0,9t. ha⁻¹, superior al promedio nacional (0,8t. ha⁻¹).

En el país, los cafetales se desarrollan en un rango altitudinal de 1000 a 2000msnm, la temperatura promedio es de 20°C y la precipitación puede oscilar entre 1440 a 2711mm/año. Estas condiciones han variado en los últimos años, debido a la variabilidad del clima, a los eventos del niño y la niña, según lo expresan Ramírez *et al.* (2013). Estos fenómenos, junto con los factores genéticos de la planta y los sistemas de manejo del cultivo, determinan la productividad del café. De esta actividad cafetera, dependen económicamente 563.000 productores, que se caracterizan, principalmente, por la producción familiar de minifundio (Saldías, 2013).

Según Gómez *et al.* (1991), el Centro Nacional de Investigaciones del café (CENICAFE), con base en las clasificaciones de suelos del país del Instituto Geográfico Agustín Codazzi IGAC, del Instituto Colombiano de Hidrología, Meteorología y Adecuación de Tierras (HIMAT), del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, que utilizaron en su metodología variables agrícolas, balances hídricos decadales, áreas agroecológicas y fisiografía, subdividió la zona cafetera colombiana en 86 ecotopos cafeteros, caracterizados por el sistema geográfico, variables climáticas, variables del suelo y cartografía (Torrente & Ladino, 2009).

En el departamento de Nariño, de 64 municipios que lo conforman, 41 son productores de café. La zona norte representa el 66,63%, mientras que en el suroccidente, se encuentra el 33,37% del total de predios dedicados a este cultivo. Gómez *et al.* (1991) identificaron en el departamento dos zonas agroecológicas, con características agroclimáticas similares, que corresponden a los ecotopos 220A y 221A.

El ecotopo 220A, ubicado en el norte del departamento, comprende las regiones ubicadas en la cuenca del río Patía, en las subcuencas de los ríos Juanambú y Mayo, en las coordenadas que van desde 1°21' hasta 1°42'LN, altitudes de 1.300 a 1.800msnm y una precipitación anual de 1.700 a 1.900mm. El ecotopo 221A, se encuentra localizado en las zonas que hacen parte de la cuenca del río Guáitara, entre 1°05' y 1°36'LN, entre 1.400 y 2.100msnm y con una precipitación anual de 1.400 a 1.700mm (FNC, 1991).

Existen grandes diferencias en las zonas cafeteras de los ecotopos indicados, que se relacionan con el área sembrada, sistemas de siembra, programas de fertilización y, en general, en todas las actividades relacionadas con la producción del cultivo y la poscosecha. Por esta razón, es importante caracterizar física y socialmente, las fincas cafeteras de estos ecotopos, para formar grupos, establecer las diferencias entre ellos y definir sus principales características.

La caracterización y el análisis de las zonas productoras, constituyen métodos importantes para determinar su distribución y cuantificar las características e interacciones que determinan su funcionamiento; además, permiten cuantificar las diferencias, mediante la descripción de las propiedades de un sistema y de sus interacciones, facilitando así la planeación y la optimización de los recursos, orientados al mejoramiento de las unidades productivas (Ríos *et al.* 2004; Merma & Julca, 2012).

La caracterización de los sistemas productivos de café reconoce variables que contribuyen al desarrollo sostenible de este cultivo, por ejemplo, Rojas *et al.* (2012) encontraron que los sistemas de cultivo bajo sombra presentan un efecto positivo para la transformación del paisaje, la biodiversidad y las especies exóticas invasoras, porque aportan a la conservación de los ecosistemas en cuanto a cobertura vegetal, composición de suelos y, asimismo, a la preservación de las especies nativas de la región cafetera. El cultivo bajo sombra, por ser un sistema de producción más amigable con el entorno, puede llegar a reestablecer suelos erosionados o perdidos, dado que logra adaptar características similares a las de los bosques mesófilos y, además, generar una alternativa para que las comunidades campesinas mejoren su calidad de vida.

Con estas consideraciones, el objetivo de este trabajo fue caracterizar los sistemas productivos de café en los ecotopos 220A y 221A, localizados en el departamento de Nariño, con lo cual, se pretende contribuir al conocimiento y al desarrollo del cultivo del café, en el sur de Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, se llevó a cabo en los municipios de La Unión y Buesaco, pertenecientes al ecotopo 220A y en los

municipios de Sandoná, Consacá y La Florida, localizados en el ecotopo 221A, del departamento de Nariño.

Inicialmente, se revisaron las estadísticas de la Federación Nacional de Cafeteros de Nariño, lo que permitió conformar un marco muestral de 16.767 unidades productivas cafeteras (UPC), en los dos ecotopos. Con base en este marco, se estableció un tamaño de muestra de 159 fincas cafeteras, localizadas en los municipios de La Unión y Buesaco (Ecotopo 220) y Sandoná, Consacá y La Florida (Ecotopo 221), mediante la utilización de la fórmula propuesta por Scheaffer *et al.* (2007).

Posteriormente, la muestra se estratificó con base en el porcentaje de UPC, correspondiente a cada uno de los municipios citados, obteniéndose la siguiente conformación de las encuestas: La Unión, 57; Buesaco, 29; Sandoná, 27; La Florida, 21 y Consacá, 25. En cada municipio, las encuestas se asignaron aleatoriamente entre productores, cuyos predios estaban localizados según los siguientes rangos altitudinales, menor a 1.500msnm, entre 1.501 y 1.800msnm y mayor a 1.800msnm.

La aplicación del formulario de encuesta, se realizó mediante entrevista personal; además, se hicieron recorridos en las UPC, con el objeto de tener un conocimiento más detallado y real de los sistemas productivos del cultivo de café en las zonas. Todas las respuestas del cuestionario (120), se consideraron variables y se diseñaron en forma categórica, para facilitar la aplicación del método multivariado de análisis de correspondencias múltiples (ACM) y el análisis de clasificación, con base en las distancias de Ward, utilizando el software SPAD 5.6 (Ríos *et al.* 2004; Chávez *et al.* 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ecotopo 220A. El ACM del ecotopo 220A mostró una clasificación de la composición porcentual de los cultivos de café, acorde con la altitud de las explotaciones. El 70,9%, se encuentran localizados entre los 1.500 y los 2.000msnm, mientras que el 12,8% están por debajo de los 1.500msnm

y el 16,3% por encima de los 2.000msnm. Solamente, el 31,4% de los predios realizan análisis de suelos y es una característica similar en los municipios de Buesaco y La Unión.

Los cultivos menores a una hectárea, se encontraron en un 20,7% de los predios en Buesaco y en un 19,3%, en el municipio de La Unión. El 10,3% de los cultivos de Buesaco poseen más de tres hectáreas, mientras que en La Unión, solo el 3,5% son áreas grandes (mayor a 3ha). El área de los cultivos de café en la zona es de minifundio, está en concordancia con el área de las unidades productivas de café en los principales departamentos cafeteros de Colombia, donde oscilan entre 0,1 y 6,9ha, con un promedio de 2,1ha (Dusán *et al.* 2006).

Por otro lado, las fincas con alto volumen de producción de café, correspondieron al 22,2% de las UPC, en Buesaco y al 77,8%, en La Unión (77,8%). De las UPC existentes en La Unión, el 71,4% no reportaron producción, debido a que poseían cultivos nuevos. Es de aclarar, que las UPC se clasificaron en las siguientes categorías: menos de 50 arrobas de producción anual, como bajo volumen de producción; entre 50 y 100 arrobas, correspondían a volumen medio de producción; más de 100 arrobas, a alto volumen de producción y cultivos nuevos, sin producción.

Según el ACM, el 22,38% de la variabilidad total se puede explicar, a través de tres factores (Tabla 1). El primer factor está conformado, principalmente, por las variables correspondientes al municipio, altitud y tipo de manejo de plagas y enfermedades; el segundo, por el tamaño de la finca, la productividad del suelo, la edad y tipo de plantación, método de control de malezas y producción cafetera de la finca y el tercer factor, lo conforman, en su mayor proporción, las variables altitud, incorporación y manejo agronómico de frutales, como sombrío.

En la figura 1, se observa una gran concentración de los productores en el origen de los ejes del plano factorial, indicando poca variabilidad, especialmente, en las fincas ubicadas en el municipio de La Unión, que se destacan por su

Tabla 1. Varianza explicada por cada valor propio del ACM de las variables categorizadas, correspondientes a encuestas en los ecotopos 220A y 221A.

Factor	Ecotopo 220A			Ecotopo 221A			
	No.	VP	V(%)	VA(%)	VP	V(%)	VA(%)
1		0,17	8,99	8,99	0,61	8,37	8,37
2		0,13	6,96	15,95	0,14	7,23	15,60
3		0,11	6,03	22,00	0,13	6,99	22,58

VP = valor propio, V = varianza, VA = varianza acumulada-

localización por debajo de los 1.800msnm, alta proporción de cultivos nuevos, que no entran en producción y estar asociados con frutales. Más alejado del origen de los ejes, se ubica el municipio de Buesaco, cuyas unidades productivas se sitúan en altitudes superiores a los 1.800msnm.

La proximidad gráfica observada entre individuos y variables, como altitud y producción, explica la naturaleza de la variabilidad dentro y entre grupos; de ahí, que si una de esas características aparece asociada con una finca cafetera, lo más probable es que las características correlacionadas con ella

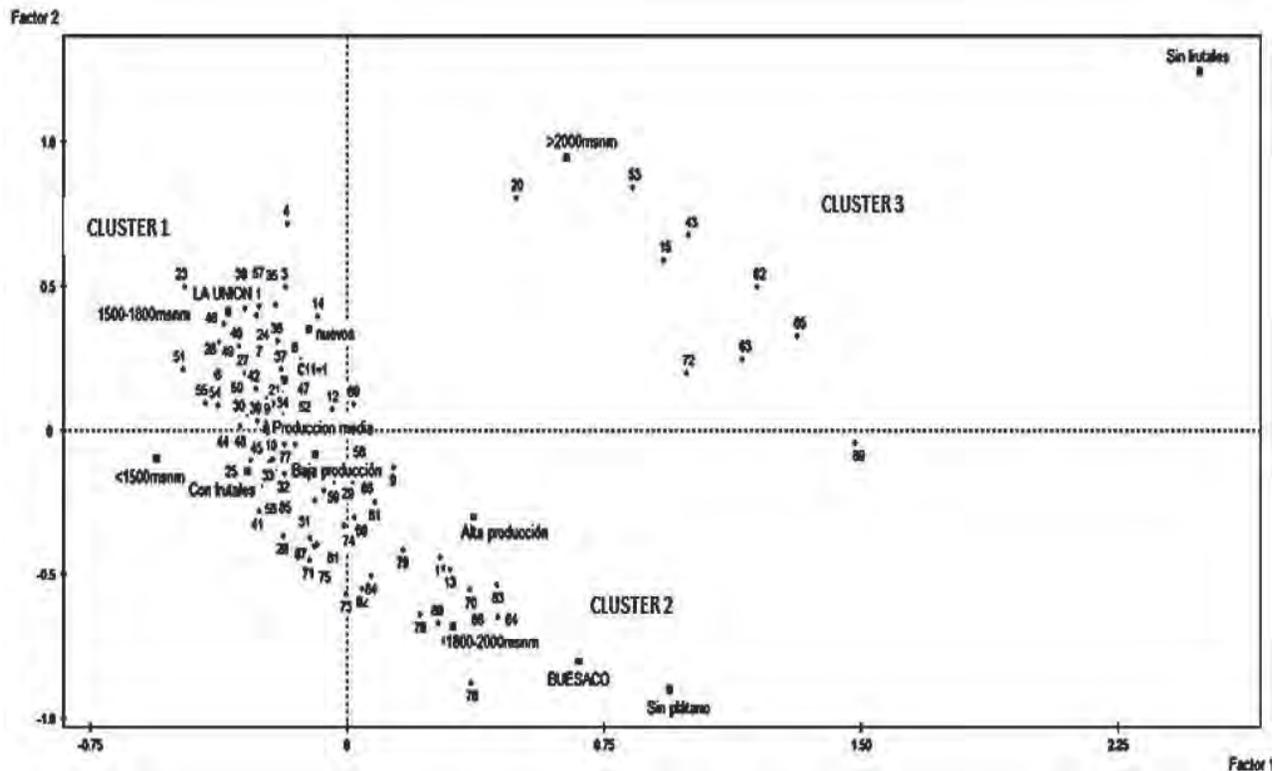


Figura 1. Ubicación de las explotaciones cafeteras del ecotopo 220A y de algunas variables importantes, según su aporte en la conformación de los dos primeros factores del ACM.

también estén presentes en el cultivo (Smith *et al.* 2002). Las modalidades o individuos (productores) localizadas cerca al origen del plano, no aportan significativamente a la variabilidad del sistema, representan a la población promedio y no permiten discriminarlos entre los grupos formados por el ACM (Carrillo *et al.* 2011).

El análisis de clasificación permitió identificar tres grandes grupos, que se indican en la tabla 2. El grupo uno está conformado por 56 productores, que representan el 65,11% de las UPC que, en su mayoría, pertenecen al municipio de La Unión, que participa con el 58,14% del grupo; estas unidades productivas, se localizan entre 1.500 y 1.800msnm. Se caracterizan por cultivar plátano y frutales intercalados con el café y por el uso de herbicidas para el manejo de arvenses.

El grupo dos está formado por 21 productores, que corresponde al 24,42%; Buesaco participa en su gran mayoría en la conformación de este grupo, con el 20,94%; los predios cafeteros, se encuentran localizados entre los 1.800 y los 2.000msnm y realizan aplicaciones de insecticidas, herbicidas y usan fertilizantes químicos. En general, los cultivos de este grupo son nuevos y los productores hacen uso del crédito bancario, para llevar a cabo sus cultivos. El grupo tres incluye nueve UPC (10,47%), de las cuales, cuatro pertenecen a La Unión y cinco a Buesaco, localizadas por encima de los 2.000msnm y no incluyen frutales en el cultivo de café.

En la figura 1, se muestra la ubicación de los productores según su aporte en la conformación de los dos primeros factores. La mayoría de las fincas, se ubican en el grupo uno y esto significa, una mayor homogeneidad, por su ubicación

central, mientras que los grupos dos y tres se colocan en un extremo, muy alejadas del grupo uno, con fincas cuyos cultivos de café poseen características que se alejan del promedio, pero sin mucha diferencia entre estos dos grupos.

En el grupo uno predominan los sombríos con árboles de guamo (*Inga sp.*), en el municipio de La Unión, mientras

que en Buesaco, los sombríos predominantes son los cítricos, frutales que hacen un aporte significativo adicional a la economía del productor. La utilización cítricos y plátano, como sombrío en el cultivo de café, garantizan la seguridad alimentaria familiar y generan ingresos alternos, que evitan la dependencia del cultivo del café (Moreno, 2013) y disminuyen el riesgo cuando los precios de grano son bajos.

Tabla 2. Grupos conformados por unidades productivas de café del ecotopo 220A, en el departamento de Nariño.

Grupo	No. de predio	Ubicación	Municipio dentro del grupo (%)	Grupo (%)
1	1-8, 10, 12, 14, 16, 17-19, 21-42, 44-52, 54-57	LA UNIÓN	58,14	65,11
	60, 66, 67, 71, 77, 85.	BUESACO	6,97	
2	9, 11, 13	LA UNIÓN	3,48	24,22
	58, 59, 61, 64, 68, 70, 73-76, 78-84, 86	BUESACO	20,94	
3	15, 20, 43, 53	LA UNIÓN	4,65	10,47
	62, 63, 65, 69, 72	BUESACO	5,82	

Ecotopo 221A. El 58,9% de los cultivos de café del ecotopo 221A están por debajo de los 1.800msnm, mientras que el 21,9% están entre los 1.800 y los 2.000msnm y el 19,2%, por encima de los 2.000msnm. Esto coincide con Gamboa *et al.* (2015), quienes afirman que en la zona sur de Colombia, se produce café de altura y a menor temperatura, lo cual, se traduce en una mayor acidez y calidad de taza, con características especiales que los hacen de gran aprecio en los mercados internacionales; sin embargo, de acuerdo con Oberthür *et al.* (2011) existen diferencias regionales en la calidad del café, producido entre los departamentos del Cauca y Nariño, definidas por las características ambientales, con excepción de la altitud. Esto indica que las variables relacionadas con los microclimas, la pendiente de las UPC y el suelo, pueden ser determinantes para obtener determinada calidad de café.

La altura sobre el nivel del mar puede afectar la producción y la calidad de café. Se conoce que el tamaño del grano puede crecer con el aumento de la altura, lo contrario ocurre en zonas bajas. Con respecto a la calidad de tasa, no existe una correlación entre la altura definida, pero cafetales de altura con sombrío están asociados a baja calidad de tasa y cafetales bajos con sombrío, se correlacionan con una buena tasa (Bosselmann *et al.* 2009). En zonas de altura, las poblaciones de la broca del café son bajas, contrariamente con lo que ocurre en la zona bajas, donde la *Hypothenemus hampei* es una plaga limitante para la producción (Bosselmann *et al.* 2009).

En el ecotopo 221A predominan los cultivos de 1 a 3 ha (47,9%), un 35,6% son minifundios con menos de una hectárea y solo el 16,4% son cultivos que superan las tres hectáreas. Generalmente, en el 91,8% de los cafetales se encuentran árboles frutales y plátano; solo un 9,2% son monocultivos. El 42,5% fertiliza con base en el análisis de suelos, mientras que el 57,5% aplica los fertilizantes, sin una base diagnóstica del suelo.

La experiencia de los cultivadores de café es una gran fortaleza en la región, dado que el 92,9% de los productores tiene una tradición cafetera por más de diez años y solo el 11% tiene una experiencia menor a cinco años. En cuanto al volumen productivo de las fincas, el 49,3% tienen una baja producción (menos de 50 arrobas); el 24,7%, media (entre 50 y 100 arrobas) y sólo un 11,0% presentan una producción alta (más de 100 arrobas). El 15,1% restante corresponde a cultivos nuevos, que todavía no registran producción.

Para la obtención de óptimas producciones y buenas tasas es necesario realizar un buen plan de fertilización, ya sea de origen inorgánico u orgánico, para compensar la extracción que ejerce el cultivo, principalmente elementos, tales como el nitrógeno, el fósforo, el potasio, el calcio y el magnesio (Ramírez *et al.* 2002; Amaral *et al.* 2010; Hagggar *et al.* 2011); no obstante, es posible que por los altos costos que representa el uso de los fertilizantes en el cultivo del café,

los agricultores se vean limitados en la utilización de este insumo. En Colombia, los costos de los fertilizantes en el cultivo representan entre el 10 y el 15% de los costos totales de la producción y entre el 80 y 90% de los insumos utilizados (Sadeghian, 2013). Aunque es posible disminuir el uso de fertilizantes en el cultivo del café, con dosis moderadas de fertilización, obteniendo viabilidad económica (Campos *et al.* 2006).

Según Sadeghian (2013), mediante los análisis de suelos es posible conocer la fertilidad de los suelos, el plan general de nutrición de los cafetales y la aplicación de enmiendas, lo que disminuye los riesgos económicos y ambientales. La fertilización en los cafetales es fundamental para obtener buenos rendimientos; cuando no se realiza esta labor, la producción se disminuye en más del 40% de la producción.

El ACM (Tabla 1) mostró que el 22,58% de la variabilidad total se puede explicar por los tres primeros factores. Entre las variables con mayor asociación con el primer factor, se encuentran el municipio, la altitud y el tipo de fertilizante empleado en la siembra; el segundo factor, lo conforman, principalmente, las variables cultivo de café intercalado con frutales, manejo de los frutales, renovación de cafetales y producción por finca. Las variables que más aportan a la conformación del factor tres son el área del cultivo, número de jornales empleados en el proceso productivo, el conoci-

miento de las buenas prácticas agrícolas y la producción por finca.

Existe una alta similitud entre Sandoná y Consacá, mientras que La Florida, se encuentra distante de estos dos municipios en el plano cartesiano, conformado por los dos primeros factores, debido, primariamente, a la mayor altitud de sus cultivos (Figura 2). De igual manera, cuando se ubica en el plano la variable producción/finca, se pudo establecer que las altas producciones están asociadas al municipio de Sandoná, mientras que las bajas y medias, se encuentran más próximas al municipio de Consacá y La Florida, respectivamente.

El análisis de agrupamiento permitió la formación de cuatro grupos definidos por sus principales características (Tabla 3 y Figura 2). El grupo uno, conformado por tres fincas productoras de los municipios de Sandoná y cuatro de Consacá, ubicadas a menos de 1.800msnm, sin asociación de frutales o plátano; representan el 9,58% de los productores.

El grupo dos, lo componen 32 productores, cuyas UPC se distribuyen en los municipios de Sandoná (24,66%), Consacá (17,80%) y La Florida (2,74%); estos productores no reciben la asistencia técnica, lo que trae como consecuencia, que no conozcan la normatividad de las Buenas Prácticas Agrícolas; se localizan en zonas con vientos moderados. El

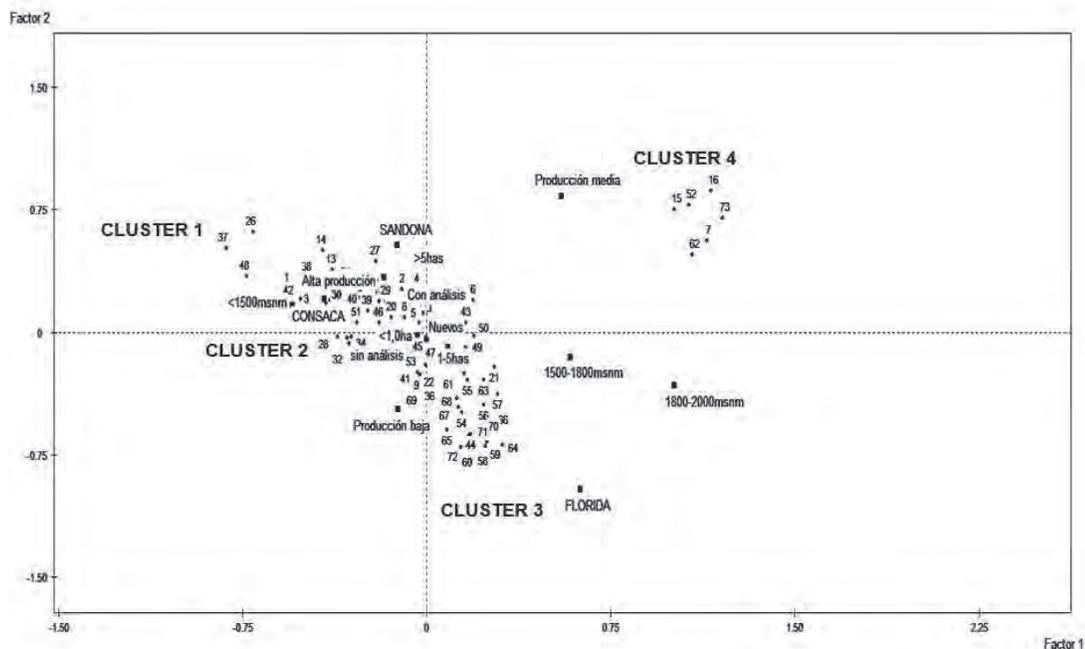


Figura 2. Ubicación de las UPC del ecotopo 221A y de algunas variables importantes, según su aporte en la conformación de los dos primeros factores del ACM.

Tabla 3. Grupos conformados por unidades productivas de café del ecotopo 221A, en el departamento de Nariño.

Grupo	No. de predio	Ubicación	Municipio dentro del grupo (%)	Grupo (%)
1	1, 3, 26	SANDONA	4,11	9,58
	28, 37, 42, 48	CONSACA	5,47	
2	2, 4, 5, 6, 8, 10-14, 17-20, 23, 25, 27	SANDONA	24,66	45,20
	29-35, 38-40, 45, 46, 51	CONSACA	17,80	
	53, 69	LA FLORIDA	2,74	
3	9, 21	SANDONA	2,74	36,99
	33, 36, 41, 43, 44, 47, 49, 50	CONSACA	10,96	
	54, 55-61, 63-68, 70-72	LA FLORIDA	23,29	
4	7, 15, 16	SANDONA	4,11	8,22
	52	CONSACA	1,37	
	62, 73	LA FLORIDA	2,74	

grupo tres, con 17 UPC, distribuidas en Sandoná (2,74%), Consacá (10,96%) y La Florida (23,29%), se encuentran en zonas de vientos fuertes y cafetales renovados por soca y, finalmente el grupo cuatro, se caracteriza por monocultivos y ausencia de frutales, como arboles intercalados con el café (Tabla 3).

En los cultivos de café del ecotopo 220A son frecuentes los sombríos de guamo y de cítricos, mientras que en el ecotopo 221A predominan los cultivos con plátano y con anano, así como los cultivos sin sombra. En ambos ecotopos, la mayoría de productores fertilizan sin tener en cuenta el análisis de suelo. La asociación de los sistemas de producción de café con una zona geográfica en particular, permite articular las relaciones entre los diferentes agentes socioeconómicos, la actividad productiva y el ambiente.

Dependiendo de las condiciones agroecológicas es posible implementar cultivos de café a plena exposición. Mediante este sistema, se hacen más eficientes los factores de producción, por lo tanto, es posible obtener altas producciones de café por hectárea y aumentar la rentabilidad del agricultor (Ramírez *et al.* 2013); sin embargo, la implementación de este sistema de cultivo requiere constante disponibilidad hídrica y de recursos económicos, para suplir las exigencias de insumos que requiere el cultivo. Además, con este tipo de sistema, se disminuye la biodiversidad comparados con cafetales en sistemas agroforestales, donde la producción es menor, pero con grandes ventajas, como la disminución

de la evapotranspiración, los requerimientos de agua son menores, existe mayor aporte de materia orgánica, menor riesgo de erosión y mayor sostenibilidad ante la variabilidad climática, entre otras (Farfán, 2013).

La utilización del sombrío altera el microclima del cultivo, modifica el crecimiento y el desarrollo de las plantas, tal como lo plantean Campanha *et al.* (2004); en algunas condiciones, según Soto *et al.* (2000), el sombrío puede favorecer la productividad de los cultivos, mientras que en condiciones óptimas para el cultivo, puede causar efectos negativos sobre el rendimiento.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Universidad de Nariño, al departamento de Nariño y al Sistema General de Regalías. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue reparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses, que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por el Sistema General de Regalías, el departamento de Nariño y la Universidad de Nariño.

BIBLIOGRAFÍA

1. AGRONET. 2015. Red de información y comunicación del sector agropecuario. Disponible desde Internet en: <http://www.agronet.gov.co/Paginas/estadisticas.aspx> (con acceso 16/04/2016).

2. AMARAL, J.F.T.D.; MARTINEZ, H.E.P.; LAVIOLA, B.G.; FERNANDES FILHO, E.I.; CRUZ, C.D. 2010. Bean production efficiency and relative allocation of nutrients of four coffee varieties. *Rev. Ceres*. 57:253-262.
3. BOSSELMANN, A.S.; DONS, K.; OBERTHÜR, T.; OLSEN, C.S.; RÆBILD, A.; USMA, H. 2009. The influence of shade trees on coffee quality in small holder coffee agroforestry systems in Southern Colombia. *Agric. Ecosyst. Environ.* 129(1):253-260.
4. CAMPANHA, M.; SILVA, R.; DE FREITAS, B.; PRIETO, H.; RIBEIRO, S.; FINGER, F. 2004. Growth and yield of coffee plants in agroforestry and monoculture systems in Minas Gerais, Brazil. *Agrofor. Systems*. 63:75-82.
5. CAMPOS, F.; FURTINI, A.E.; GONTIJO, P.T.; BARROS, E.D.; PEREIRA, P. 2006. Efficiency of NPK fertilization in coffee dense cropping system in Southern Minas Gerais, Brazil. *Coffee Sci.* 1:135-142.
6. CARRILLO, B.; MOREIRA, V.; GONZÁLEZ, J. 2011. Caracterización y tipificación de sistemas productivos de leche en la zona centro-sur de Chile: un análisis multivariable. *IDESIA (Chile)*. 29(1):71-81.
7. CHÁVEZ, D.; MIRANDA, I.; VARELA, M.; FERNÁNDEZ, L. 2010. Utilización del análisis de clúster con variables mixtas en la selección de genotipos de maíz (*Zea mays* L.). *Rev. Invest. Operacional*. 30(3):209-216.
8. DUSSÁN, C.; DUQUE, H.; GONZÁLEZ, J. 2006. Caracterización tecnológica de caficultores de economía campesina, de los principales municipios cafeteros de Colombia. *Cenicafé*. 57(3):167-186.
9. FARFÁN, V.F. 2013. Establecimiento de sistemas agroforestales con café. En: Gast, F.; Benavides, P.; Sanz, J.R.; Herrera, J.C.; Ramírez, V.H.; Cristancho, M.A.; Marín, S.M. (eds). *Manual del cafetero colombiano Investigación y tecnología para la sostenibilidad en la de la caficultura*, Tomo II. Ed. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Legis, Bogotá D.C. p.44-63.
10. FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA –FNC-. 1991. *Ecotopos cafeteros de Colombia*. Ed. FNC, Bogotá D.C. p.75-76.
11. GAMBOA, R.; MOSQUERA, S.; PAZ, I. 2015. Caracterización física de café especial (*Coffea arabica*) en el municipio de Chachagüí (Nariño, Colombia). *Rev. Lasallista Invest.* 12(1):90-98.
12. GÓMEZ G.; CABALLERO, R.; BALDIÓN R. 1991. *Ecotopos Cafeteros*. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia: Cenicafé – Agroclimatología, División de Desarrollo Social. Bogotá. 125p.
13. HAGGAR, J.; BARRIOS, M.; BOLAÑOS, M.; MERLO, M.; MORAGA, P.; MUNGÚIA, R.; PONCE, A.; ROMERO, S.; SOTO, G.; STAVER, C.; VIRGINIO, E.D.M.F. 2011. Coffee agroecosystem performance under full sun, shade, conventional and organic management regimens Central America. *Agroforest. Syst.* 82:285-301.
14. MERMA, I.; JULCA, A. 2012. Caracterización y evaluación de la sustentabilidad de fincas en alto Urubamba, Cusco, Perú. *Ecología Aplicada*. 11(1):1-11.
15. MORENO, B.M.A. 2013. Sistemas de producción de café en arreglos interespecíficos. En: Gast, F.; Benavides, P.; Sanz, J.R.; Herrera, J.C.; Ramírez, V.H.; Cristancho, M.A.; Marín, S.M. (Eds). *Manual del cafetero colombiano Investigación y tecnología para la sostenibilidad en la de la caficultura*, Tomo II. Ed. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Legis, Bogotá D.C. p.64-84.
16. OBERTHÜR, T.; LÄDERACH, P.; POSADA, H.; FISHER, M.J.; SAMPER, L.F.; ILLERA, J.; JARVIS, A. 2011. Regional relationships between inherent coffee quality and growing environment for denomination of origin labels in Nariño and Cauca, Colombia. *Food policy*. 36(6):783-794.
17. ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DEL CAFÉ –OIC-. 2014. *Comercio mundial del café (1963-2013): reseña de los mercados, retos y oportunidades con que se enfrenta el sector*. Consejo Internacional del café, Londres, UK. 27p.
18. RAMÍREZ, F.; BERTSCH, F.; MORA, L. 2002. Consumo de nutrimentos por los frutos y bandolas de café capturada durante un ciclo de desarrollo y maduración en Aquiares, Turrialba, Costa Rica. *Agron. Costarricense* 26(1):33-42.
19. RAMÍREZ, H.; JARAMILLO, A.; PEÑA, J. 2013. Gestión del riesgo agroclimático: vulnerabilidad y capacidad de adaptación del sistema de producción de café. En: Gast, F.; Benavides, P.; Sanz, J.R.; Herrera, J.C.; Ramírez, V.H.; Cristancho, M.A.; MARÍN, S.M. (Eds). *Manual del cafetero colombiano Investigación y tec-*

- nología para la sostenibilidad en la de la caficultura, Tomo I. Ed. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Legis, Bogotá D.C. p.91-114.
20. RÍOS, G.; ROMERO, M.; BOTERO, M.; FRANCO, G.; PÉREZ, J.; MORALES, J.; GALLEGU, J.; ECHEVERRY, D. 2004. Zonificación, caracterización y tipificación de los sistemas de producción de lulo (*Solanum quitoense* Lam) en el Eje Cafetero. Rev. CORPOICA. 5(1):22-30.
21. ROJAS, A.; HARTMAN, K.; ALMONACID, R. 2012. El impacto de la producción de café sobre la biodiversidad, la transformación del paisaje y las especies exóticas invasoras. Ambiente y Desarrollo. 16(30):93-104.
22. SADEGHIAN, K.S. 2013. Nutrición de los cafetales. En: Gast, F.; Benavides, P.; Sanz, J.R.; Herrera, J.C.; Ramírez, V.H.; Cristancho, M.A.; Marín, S.M. (eds). Manual del cafetero colombiano Investigación y tecnología para la sostenibilidad en la de la caficultura, Tomo II. Ed. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Legis, Bogotá D.C. p.85-116.
23. SALDÍAS, C. 2013. El servicio de extensión acompañado a la investigación para una mejor atención a los cafeteros de Colombia, En: Gast, F.; Benavides, P.; Sanz, J.R.; Herrera, J.C.; Ramírez, V.H.; Cristancho, M.A.; Marín, S.M. (eds). Manual del cafetero colombiano Investigación y tecnología para la sostenibilidad en la de la caficultura, Tomo I. Ed. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Legis, Bogotá D.C. p.47-62.
24. SCHEAFFER, R.; MENDENHALL, W.; LYMAN, O. 2007. Elementos de muestreo. 6ª edición. Ed. International Thomson, Madrid. 455p.
25. SMITH, R.; MOREIRA, V.; LATRILLE, L. 2002. Caracterización de sistemas productivos lecheros en la X región de Chile mediante análisis multivariable. Agricultura Técnica (Chile). 62(3):375-395.
26. SOTO, P.; PERFECTO, I.; CASTILLO, H.; CABALLERO, N. 2000. Shade effect on coffee production at the northern Tzeltal zone of the state of Chiapas, México. Agr. Ecosyst. Environm. 80:61-69.
27. TORRENTE, A.; LADINO, A. 2009. Caracterización de propiedades fisicoquímicas de los suelos de la zona cafetera del municipio de Isnos con el fin de establecer su aptitud de uso y manejo. Rev. Ing. Región. 6(1):77-82.
28. URUEÑA, M. 2013. El mercado mundial y nacional del café en el siglo XXI, En: Gast, F.; Benavides, P.; Sanz, J.R.; Herrera, J.C.; Ramírez, V.H.; Cristancho, M.A.; Marín, S.M. (eds). Manual del cafetero colombiano Investigación y tecnología para la sostenibilidad en la de la caficultura, Tomo I. Ed. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Legis, Bogotá D.C. p.17-25.

Recibido: Enero 18 de 2016
Aceptado: Abril 26 de 2016

Cómo citar:

Criollo Escobar, H.; Lagos Burbano, T.C.; Bacca Ibarra, T.; Muñoz Belalcazar, J.A. 2016. Caracterización de los sistemas productivos de café en Nariño, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 105-113.

EFFECTOS DEL CRUZAMIENTO ENTRE LAS RAZAS DE CONEJOS NUEVA ZELANDA Y CALIFORNIA SOBRE CARACTERES DE LA CAMADA AL DESTETE

EFFECTS OF CROSSBREEDING BETWEEN NEW ZEALAND AND CALIFORNIA RABBITS ON LITTER WEANING TRAITS

Fernando Gallego¹

¹Zootecnista, Doctor en Ciencias Veterinarias, Docente Investigador Facultad de Ciencias Pecuarias. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, U.D.C.A. Calle 222 No. 55-34, Bogotá, D.C., Colombia, e-mail: fgallego@udca.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 115-121, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Con el objeto de evaluar la heterosis individual y materna y los efectos maternos sobre el tamaño de la camada, el peso y la sobrevivencia al destete, se establecieron cruces F1, entre las razas nueva Zelanda (NZ) y California (CAL). En una segunda etapa, las hembras cruzadas fueron apareadas a machos de la raza Azul de Viena (AV). Para estimar los efectos del grupo genético, la capacidad materna y la heterosis, se utilizaron modelos lineales generales. En F1, se encontraron diferencias en el tamaño de la camada y la sobrevivencia al destete entre cruces recíprocos, sin diferencias entre razas. La raza CAL, como madre en los cruces, presentó superioridad, al compararla con NZ. La heterosis individual en el peso al destete fue de 12,2%, sobresaliendo el cruce NZ x CAL, en el que también se complementó su mayor tamaño de camada, presentándose como el más productivo. El cruce terminal de hembras F1 apareadas a machos AV obtuvo mayor número de gazapos al destete, con relación a las hembras de razas puras; la heterosis materna fue de 2,78 y 1,46%, para el peso y la sobrevivencia al destete, respectivamente. En definitiva, se recomienda el cruzamiento entre estas razas, utilizando a la raza California como base materna en F1, apareada en cruzamiento terminal a una tercera raza paterna, como la Azul de Viena, para mejorar la productividad de los sistemas de producción cunicola.

Palabras clave: Heterosis, efectos maternos, *Oryctolagus cuniculus*.

SUMMARY

In order to assess the presence of individual and maternal heterosis and maternal effects on litter size at birth and weaning weight and survival, under commercial conditions

F1 crosses between New Zealand and California breeds were established; in a second generation the females were mated to males of the Blue of Viena as terminal sire breed. For each genetic group six females, two males and their respective litters were used. As statistical procedures general linear models were implemented. As a result, in the progeny F1 significant differences in litter size and survival at weaning between reciprocal crosses were obtained; no differences between breeds were detected. The California breed used as maternal line presented superiority when compared to New Zealand females. The weaning weight variation was due to the number of young rabbits born and weaned per litter, maternal breed and genetic group. Also the results showed differences in maternal effects between breeds, which were favorables to California dams. The individual heterosis in weaning weight was 12.2 per cent for NZ x CAL genetic group. The terminal crossing of F1 females mated to Vienna Blue sires produced greater number of young rabbits and a more favorable weight at weaning relative to purebred females; maternal heterosis was 2.78 and 1.46 per cent for weight and weaning survival respectively. Finally for the improvement of rabbit production the use of dams NZ x CAL reared to AZ as terminal sire breed could be recommended.

Key words: Heterosis, maternal effects, *Oryctolagus cuniculus*.

INTRODUCCIÓN

La producción cunicola, se recomienda como una solución para los problemas nutricionales y económicos de los campesinos de los países en desarrollo (FAO, 2003). Asimismo, la demanda por la carne de conejo muestra condiciones para la expansión de la cunicultura, a nivel industrial y para la transferencia de tecnología hacia los sistemas de produc-

ción, en la búsqueda de mayor eficiencia. En este sentido, las mejoras en los sistemas de alimentación y los programas de mejoramiento genético son las vías que ofrecen la posibilidad de incrementar los índices productivos, para hacer a esta actividad, productiva y rentable.

Nueva Zelanda y California son las razas más populares en la cunicultura mundial, reconocidas como razas maternas y paternas, respectivamente, por sus méritos en tamaño de la camada, habilidad lechera y alto crecimiento, con gran potencial de ser usadas en cruzamientos comerciales o para la formación de líneas, por sus habilidades combinatorias sobre otras razas (Blumetto, 2007).

El peso y el tamaño de la camada al destete son características que pueden resumir la eficiencia productiva de los sistemas de cría y determinar la rentabilidad de los sistemas de producción de conejos; estos caracteres están bajo la influencia de factores genéticos y ambientales (Blasco, 2002).

La selección de líneas ha sido la estrategia más importante en el mejoramiento genético de conejos para carne. La rentabilidad de los sistemas cunícolas, se alcanza con programas de selección por prolificidad de las hembras (Savietto *et al.* 2014). Seleccionando líneas maternas por el número de gazapos al destete y vida útil reproductiva, Ragab *et al.* (2014), incrementaron el número de animales por hembra al sacrificio.

A su vez, Sorhue *et al.* (2014) encontraron altas y significativas correlaciones genéticas entre los rasgos productivos, medidos al nacimiento con los del destete. Estudios de Larzul & Rochambeau (2005) mostraron que los animales seleccionados, para ganancia de peso, presentaron mejor eficiencia alimenticia, que los seleccionados por mayor tamaño de la camada; en los animales cruzados, la mayor ganancia de peso no estuvo asociada con incrementos en el número de gazapos, al nacimiento y destete

Actualmente, la producción intensiva se basa en esquemas de cruzamientos entre líneas; el más recomendado utiliza hembras F1, producto de líneas maternas, que son apareadas a una tercera raza; posteriormente, los conejos producidos se destinan al sacrificio (Antonini & Cordiviola, 2010).

Vásquez *et al.* (2007), comparando los rendimientos de conejos Nueva Zelanda, Chinchilla y sus cruces, encontraron que para el peso, a los 35 días, no existieron diferencias entre los cruces recíprocos y Nueva Zelanda; en el estudio, no fue importante la vía del cruzamiento y la raza Chinchilla fue significativamente la de menor peso.

Los cruces terminales de machos de la raza Gigante de Flan-des con hembras F1 fueron más pesados al sacrificio, que

las razas puras y que otros cruces entre las razas NZ y CAL (García *et al.* 2000a). La raza utilizada como macho en cruzamientos no presentó efectos sobre los rasgos de la camada, medidos durante la lactancia y fue importante fuente de variación sobre la ganancia de peso y la calidad de la canal (Cheeke & Patton, 2003).

Piles *et al.* (2005) encontraron superioridad en ganancia de peso, tasa de natalidad y tasa de destete, en los genotipos cruzados sobre el promedio de sus padres puros, como también la hallaron Ragab & Baselga (2011).

La selección de líneas maternas, para la expresión de rasgos pre y al destete y de líneas paternas, para el crecimiento post-destete, se presenta como una alternativa favorable para lograr incrementos significativos en las principales características de la producción y en la rentabilidad del sistema (García *et al.* 2000b).

Matics *et al.* (2014) mostraron bajos efectos aditivos, cuando estimaron parámetros genéticos de caracteres reproductivos en líneas maternas de Nueva Zelanda, recomendando los cruzamientos entre líneas o razas sobresalientes en características maternas, con líneas de alto crecimiento o paternas, como sistema de mejoramiento, para incrementar la producción.

Zeferino *et al.* (2011) y Lukefahr *et al.* (2000) encontraron efectos ambientales sobre el peso al nacimiento y destete, debido al año, época y finca y temperatura, como efectos ambientales de los individuos a la edad, edad al primer parto e intervalo entre partos de la madre y al tamaño de la camada de la que provino el gazapo.

Ponce de León *et al.* (2002) hallaron efectos significativos de la raza sobre la viabilidad de la camada a la cuarta semana de edad, utilizando las razas California y Nueva Zelanda; además en sus resultados, no encontraron diferencias entre razas para sobrevivencia; en ganancia de peso, se presentaron diferencias significativas entre razas y entre tamaños de camada diferentes.

Cuando las razas y las líneas han sido seleccionadas por rasgos relacionados con el tamaño y el peso de la camada al destete, la media de las F1 dialélicas no presenta heterosis positiva; la heterosis estimada para los caracteres de crecimiento, en experimentos de cruzamiento, suele ser baja, entre el 3 y 10% (García *et al.* 2008).

La estimación de la heterosis para los cruzamientos entre las líneas seleccionadas fue alrededor del 6,4%, para el número de nacidos totales y del 7,4%, para el número de nacidos vivos (García *et al.* 2000b).

Brun & Baselga (2005) calcularon heterosis del 15,2, 20,1 y 6,6%, para el número de nacidos totales, vivos y destetados, respectivamente, para cruces a partir de líneas maternas.

Las heterosis estimadas para el total de nacidos y nacidos vivos fueron significativas y variaron entre -4,6 y -6,5%; los efectos paternos fueron favorables a las razas Nueva Zelanda y California, debido a las diferencias entre cruces. Nueva Zelanda sobresalió sobre las otras razas y cruces (García *et al.* 2013).

En la producción cunícula, los cruzamientos más utilizados son a partir de dos razas para producir híbridos F1 (Baselga, 2004); los cruces recíprocos permitirían estimar la influencia de cada uno sobre la variación en fertilidad y en tamaño de la camada; en estos casos, la generación F1 supera los valores de sus parentales.

Jakubec & Hyaneek (1982) definen a un súper carácter como la complementariedad que se obtiene en los cruzamientos o la ventaja de un cruce sobre otros o sobre una raza pura, en la forma en la que en él se combinan dos o más características y cómo se complementan entre ellas; los súper caracteres deben ser mensurables y expresados como unidades de producción. Asumiendo una composición multiplicativa de sub caracteres en un carácter y una combinación lineal de caracteres en un súper carácter:

$$Z = (X1 \times X2) (X2-1)$$

Dónde: Z = media del supercarácter; X1 = Promedio de las gazapos al nacimiento por hembra y por grupo genético; X2 = Porcentaje de sobrevivencia al destete; X2-1 = Media del peso al destete.

El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de los cruzamientos entre las razas Nueva Zelanda y California sobre el tamaño y el peso de la camada al destete, estimando efectos maternos, heterosis individual y heterosis materna.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, se realizó en la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, localizada en Bogotá, D.C., a 2.640msnm y con temperatura mínima de 4°C y máxima de 17°C. El estudio, se desarrolló en condiciones comerciales estándar, utilizando jaulas metálicas y de parto con nidal sub-piso. Los animales recibieron alimento balanceado comercial, de acuerdo a la etapa productiva en que se encontraban y agua a voluntad.

Como reproductores, para todos los apareamientos, se utilizaron seis hembras de primer parto y dos machos, estableciendo los cuatro siguientes grupos genéticos: 1) Nueva

Zelanda (NZ); 2) California (CAL) y sus cruces; 3) NZ x CAL y 4) CAL x NZ.

En una segunda etapa, las hembras cruzadas fueron apareadas con machos de la raza Azul de Viena, generando los siguientes grupos genéticos: 1) AZ x (CAL x NZ); 2) AZ x (NZ x CAL); 3) AZ x (CAL x CAL) y 4) AZ x (NZ x NZ).

A los machos, previamente se les realizó un espermiograma, con el fin de reducir la variación individual en el tamaño de la camada. Las hembras fueron sincronizadas hormonalmente, para inducir los partos para el mismo periodo. La duración del periodo de lactancia fue de 28 días, se hizo el destete de todas las camadas a edad fija.

Análisis de la información: Se utilizaron los análisis de varianza en el paquete estadístico SAS, bajo procedimientos lineales generales. Las variables analizadas fueron: sobrevivencia al destete, tamaño y peso de la camada al nacimiento y al destete. Se utilizó un diseño completamente al azar, con 6 repeticiones por tratamiento o grupo genético, que correspondió a una hembra y a su camada, de acuerdo al siguiente modelo: $Y_{ijkl} = \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_K + e_{ijkl}$

Dónde:

α_i = efecto de la i-ésima raza de la hembra en su progenie.
 β_j = efecto de la j-ésima raza del macho sobre su progenie.
 $(\alpha\beta)_{ij}$ = efecto de la interacción de la i-ésima línea materna con la j-ésima línea paterna.
 ρ_K = efecto del tamaño de la camada sobre el peso.
 e_{ijkl} = error experimental, distribuido normalmente (0, σ^2 e).

La sobrevivencia fue estimada como la diferencia en porcentaje entre el número de nacidos vivos y el número de gazapos destetados por camada.

Efectos genéticos: Modelo dialélico de los cruzamientos para estimar: heterosis individual y efectos maternos o capacidad materna, de acuerdo al siguiente modelo:

$$X_{ij} = \mu + \frac{1}{2} l_i + \frac{1}{2} l_j + m_{ij}$$

Dónde: μ = media de las líneas parentales; l_i = efecto aditivo directo de la línea i; l_j = efecto aditivo directo de la línea j; m_{ij} = efecto aditivo materno línea j; m_{ij} = heterosis del cruce i x j.

Los efectos maternos o capacidad materna (m) fueron calculados como la diferencia entre cruces cuando la raza i interviene como madre menos el desempeño materno de la raza j

$$m = \mu_{lj} - \mu_{li}$$

La heterosis individual (H) fue estimada como:

$$\% H = \frac{\mu F1 - \mu P}{\mu P} \times 100$$
 (Falconer & Mackay, 1996; Ruales *et al.* 2007).

Para la segunda generación, la heterosis materna (Hm) se estimó como:

$$\% Hm = \frac{\mu (F1 \times AZ) - \mu (P \times AZ)}{\mu (P \times AZ)} \times 100$$
 (Campos, 2004).

Dónde: F1, es el promedio de las cruzadas y P, es el promedio de las razas parentales puras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tamaño y sobrevivencia de la camada durante la cría: El modelo estadístico encontró, como fuentes significativas de variación, a los efectos paternos, maternos, grupo genético y tamaño de la camada; estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Piles *et al.* (2005).

El promedio de gazapos por hembra y por parto fue de 8,46 \pm 1,8, que fue superior al descrito por Vásquez *et al.* (2007), en la raza Nueva Zelanda, en la Sabana de Bogotá.

Se encontraron diferencias significativas en el tamaño de la camada y la sobrevivencia al destete; debido al grupo genético (Tabla 1) fueron superiores y sin diferencias entre ellos, las camadas de todos los grupos sobre el cruce de CAL x NZ, con promedio de 7,33 \pm 15 gazapos por hembra. No se encontraron interacciones entre las variables y tampoco diferencias entre las medias de las razas parentales y sus cruces en la sobrevivencia al destete. Entre grupos, se presentaron diferencias entre la raza California y el cruce NZ x CAL. Lukefahr *et al.* (2000) tampoco encontraron efectos del cruzamiento entre las razas Altex y NZ, sobre el tamaño de la camada al nacimiento y al destete.

Peso al destete: Presentó un promedio de 605,6 \pm 61,7g, que es similar con lo registrado por Vásquez *et al.* (2007), en gazapos de las razas Chinchilla y Nueva Zelanda, en condiciones ambientales y de manejo muy similares a las de esta investigación. Asimismo, concuerda con el promedio descrito por Ponce de León *et al.* (2002).

El análisis estadístico evidenció, como fuentes significativas de variación en el peso al destete, a los efectos de la raza materna y paterna, como también al grupo racial y al tamaño de la camada al destete (Tabla 1).

Tabla 1. Promedios del número de nacidos, sobrevivencia y peso al destete, en cruces terminales de tres razas.

Composición Racial	Número de Nacidos	Sobrevivencia (%)	Peso Destete (g)
CAL x CAL	9,25 ^a	94,4 ^a	569,3 ^c
NZ x NZ	8,75 ^a	91,8 ^a	653,7 ^b
CAL x NZ	7,33 ^b	94,8 ^a	654,7 ^b
NZ x CAL	9,10 ^a	89,7 ^b	717,5 ^a

Promedios con diferente letra en el superíndice presentan diferencias (P < 00.5).

Los gazapos con padres de la raza NZ alcanzaron, significativamente, mayor peso que las progenies, cuyo padre fue de la raza CAL, producto de los efectos aditivos de los machos NZ y de la heterosis individual en este carácter y de efectos maternos de la raza CAL, resultados también descritos por Larzul & Rochambeau (2005).

El número de gazapos nacidos vivos por camada afectó, significativamente, al peso individual al destete; se encontraron diferencias entre las camadas de 7 gazapos al nacimiento, que fueron las de mayor peso al destete, con relación a camadas de otros tamaños que, en este trabajo, estuvieron dis-

tribuidas en el rango de 5 a 11 gazapos al nacimiento, efecto también encontrado por García *et al.* (2008).

Los gazapos de mayor peso fueron del cruce NZ x CAL, con promedio de 717,5g; entre cruces recíprocos, se encontraron diferencias que pueden ser por efectos maternos y, posiblemente, a la habilidad combinatoria específica del cruce. Las crías de la raza California fueron, significativamente, las más livianas, en comparación con los demás grupos genéticos evaluados. La heterosis en el peso al destete fue positiva y con un valor de 12,24%.

Las diferencias significativas entre los cruces recíprocos pueden ser atribuidas a los efectos maternos de las razas (Tabla 2). Las hembras Californianas presentaron el mayor número de gazapos nacidos y el mayor peso al final de la lactancia, como también se presentaron en el estudio de Lukefahr *et al.* (2000).

Las hembras de la raza California fueron superiores a las Nueva Zelanda, en rasgos considerados como principales, para los sistemas de cría, como son el número de gazapos que llegan al destete y el peso al destete. La capacidad materna de CAL fue de 0,88 gazapos por camada y de 57,3g al destete, sobre la raza NZ.

Tabla 2. Efecto materno sobre el número de nacidos y el número de gazapos y peso al destete.

Raza Materna	Número de Nacidos	Sobrevivencia (%)	Peso Destete (g)
California	9,16 ^a	92,1 ^a	713,56 ^a
Nueva Zelanda	8,04 ^b	93,3 ^a	656,23 ^b
% Heterosis	-0,088	-0,91	12,2

Promedios con diferente letra en el superíndice presentan diferencias ($P < 00.5$).

Al destete llegaron más gazapos vivos de los grupos CAL y CAL x NZ, con un número significativamente superior a los otros grupos; la heterosis individual del peso al destete en los cruces fue de 12,2%, que se considera alta y de mayor impacto sobre la productividad en los sistemas de cría.

La heterosis encontrada para el total de nacidos vivos y su sobrevivencia durante la cría fue muy baja y negativa (Tabla 2), a diferencia de Brun & Baselga (2005) y de García *et al.* (2000b), quienes encontraron efectos positivos ocasionados por la heterosis y valores mayores al 6% de superioridad de los individuos cruzados.

El cruce NZ x CAL presentó una superioridad en el peso al destete del 26% con relación a sus razas parentales que, complementado con su tamaño de camada al nacimiento, lo muestra como el más productivo de los grupos genéticos evaluados.

Desempeño de hembras F1: Las hembras cruzadas F1, se desempeñaron como mejores madres, que las hembras de razas puras, a las que superaron en el total de gazapos destetados y en sus respectivos pesos (Tabla 3). El número de nacidos por camada fue causa de variación significativa en el peso individual al nacimiento y destete; los mayores pesos correspondieron con las camadas comprendidas entre 6 y 9 gazapos al nacimiento.

En el análisis de varianza fueron causa significativa de variación sobre el peso al destete, el número de nacidos y destetados, el grupo genético y los efectos maternos. El promedio en el número de nacidos vivos de las hembras F1 apareadas a la raza Azul de Viena no presentó diferencias estadísticas, con el de las hembras puras.

Los valores positivos de heterosis hallados para tamaño de camada y sobrevivencia fueron menores a los registrados por

Tabla 3. Desempeño de hembras F1, expresado en promedios del número de nacidos, sobrevivencia y peso al destete.

Composición Racial	Número de Nacidos	Sobrevivencia (%)	Peso Destete (g)
AZ x (CAL x CAL)	9,12 ^a	87,8 ^b	689,3 ^b
AZ x (NZ x NZ)	8,5 ^b	90,4 ^{ab}	665,7 ^b
AZ x(CAL x NZ)	8,3 ^b	92,2 ^a	715,7 ^a
AZ x (NZ x CAL)	9,6 ^a	94,6 ^a	671,5 ^b
Heterosis Materna	1,7	4,82	2,78

Promedios con diferente letra en el superíndice presentan diferencias ($P < 00.5$)

Brun & Baselga (2005), para hembras de líneas artificiales y similares a los estimados por García *et al.* (2013), en hembras cruzadas, de las razas presentes en esta investigación.

Las variables de sobrevivencia y de peso al destete en los gazapos de hembras cruzadas F1 fueron significativas, con heterosis maternas de 4,82 y 2,78%, respectivamente (Tabla 3). El cruce de machos Azul de Viena en hembras NZ x CAL mostró ventajas sobre los demás cruces y efectos de complementación, que se presentaron entre las variables número de nacidos y sobrevivencia, con promedio de 9,1 gazapos al destete y aun cuando el peso promedio al destete de este cruce fue menor a otros cruces (Tabla 3), como súper carácter produce 6,12 kilogramos de gazapos en pie por hembra, que lo hacen más productivo, que los otros cruces estudiados.

Agradecimientos: Esta investigación fue financiada por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado por el autor quien declara que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ANTONINI, A.G.; CORDIVIOLA, C. 2010. Mejoramiento genético en conejos para carne. *J. Basic Appl. Genetics*. 21:2-7.
2. BASELGA, M. 2004. Genetic improvement of meat rabbits. Programs and diffusion. Proc. 8th World Rabbit Congress, Puebla México. 13p.
3. BLASCO, A. 2002. La mejora genética del conejo en España en los últimos 25 años. XXVII Simposium de Cunicultura, 21-24 Mayo 2002. Reus (España). 21p.
4. BLUMETTO, O. 2007 Guía para el manejo de líneas genéticas de alto potencial en conejos para carne. Ed. Hemisferio Sur. 124p.
5. BRUN, J.M.; BASELGA, M. 2005. Analysis of reproductive performances during the formation of a rabbit synthetic strain. *World Rabbit Sci.* 13:237-250.
6. CAMPOS, J. 2004. Melhoramiento genético aplicado à produção animal. FEPMVZ. Belo Horizonte. 609p.
7. CHEEKE, P.R.; PATTON, M. 2003. Potentials of rabbit production in tropical and subtropical agricultural systems. *J. Anim. Sc.* 63:1581-1586.
8. FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. 1996. Introduction to quantitative genetics. 4th Edition, Prentice Hall, Longman Group Limited. 469p.
9. FAO. 2003. World agriculture towards 2015/2030. An FAO perspective. Ed. J. Brunsima. London. 511p.
10. GARCÍA, Y.; PONCE DE LEÓN, R.; GÚZMÁN, G. 2008. Fuentes genéticas de variación que influyen en la fertilidad y en rasgos del nacimiento. *Rev. Cubana Cienc. Agr.* 42(4):341-345.
11. GARCÍA, Y.; PONCE DE LEÓN, R.; GÚZMÁN, G. 2013. Efectos aditivos directos maternos y heterosis en rasgos de prolificidad al nacer en conejos. *Rev. Cubana Cienc. Agr.* 47(4):335-340.
12. GARCÍA, M.L.; BASELGA, M.; LAVARA, R.; LAVARA, F.; VICENTE, J.S. 2000a. Reproductive characters in crossbreeding among three maternal lines of rabbits. VII World Rabbit Congress, A. Julio 2000. Valencia. España. p.397-402.
13. GARCÍA, M.L.; BASELGA, M.; VICENTE, J.S.; LAVARA, R. 2000b. Selection response on reproductive characters in a maternal line of rabbits. VII World Rabbit Congress, A: Julio 2000. Valencia. España. p.381-387.
14. JAKUBEC, V.; HYANEK, J. 1982. Quantitative analysis of components of hybridization. *Livestock Prod. Sc.* 9:639-351.
15. LARZÚL, C.; ROCHAMBEAU, H. 2005. Selection for residual feed consumption in the rabbit. *Livestock Prod. Sc.* 95:67-72.
16. LIKEFAHR, S.D.; NKWOCHA, H.I.; NJAKOH, H.; TAWAH, E.; AKOB, J.M.; KONGYU, F.A.; NJWE, R.M.; GÜDAHL, D. 2000. Present status of the Heifer Project International – Cameroon Rabbit Programme: Back to the future. *World Rabbit Sci.* 8:75-83.
17. MATICS, Z.S.; NAGY, I.; GERENCSÉR, Z.S.; RADNAI, I.; GYOVAI, P.; DONKÓ, T. 2014. Pannon breeding program in rabbit at Kaposvár University. *World Rabbit Sci.* 22(4):287-300.
18. PILES, M.; RAFEL, O.; RAMON, J.; VARONA, L. 2005. Genetic parameters of fertility in two lines of rabbits with different reproductive potential. *J. Anim. Sci.* 83:340-343.

19. PONCE DE LEÓN, R.; GUZMÁN, G.; QUESADA, M. 2002. Crecimiento y Eficiencia Alimentaria de cuatro razas de conejos. *Rev. Cubana Cienc. Agr.* 36(1):7-14
20. RAGAB, M.; BASELGA, M. 2011. A comparison of reproductive traits of four maternal lines of rabbits selected for litter size at weaning and founded on different criteria. *Livestock Sci.* 136(2):201-206.
21. RAGAB, M.; SÁNCHEZ, J.P.; MÍNGUEZ, C.; VICENTE, J.S.; BASELGA, M. 2014. Litter size components in a full diallel cross of four maternal lines of rabbits. *J. Animal Sci.* 92(8):1-6.
22. RUALES, F.R.; MANRIQUE, C.; CERÓN, M. 2007. Fundamentos en mejora genética animal. Ed. Medellín Colombia: L. Vieco e hijas Editores. 208p.
23. SAS/STAT. 2007. Manual of users guide statistics. Version 6. SAS Institute Inc. Cary, NC, U.S.A.
24. SAVIETTO, D.; CERVERA, C.; RÓDENAS, L.; MARTÍNEZ, P.E.; BASELGA, M.; GARCÍA, D.F. 2014. Different resource allocation strategies result from selection for litter size at weaning in rabbits. *Int. J. Animal Biosci.* 8(4):618-628.
25. SORHUE, U.G.; MMEREOLE, F.U.C.; IRIKEFE-EKEKE, E.P.; NWAKWO, S.U. 2014. Genetic analysis of some economic traits in a composite breed of domestic rabbits reared in a tropical environment. *Nigerian J. Genetics.* 28(2):34-37.
26. VÁSQUEZ, R.; MARTÍNEZ, R.; MANRIQUE, C.; RODRÍGUEZ, Y. 2007. Evaluación genética del comportamiento productivo y reproductivo en núcleos de Conejos de las razas Nueva Zelanda y Chinchilla. *Rev. Corpoica, Ciencia y Tecnología Agropecuaria.* 8(1):69-74.
27. ZEFERINO, C.P.; MOURA, A.S.; FERNANDES, S.; KANAYAMA, J.S.; SCAPINELLO, C.; SARTORI, J.R. 2011. Genetic group x ambient temperature interaction effects on physiological responses and growth performance of rabbits. *Livestock Sc.* 140:177-183.

Recibido: Noviembre 9 de 2015

Aceptado: Mayo 19 de 2016

Cómo citar.

Gallego, F. 2016. Efectos del cruzamiento entre las razas de conejos Nueva Zelanda y California sobre caracteres de la camada al destete. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 115-121.

ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS PARA PESO Y TALLA A DIFERENTES EDADES EN YAMÚ (*Brycon amazonicus*)

ESTIMATION OF GENETIC PARAMETERS FOR BODY WEIGHTS AND LENGTH TO DIFFERENT AGES IN YAMU (*Brycon amazonicus*)

Felipe Bernal¹, Fernando Gallego²

¹Zootecnista. cMSc, Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos –GRITOX-, Instituto de Acuicultura –IALL-, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia, e-mail: gebernal@udca.edu.co; ²Zootecnista, Ph.D., Profesor Titular, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Bogotá, Colombia, e-mail: fgallego@udca.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 123-130, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Dado que la finalidad de los programas de mejora genética es manipular la frecuencia de los genes que intervienen en la expresión de una característica, es importante comprender los cambios asociados que ocurren en otros caracteres, debido a la selección y en qué medida se transmiten a la descendencia. El presente estudio reporta, por primera vez en yamú (*Brycon amazonicus*), la estimación de parámetros genéticos, para las variables peso y talla, a los 25, 40 y 55 días post-eclosión. Un total de 900 progenies de la reproducción de seis parejas, fueron analizadas por medio del paquete estadístico SAS 9,3 (SAS Institute). Se asumió un modelo lineal general, con inclusión de los efectos fijos, como factores de entorno y los efectos aleatorios, como factores genéticos. Para estimar los componentes de varianza y covarianza, se utilizó el procedimiento VARCOMP, bajo el método de máxima verosimilitud restringida (REML). La heredabilidad promedio estimada para peso fue $0,37 \pm 0,22$ y $0,58 \pm 0,30$, para talla. La correlación genética y fenotípica entre peso y talla fue positiva, en promedio $0,39 \pm 0,19$ y $0,55 \pm 0,14$, respectivamente. La correlación para peso y talla fue positiva e incremental en función de la edad. Estos resultados sugieren que la selección directamente por talla sobre los 55 días post-eclosión, incrementará también el peso indirectamente. Este estudio destaca el potencial genético para mejorar la industria del yamú, una vez se avance en las áreas de morfo-fisiología, nutrición, reproducción y sanidad de la especie.

Palabras clave: Reofílico, heredabilidad, correlación genética y fenotípica, máxima verosimilitud restringida.

SUMMARY

Since the purpose of breeding programs is to manipulate the frequency of genes involved in the expression of a characteristic it is important to understand the associated changes that occur in other characters due to the selection and to what extent they are transmitted to the progeny. The present study reports for the first time in yamú (*Brycon amazonicus*), an estimation of genetic parameters for the variables weight and height at 25, 40 and 55 days post-hatch. A total of 900 progenies of six couples were analyzed using the statistical package SAS 9.3 (SAS Institute). A general linear model including the fixed effects of environmental factors and genetic factors as random effects were assumed. To estimate the components of variance and covariance the VARCOMP procedure was used under the restricted maximum likelihood method (REML). The average weight estimated heritability was 0.37 ± 0.22 and 0.58 ± 0.30 for size. Genetic and phenotypic correlation between weight and height was positive on average 0.39 ± 0.19 and 0.55 ± 0.14 , respectively. The correlation for height and weight was positive and increasing, depending on age. These results suggest that direct selection by size at around 55 days post-hatch, will also increase the weight indirectly. This study highlights the genetic potential to improve yamú industry, once progress is made in the areas of morpho-physiology, nutrition, reproduction and health of the species.

Key words: Rheophilous, heritability, genetic and phenotypic correlation, restricted maximum likelihood.

INTRODUCCIÓN

El yamú (*Brycon amazonicus*) es un pez reofilico, nativo de Brasil, de Colombia, de Guyana y de Perú, muy extendido en el oeste de la cuenca del río Amazonas, el río Orinoco y el río Essequibo de Guyana. Es de excelente calidad de carne, rápido crecimiento y demanda en aumento, de acuerdo con Arias (2006).

Esta especie ha brindado, desde sus inicios, una excelente alternativa para los productores; sin embargo, el yamú no ha logrado posicionarse comercialmente, puesto que aun representa menos del 4% de la actividad piscícola, de acuerdo con los reportes de Merino *et al.* (2013), debido a múltiples factores productivos como: la larvicultura y el alevinaje, donde el canibalismo es muy acentuado, según de Souza *et al.* (2014); la nutrición, donde se requiere de investigaciones que acerquen a sus requerimientos, como afirma Urbinati *et al.* (2014); los reproductivos, de igual forma, requieren atención, para romper la obtención de semilla bianual, lo que ha generado una producción inconstante durante todo el año, de acuerdo con Zanuzzo *et al.* (2015); asimismo, Arias (2006) resalta la importancia de las investigaciones en el área de la genética aplicada, como uno de los factores más urgentes y esenciales, no solo para el desarrollo y mejoramiento genético de la especie, sino para el de la piscicultura continental, buscando, de esta manera, conformar e impulsar los primeros eslabones necesarios para el fortalecimiento de la cadena productiva, que conforma una gran parte de la población de piscicultores de la familia Bryconidae, tratando de involucrar a muchos expertos en el tema del progreso de esta especie y, de este modo, generar empleo y desarrollo socioeconómico, no solo en los piscicultores, sino en la sociedad en general.

En este sentido, encaminar este sector, con base en el conocimiento genético de las especies nativas, como el yamú, Gjedrem (2012) explica que, dado que la genética de cualquier carácter métrico gira en torno al estudio de su variación y que son éstas las que permiten que la población cambie genéticamente, en la dirección deseada, como resultado del proceso de selección; por lo tanto, Gallego (2001) reitera la necesidad de conocer en qué medida la varianza fenotípica es explicada por la varianza debida a los genes, su evolución con la edad de los animales y la correlación genética en aquellas especies y características de interés.

De acuerdo a lo anterior, este estudio tuvo como objetivo estimar la heredabilidad, la correlación genética y fenotípica, para las variables peso y talla, a edades tempranas de desarrollo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La fase experimental, se llevó a cabo en la empresa Langostinos del Llano Ltda., ubicada en la vereda Caney Medio, en el municipio de Restrepo, departamento del Meta, cuyas coordenadas son 4°16' 8" de latitud Norte y 73° 32' 55" de latitud Este, a 18 kilómetros de la vía que conduce de la ciudad de Villavicencio, al municipio de Cumaral. La finca cuenta con una extensión de 9 hectáreas, se encuentra a 450 metros sobre el nivel del mar, temperatura media anual de 26°C, que puede variar de 17 a 34,4°C, una humedad relativa promedio de 83%, que puede llegar hasta 93% en época de lluvia y 56% en época seca y una precipitación anual promedio de 5062mm.

Para la obtención del material experimental, se utilizó el modelo de parejas de apareamientos simples, descrito por Campos (2004), que se refiere a su uso en animales múltiparos. El modelo de 6 familias de hermanos completos fue conformado por seis parejas de 6 machos y 6 hembras de reproductores independientes y excluyentes, provenientes de la misma empresa, nacidos y criados bajo condiciones de cautiverio.

Los parentales, se reprodujeron por inducción hormonal, bajo los criterios descritos por Daza *et al.* (2005). Debido a que no se utilizó ningún tipo de identificación, una vez obtenidas las familias, fueron mantenidas separadamente en estanques en tierra, hasta alcanzar la talla de 2,5cm, a una edad de $13 \pm 1,5$ días; luego, fueron capturados y dispuestos separadamente en piletas rectangulares, a una densidad no mayor a 0,25 animales por litro, durante cuatro días; posteriormente, se seleccionaron 150 individuos de talla homogénea, para cada una de las 6 familias; cada una de estas fue dividida en dos tanques de manera aleatoria, para un total de 12 tanques, 2 por familia y 900 animales utilizados. Les fue brindado un periodo de adaptación de $7 \pm 1,5$ días en las condiciones experimentales, para así darles la posibilidad a los peces para expresar su tasa de crecimiento, al inicio del primer pesaje.

El periodo experimental, se desarrolló en un recinto aislado, bajo condiciones de laboratorio, provisto de un aireador, que permitió el control y la estabilidad de la concentración de oxígeno disuelto, temperatura y calidad de agua y tanques de polipropileno, con capacidad de 500L. Inicialmente, fueron limpiados y desinfectados, dentro de las instalaciones, todos los elementos que tendrían contacto con los animales, como tanques, tapas, tuberías, llaves y piedras difusoras.

Los pesajes, se realizaron en una balanza electrónica analítica de precisión, desde 0,0001g, de marca SARTORIUS BASICPLUS, modelo BP 221C y para las mediciones de talla, se utilizó un ictiómetro, con indicadores cada 1mm.

La alimentación, se basó en cuatro fases, como se muestra en la tabla 1. La transición de una a otra, se realizó cuando al menos una de las unidades experimentales, de cualquier grupo familiar, lograra entrar en el siguiente rango de peso. El alimento tuvo 45% de proteína bruta y la frecuencia alimenticia fue de cuatro veces al día. En las dos primeras fases, el alimento fue pulverizado, después se ofreció peletizado y de un tamaño fácilmente consumible.

En cuanto a la calidad del agua, a diario se registró su temperatura, utilizando un termómetro digital MARTINI® instruments EC59. Semanalmente, se efectuaron determinaciones de oxígeno disuelto, pH, amonio, dureza y alcalinidad, mediante Kit comercial Kit Hach FF1-A® - Hach Company.

Los pesajes y las mediciones de longitud total de los individuos, se verificaron cada 15 días, a partir de la primera

Tabla 1. Alimentación por fases de crecimiento y consumo promedio durante el estudio.

Peso promedio (g)	Edad/días	Gramos/Pez /Día	Consumo (g)
0,356 – 0,95	25	0,0783	0,626
1,0 – 2,584	41	0,2153	1,722
2,65 – 4,00	49	0,3657	2,925
4,10 – 6,00	57	0,505	4,04

(Vásquez, 2004)

toma de datos de la muestra piloto; para la realización de estos procedimientos, los peces fueron atrapados en redes y anestesiados, usando una solución de benzocaína a 50ppm, reportada por Velasco-Santamaría *et al.* (2008). El número de peces muestreados por cada familia fue de 14, sumado por los dos tanques dispuestos por familia; este tamaño de muestra fue establecido al inicio del estudio, siguiendo la metodología propuesta por McDonald (2008), utilizando la expresión $n = 1/((E/(t*CV))^2 + (1/N))$, donde n, es el tamaño de la muestra; E, el porcentaje de error que se quiere asumir; t, es el valor tabulado de t con n-1 grados de libertad (n = número de mediciones en una muestra piloto) y un nivel de significancia (α); CV, es el coeficiente de variación observado en la muestra piloto y N, el tamaño de la población; para ello, se asumió un 5% de error y un coeficiente de variación de 22%, el cual, fue determinado mediante la muestra piloto de 40 individuos de cada grupo de apareamiento, es decir, 20 de cada tanque. Esta muestra piloto no se utilizó posteriormente en el estudio, debido a que está demostrado, en anteriores investigaciones reportadas por Maluwa & Gjerde (2006) y Vine *et al.* (2004), que los animales sufren un elevado estrés, incrementando la varianza del error en el modelo. Diariamente fue registrado el número de animales muertos en cada tanque y ajustado el nivel de la columna de agua, para garantizar la misma densidad de animales por volumen de agua, en todos los tratamientos.

Para el análisis de los datos obtenidos durante el desarrollo del estudio, se utilizó el paquete estadístico SAS 9,3 (SAS Institute). Las diferencias se consideraron significativas, si $P < 0,05$ y no significativas, cuando $P > 0,05$. La homogeneidad de la varianza en la prueba piloto fue comprobada mediante el estadístico Levene's F-test, con el procedimiento ANAVA. Las variables fueron sujetas al análisis de varianza

usando el procedimiento GLM. La normalidad fue verificada por la prueba de Kolmogorov-Smirnov, con el procedimiento UNIVARIATE, que se usó también para calcular los estadísticos descriptivos de las variables. Para estimar los componentes de varianza y de covarianza, se utilizó el procedimiento VARCOMP, para modelos mixtos PROC MIXED, con el método de máxima verosimilitud restringida (REML). El modelo usado fue similar al empleado por García-Celdrán *et al.* (2015), donde se asumió un modelo lineal general con inclusión de los efectos fijos ambientales, como edad, época, alimentación, condiciones de laboratorio y el efecto genético como aleatorio, así: $Y = X\beta + Z\mu + e$, donde Y, fue el dato registrado para la característica de estudio; β , el efecto fijo: ambiente controlado y μ , el efecto aleatorio: factores genéticos, debidos al agrupamiento de hermanos completos. Las magnitudes de la estimación de la heredabilidad fueron interpretadas siguiendo la clasificación de Cardellino & Rovira (1987), como: baja 0,05 – 0,19; media 0,20 – 0,44; alta 0,45 – 0,64 y muy alta $> 0,65$. La correlación fue clasificada como: baja 0,0 – 0,44; media 0,45 – 0,59 y alta 0,60 – 1,0. Las heredabilidad y correlaciones fueron estimadas siguiendo la metodología de apareamientos simples, propuesta por Becker (1975).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para los parámetros de calidad de agua, la temperatura promedio fue de $25,7 \pm 0,8^\circ\text{C}$ durante el día, con un nivel de confianza del 95%; los demás parámetros evaluados estuvieron constantes durante todo el estudio. El pH estuvo en 7,0, la alcalinidad en 34,2mg/L, la dureza en 17,1mg/L y la concentración de oxígeno disuelto en 90g/L.

Los datos obtenidos muestran que el estudio se mantuvo dentro de las condiciones adecuadas para cultivo de peces

dulceacuícolas, de acuerdo con Zaniboni-Filho *et al.* (2006) y según lo reportado por Sipaúba-Tavares *et al.* (2008) en un estudio con *Brycon orbignyianus*, demostrando un rendimiento apropiado en ambientes de cultivo, con características de calidad de agua, que comprenden temperaturas entre los 23 y 30°C, con mejores rendimientos entre 25 y 28°C, pH entre 6,0 y 7,5, concentración de oxígeno disuelto superior a 4,5mg/L y dureza <200 CaCO₃ mg /L.

Por otra parte, las condiciones de laboratorio permitieron un mejor control de las características del agua y del estado sanitario de los animales; se realizaron recambios con una frecuencia de dos veces por semana de máximo 30% de la columna del agua, durante toda la etapa experimental, para que no se vieran afectados las condiciones del agua y el rendimiento de los animales.

Para las características de crecimiento, como peso y talla, la tabla 2 describe las variables de crecimiento, a 25, 40 y 55 días. Se comprobó la normalidad de los datos utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($P > 0.05$), a excepción para los 25 días, que se rechazó este modelo probabilístico ($P < 0.01$). La homogeneidad fue aceptada para peso en todas las edades ($P > 0.05$) y rechazada para talla ($P < 0.01$).

Debido a la robustez del ANAVA frente al supuesto de normalidad, no se realizó transformación de la información, pese a obtener un $P < 0.01$, a los 25 días. El coeficiente de variación

indicó que animales más jóvenes tienen mayor variabilidad en el peso que en la talla.

Así como se esperaba, el análisis de varianza explicó, de mejor manera, el modelo a los 40 y 55 días ($R^2 > 0.3$). La prueba de homoscedasticidad ayudó a entender la variación de estas características, mostrando diferencia en las variables, indicando, desde el principio, que para la variable peso, existe una menor varianza entre las familias, lo que significa una menor magnitud de heredabilidad en la estimación respecto de la variable talla, la cual, mostró una mayor variabilidad y heteroscedasticidad de sus varianzas entre las familias (Caballero *et al.* 2003).

La estimación de heredabilidad, correlación genética y fenotípica para peso y talla, es presentada en la tabla 3. El rango de la estimación para heredabilidad fue de 0,04 a 0,58, para peso y de 0,30 a 0,77, para talla, valores similares a lo reportado por Charo-Karisa *et al.* (2007), en tilapia nilótica, para talla entre 0,40 – 0,60 y también valores más altos para talla que para peso; en general, estas estimas estuvieron en una magnitud similar al rango reportado para otras especies acuícolas, que van de 0,10 a 0,34, aplicando REML, bajo la metodología de modelos mixtos para peso a diferentes edades (Gjedrem, 2012).

A pesar de que la heredabilidad –en este estudio- estuvo en rangos similares a los reportados para otras especies,

Tabla 2. Peso corporal y talla presentados como media ± desviación estándar, a diferentes edades en yamú (*Brycon amazonicus*).

Días post- eclosión	Peso (g)		Talla (cm)	
	μ	CV	μ	CV
25	0,52±0,11	21,97	3,38±0,25	7,13
40	1,50±0,38	21,94	5,00±0,49	8,20
55	5,26±0,75	12,71	7,60±0,49	5,27

Coefficiente de variación (CV)

Tabla 3. Heredabilidades resaltadas en la diagonal (Media ± Desviación estándar), correlación genética (bajo la diagonal) y correlación fenotípica (sobre la diagonal), entre peso corporal y talla (longitud total), en yamú a diferentes edades.

	Peso ₂₅	Talla ₂₅	Peso ₄₀	Talla ₄₀	Peso ₅₅	Talla ₅₅
Peso ₂₅	0,04±0,06	0,44±0,16	0,45±0,25	0,49±0,11	0,39±0,19	0,52±0,18
Talla ₂₅	0,07±0,13	0,30±0,22	0,53±0,21	0,51±0,15	0,54±0,22	0,52±0,26
Peso ₄₀	0,29±0,25	0,18±0,29	0,58±0,31	0,69±0,17	0,45±0,25	0,63±0,20
Talla ₄₀	0,25±0,19	0,41±0,15	0,44±0,06	0,68±0,33	0,69±0,23	0,95±0,27
Peso ₅₅	0,32±0,24	0,48±0,11	0,33±0,21	0,56±0,14	0,50±0,29	0,75±0,18
Talla ₅₅	0,33±0,15	0,43±0,09	0,26±0,25	0,82±0,26	0,68±0,16	0,77±0,34

se identificó un ligero aumento en las magnitudes a mayor edad, debido, posiblemente, a que los componentes genéticos están en función de las frecuencias genéticas y pueden diferir de una población a otra. Según Nguyen *et al.* (2012) es de esperar que poblaciones de censo reducido, que han perdurado durante un tiempo, lo suficientemente largo como para alcanzar un grado considerable de fijación, muestren heredabilidades menores, que las de censo elevado, como algunas especies nativas.

Las correlaciones genéticas y fenotípicas entre peso y talla fueron muy variables, de 0,07 a 0,68 y de 0,44 a 0,75, respectivamente; estas fueron incrementando su magnitud respecto aumentaba la edad, debido a factores ambientales, efectos familiares que fueron disminuyendo progresivamente con la edad y, a su vez, posiblemente, a que la especie no ha sufrido manipulación de selección para estos caracteres, lo cual, puede significar que existe a edades tempranas un grupo mayor de genes que intervienen en sus expresiones, disminuyendo su herencia correlacionada (Campos, 2004). Debido a que la magnitud de las correlaciones entre características de crecimiento son muy importantes en el orden de los parámetros genéticos para tomar decisiones en los procesos de selección genética, los resultados obtenidos, en este estudio, sugieren que la pretensión de seleccionar a edades avanzadas para aumento de longitud, con el propósito de elevar indirectamente el peso, es una alternativa justificable, máxime en condiciones de campo, cuando no está disponible una balanza de precisión y tiene un bajo coeficiente de variación; por consiguiente, es más reiterado la variable peso, lo que indica mayores posibilidades en la intensidad de selección. Una observación similar fue hecha por Navarro *et al.* (2009a).

De igual manera, las correlaciones entre peso y talla son estimaciones constantes entre especies, mostrando valores generalmente altos y positivos, como los encontrados por Haffray *et al.* (2014) y Whatmore *et al.* (2013), en un estudio con cola amarilla (*Seriola lalandi*), que reporta para peso y longitud una correlación genética de $0,57 \pm 0,28$. Asimismo, Navarro *et al.* (2009b), en dorada (*Sparus auratus*), reporta las correlaciones estimadas entre las variables peso y talla a diferentes edades, de 0,96 a 0,99, para diferentes edades evaluadas; sin embargo, en el presente estudio, estas no fueron significativamente importantes a la edad de 25 días, a excepción de la correlación entre las dos variables a los 40 y 55 días, que fueron cercanas a 1 y que, posiblemente continúen hasta el tiempo de cosecha.

Por otra parte, en cuanto a las correlaciones genéticas y fenotípicas entre edades para peso fueron de 0,29 a 0,33 y de 0,39 a 0,75, respectivamente; para talla, de 0,41 a 0,82 y de 0,51 a 0,95, respectivamente, datos que, según Vandeputte *et al.* (2008), representan importancia, desde que permita

tomar una decisión sobre la preselección a edades tempranas, dependiendo de sus magnitudes; no obstante, las correlaciones genéticas entre peso o talla a distintas edades son bajas, aproximadamente, entre 0,3 y 0,5, para diferentes especies. Estudios de correlación genética entre peso corporal a diferentes edades en tilapia nilótica, han demostrado magnitudes mayores, que van de 0,65 a 1 (Turra *et al.* 2012) y que van en concordancia con los resultados obtenidos en el presente estudio.

En general, las correlaciones, tanto genéticas como fenotípicas entre peso y talla y entre variables a edades diferentes, fueron incrementándose, conforme se acrecentaba la edad; valores que sugieren que seleccionar a tempranos estados de desarrollo no es apropiado. Se podría obtener mayores pesos a edades avanzadas, como una respuesta correlacionada a la selección para peso a los 55 días de edad, incluso, considerando la baja estimación de la heredabilidad al comienzo del periodo de crecimiento, aunque fue incremental en función de la edad. Esta apreciación fue acorde a lo discutido por Turra *et al.* (2012), mencionando que podrían ser obtenidas mayores respuestas a la selección, cuando se realizaba a los 60 días de edad.

Para el análisis de los componentes de covarianza, el efecto promedio de talla, como variable principal y la variable peso, como covariable, mostró una mejor relación y respuesta en el análisis; un similar comportamiento se observó en estudio reportado por Eknath *et al.* (2007), en cuanto a las magnitudes: la correlación fenotípica fue siempre superior a la correlación genética. Las estimaciones del presente estudio pueden ser útiles en la construcción de índices de selección para la especie, si así se requiere, índices que pueden ser utilizados en programas de mejoramiento genético de especies acuícolas.

Para los efectos ambientales temporales o permanentes de los parentales que, generalmente están incluidos en la estimación de parámetros genéticos, se consideró disminuir dichos efectos del error en el modelo, para lo cual, se reprodujeron animales que tenían edades similares de reproducción, igual cantidad de desoves y sin parentesco alguno. En las progenies, no se consideró diferencia atribuible al sexo, por no existir dimorfismo en la especie. Además, los desoves fueron acordes con otros reportados, asegurando estimaciones en condiciones normales de producción.

En cuanto a la exactitud, es decir, menor desviación estándar de los parámetros genéticos depende de la cantidad de familias y no de la cantidad de progenies por familia y que la magnitud de la heredabilidad, usando datos de hermanos completos, como en este estudio, generalmente, es más alta que aquellos usando datos de hermanos medios; se debe tener cuidado en la interpretación de los datos, dando espacio a otros estudios similares, con los que se pueda contrastar.

Como se ha mencionado, en especies como tilapia nilótica, (*Oreochromis niloticus*), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), salmón atlántico (*Salmo salar*), salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), carpa común (*Cyprinus carpio*), catfish (*Ictalurus punctatus*), rohu (*Labeo rohita*) y dorada (*Sparus auratus* L.), han sido implementados programas de mejoramiento con éxito, según lo describe Gjedrem *et al.* (2012), logrando importantes ganancias genéticas, para características de crecimiento, de producto final y de calidad; es por ello, que para establecer programas similares en yamú es necesario conocer la variación genética de características de interés comercial.

El estudio demostró, aun con limitaciones por el bajo número de familias obtenidas, que es posible estimar parámetros genéticos, para características de crecimiento en yamú.

Los parámetros genéticos estimados para peso y talla incrementaron, progresivamente, con la edad durante el periodo de estudio, quizás como resultado de una reducción gradual en la varianza de los efectos familiares. La correlación genética entre peso o talla, a diferentes edades del mismo individuo, sugiere una posible respuesta de selección correlacionada, a través del aumento en el periodo de crecimiento. Los resultados del estudio indican esperanzas para el fortalecimiento del conocimiento genético, no solo del yamú, sino también de otras especies del género *Brycon*, que puedan merecer un estudio similar. Además, se destaca el potencial de la industria del yamú, para mejorar estas características de crecimiento y de producción, no solo a través del manejo, sino de la explotación de la variación genética, una vez se avance en las áreas de la nutrición, la reproducción y la sanidad de la especie. Los resultados del estudio se deben interpretar cuidadosamente, puesto que no se sabe si la expresión de las características de crecimiento evaluadas, fuera del rango de edad del estudio, están influenciadas, en parte, por un grupo diferente de genes.

Conflicto de interés: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de interés que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARIAS, J.A. 2006. Estado actual del conocimiento sobre el yamú, *Brycon amazonicus*. Rev. Col. Ciencias Pec. 19(2):125-133.
2. BECKER, W.A. 1975. Manual of Quantitative Genetics. Ed. Washington State University (Pullman, Washington). 240p.
3. CABALLERO, J.G.; PABLO, E.J.; MARTÍNEZ, C.C. 2003. Estimación por máxima verosimilitud restringida de componentes de varianza y covarianza de múltiples características bajo los diseños I y II de Carolina del Norte. Fitotecnia Mexicana. 26(1):53-66.
4. CAMPOS, J.C. 2004. Melhoramento genético aplicado à produção animal. Ed. FEPMVZ (Belo Horizonte). 607p.
5. CARDELLINO, R.; ROVIRA, J. 1987. Mejoramiento Genético Animal Montevideo. Ed. Agropecuária Hemisfério Sur (Uruguay). 253p.
6. CHARO-KARISA, H.; BOVENHUIS, H.; REZK, M.A.; PONZONI, R.W.; VAN ARENDONK, J.A.M.; KOMEN, H. 2007. Phenotypic and genetic parameters for body measurements, reproductive traits and gut length of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) selected for growth in low-input earthen ponds. Aquaculture. 273(1):15-23.
7. DAZA, P.V.; LANDINES, M.A.; SANABRIA, A.I. 2005. Reproducción de peces en el trópico. Ed. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) (Bogotá, Colombia). 246p.
8. DE SOUZA, E.C.M.; DA SILVA, J.P.; VILLACORTA-CORREA, M.A.; CARVALHO, T.B. 2014. Aggressiveness and locomotion activity related to hatching time in Matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). Appl. Animal Behaviour Sci. 157:146-151.
9. EKNATH, A.E.; BENTSEN, H.B.; PONZONI, R.W.; RYE, M.; NGUYEN, N.H.; THODESEN, J.; GJERDE, B. 2007. Genetic improvement of farmed tilapias: Composition and genetic parameters of a synthetic base population of *Oreochromis niloticus* for selective breeding. Aquaculture. 273(1):1-14.
10. GALLEGO, F. 2001. Mejoramiento Genético en Acuicultura. En: Rodríguez, H., Daza, P.; Carrillo, M. (eds). Fundamentos de la Acuicultura Continental. Ed. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural-Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura-INPA (Bogotá, Colombia), p.245-252.
11. GARCÍA-CELDRÁN, M.; RAMIS, G.; MANCHADO, M.; ESTÉVEZ, A.; NAVARRO, A.; ARMERO, E. 2015. Estimates of heritabilities and genetic correlations of raw flesh quality traits in a reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) population sourced from broodstocks along the Spanish coasts. Aquaculture. 446:181-186.

12. GJEDREM, T. 2012. Genetic improvement for the development of efficient global aquaculture: A personal opinion review. *Aquaculture*. 344-349(0):12-22.
13. GJEDREM, T.; ROBINSON, N.; RYE, M. 2012. The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: A review. *Aquaculture*. 350-353(0):117-129.
14. HAFFRAY, P.; BUGEON, J.; RIVARD, Q.; QUITTET, B.; PUYO, S.; ALLAMELOU, J.M.; VANDEPUTTE, M.; DUPONT-NIVET, M. 2014. Reprint of: Genetic parameters of in-vivo prediction of carcass, head and fillet yields by internal ultrasound and 2D external imagery in large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 420-421, Supplement 1:S134-S142.
15. MALUWA, A.O.; GJERDE, B. 2006. Estimates of the strain additive, maternal and heterosis genetic effects for harvest body weight of an F2 generation of *Oreochromis shiranus*. *Aquaculture*. 259(1-4):38-46.
16. MCDONALD, J.H. 2008. *Hand Book of Biological Statistics*. Ed. Sparky (Baltimore, Maryland). 287p.
17. MERINO, M.; BONILLA, S.; BAGES, F. - ACINAP-FAO-Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2013. *Diagnóstico del estado de la acuicultura en Colombia*. Bogotá, Colombia. 160p. ISBN:978-958-57974-0-6.
18. NAVARRO, A.; ZAMORANO, M.J.; HILDEBRANDT, S.; GINÉS, R.; AGUILERA, C.; AFONSO, J.M. 2009a. Estimates of heritabilities and genetic correlations for body composition traits and $G \times E$ interactions, in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.). *Aquaculture*. 295(3-4):183-187.
19. NAVARRO, A.; ZAMORANO, M.J.; HILDEBRANDT, S.; GINÉS, R.; AGUILERA, C.; AFONSO, J.M. 2009b. Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and carcass traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), under industrial conditions. *Aquaculture*. 289(3-4):225-230.
20. NGUYEN, V.; KLEMETS DAL, G.; ØDEGÅRD, J.; GJØEN, H.M. 2012. Genetic parameters of economically important traits recorded at a given age in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Aquaculture*. 344-349(0):82-89.
21. SIPAÚBA-TAVARES, L.; ALVAREZ, E.; BRAGA, F. 2008. Water quality and zooplankton in tanks with larvae of *Brycon orbignyianus* (Valenciennes, 1949). *Braz. J. Biol.* 68(1):77-86.
22. TURRA, E.M.; DE OLIVEIRA, D.A.A.; VALENTE, B.D.; TEIXEIRA, E.D.A.; PRADO, S.D.A.; DE MELO, D.C.; FERNANDES, A.F.A.; DE ALVARENGA, É.R.; E SILVA, M.D.A. 2012. Estimation of genetic parameters for body weights of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* using random regression models. *Aquaculture*. 354-355(0):31-37.
23. URBINATI, E.C.; SARMIENTO, S.J.; TAKAHASHI, L.S. 2014. Short-term cycles of feed deprivation and re-feeding promote full compensatory growth in the Amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Aquaculture*. 433:430-433.
24. VANDEPUTTE, M.; KOCOÛR, M.; MAUGER, S.; RODINA, M.; LACINAY, A.; GELA, D.; DUPONT-NIVET, M.; HULAK, M.; LINHART, O. 2008. Genetic variation for growth at one and two summers of age in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): Heritability estimates and response to selection. *Aquaculture*. 277(1-2):7-13.
25. VÁSQUEZ, W. 2004. *Principios de nutrición aplicada al cultivo de peces*. Ed. Juan XXIII Ltda. (Universidad de los Llanos). 64p.
26. VELASCO-SANTAMARÍA, Y.; PALACIOS-RUIZ, C.; CRUZ-CASALLAS, P. 2008. Eficiencia anestésica de 2-fenoxietanol, benzocaina, quinaldina y metasulfonato de tricaina en alevinos y juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *MVZ Córdoba*. 13(3):1435-1445
27. VINE, N.G.; LEUKES, W.D.; KAISER, H. 2004. In vitro growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus. *FEMS Microbiol. Letters*. 231(1):145-152.
28. WHATMORE, P.; NGUYEN, N.H.; MILLER, A.; LAMONT, R.; POWELL, D.; D'ANTIGNANA, T.; BUBNER, E.; ELIZUR, A.; KNIBB, W. 2013. Genetic parameters for economically important traits in yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture*. 400-401:77-84.
29. ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; WEINGARTNER, M. 2006. Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. *Rev. Col. Ciencias Pec.* 19(2):233-240.

30. ZANUZZO, F.S.; ZAIDEN, S.F.; SENHORINI, J.A.; MARZOCCHI-MACHADO, C.M.; URBINATI, E.C. 2015. Aloe vera bathing improved physical and humoral protection in breeding stock after induced spawning in matrinxã (*Brycon amazonicus*). Fish & Shellfish Immunology. 45(1):132-140. Recibido: Agosto 12 de 2015
Aceptado: Enero 28 de 2016

Cómo citar:

Bernal, F.; Gallego, F. 2016. Estimación de parámetros genéticos para peso y talla a diferentes edades en yamú (*Brycon amazonicus*). Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 123-130.

FRECUENCIA DE HEMATOZOARIOS EN BOVINOS DE UNA REGIÓN DEL CARIBE COLOMBIANO

BOVINE HEMOPARASITES FREQUENCY FROM COLOMBIAN CARIBBEAN REGION

Alfonso Calderón¹ Nicolás Martínez², Haydée Iguarán³

¹ MVZ, M.Sc., Docente Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba, kilómetro 27 vía Ciénaga de Oro, Córdoba, Colombia. Estudiante Doctorado en Medicina Tropical Sue-Caribe. Universidad de Cartagena, e-mail: acalderonr@correo.unicordoba.edu.co; ² MVZ, M.Sc., Docente Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba, kilómetro 27 vía Ciénaga de Oro, e-mail: namatrinez@correo.unicordoba.edu.co; ³ MVZ, Especialista en Laboratorio Clínico, Profesional Especializado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba, kilómetro 27 vía Ciénaga de Oro, e-mail: higuarandiaz@correo.unicordoba.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 131-138, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Los hematozoarios han limitado la producción ganadera en regiones tropicales, cuyas características climáticas brindan nichos ecológicos, propicios para el desarrollo de artrópodos, que son vectores de varias especies de los géneros, como: *Babesia*, *Anaplasma* y *Trypanosoma*. Los hematozoarios producen pérdidas económicas directas e indirectas con implicaciones en el comercio. El objetivo fue determinar la frecuencia de hematozoarios en bovinos de una región del Caribe colombiano. Mediante un estudio descriptivo de corte transversal y con un muestreo por conveniencia, se seleccionaron doce fincas, en las que se tomaron muestras de sangre de 310 bovinos de diferentes edades, sexo y grupo racial, para el diagnóstico de hematozoarios por observación directa y determinación de algunos valores hemáticos. La mayor frecuencia de hematozoarios fue para anaplasmosis, con el 27,74%, seguido de babesiosis, con el 19,35% y tripanosomiasis, con el 2,26%, lo que indica que esta zona sigue siendo endémica, para los hematozoarios.

Palabras clave: Anemia, *Anaplasma*, *Babesia*, parasitemia, *Trypanosoma*.

SUMMARY

The haematozoa have limited animal production in tropical regions, the climatic characteristics in tropical regions provide ecological niches for the development of arthropods which are vectors of several species of the genres as *Babesia*, *Anaplasma* and *Trypanosoma*. The haematozoa produce direct and indirect economic losses with implications on trade. The objective was to determine the frequency of haematozoa in cattle in the colombian Caribbean region. A

descriptive cross-sectional study with a convenience sample, 12 farms were selected, where 310 blood samples from cattle of different ages, sex, racial group were taken, for the diagnosis of haematozoa by direct observation of extended blood and some hematology values. The highest frequency of haematozoa was for anaplasma sp. with 27.74%, followed by babesia sp. with 19.35% and trypanosoma sp. of 2.26%. It is indicating that this area is still endemic for haematozoa.

Key words: Anemia, *Anaplasma*, *Babesia*, parasitemia, *Trypanosoma*.

INTRODUCCIÓN

Babesia bigemina, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major*, *B. ovata* han sido reportadas en bovinos, como causantes de la babesiosis bovina (Bock *et al.* 2004). Son protozoarios de ubicación intraheritocitarios, del Sub-Phylum Apicomplexa, Clase Piroplasmida, Orden Hemosporidia, Sub-Orden Piroplasmidea, Familia Babesidae (Quijada *et al.* 1998), que se caracteriza por producir anemia hemolítica, fiebre, hemoglobinuria, disminución de la producción y, en casos extremos, la muerte (Ristic & McIntyre, 1981). Su transmisión está determinada por la picadura de la garrapata *Rhipicephalus microplus*, ectoparásito que habita zonas tropicales y subtropicales, que poseen las condiciones climáticas y ecológicas, propicias para el mantenimiento de estos artrópodos (Regassa *et al.* 2003). Pueden afectar a muchas especies de mamíferos, con un impacto importante en el ganado bovino (Bock *et al.* 2004; Zintl *et al.* 2003).

La anaplasmosis bovina es producida por *Anaplasma marginale* (Añez *et al.* 2010), género de la familia *Anaplasmata-*

ceae del orden *Rickettsiales*; se trasmite por vectores artrópodos, como moscas y garrapatas o por vía iatrogénica y en bovinos, con infección persistente, actúan como reservorios para la transmisión por garrapatas. Esta enfermedad se caracteriza por anemia progresiva e ictericia, pérdida de peso, debilidad, inapetencia, fiebre, cesa de la rumia, no hay hemoglobinemia ni hemoglobinuria; el ganado infectado puede permanecer como portador (OIE, 2012; Howarth *et al.* 1972; Wickwite *et al.* 1987).

Trypanosoma vivax, protozooario hemático que produce la tripanosomosis bovina, cuya transmisión se produce por insectos hematófagos del género *Tabanus* (Diptera: Tabanidae) o iatrogénicamente y signos, que incluyen: fiebre, anemia severa, pérdidas significativas en la producción y la condición corporal y trastornos reproductivos. La infección puede progresar de carácter agudo a crónico; en muchos casos, produce la muerte por las alteraciones producidas en los órganos y la química sanguínea (Rossi *et al.* 2008; Suarez *et al.* 2009).

Estas enfermedades hematozoarias han limitado la producción ganadera en diferentes regiones tropicales y se han constituido en un riesgo potencial en ganaderías especializadas en la producción de leche, ya que ha reportado el hallazgo de *R. microplus*, a 2.903 metros sobre el nivel del mar (msnm), vector para la babesiosis y anaplasmosis bovina (Vizcaíno, 2011; Bolívar, 2013).

Las regiones tropicales, por sus características climáticas de humedad, de temperatura y de luminosidad, brindan nichos ecológicos, propicios para el desarrollo de garrapatas, de moscas picadoras y de tábanos, que son vectores de hematozoarios, como *Babesia*, *Anaplasma* y *Trypanosoma* (Prada & Crespo, 2006; Benavides *et al.* 2012).

El calentamiento global ha generado alteración de los regímenes de temperatura y los patrones de lluvia, lo que ha permitido cambios en la distribución y en la frecuencia de los ectoparásitos vectores de hematozoarios, en diversas latitudes de áreas tropicales y subtropicales, lo que, a su vez, resulta en un incremento de la probabilidad de transmisión de enfermedades; sin embargo, hay otras variables que pueden explicar estos cambios, como la explosión y los movimientos demográficos, las condiciones socioeconómicas, las alteraciones del paisaje y el comercio global. Igualmente, las actividades antrópicas podrían tener una influencia más determinante y profunda sobre la distribución de garrapatas y de moscas, en comparación con el cambio climático (Cortés, 2010; Thornton *et al.* 2009).

Dentro de las medidas de prevención y de control, se destaca la aplicación de sustancias de origen químico contra los vectores, pero la presencia de estos rastros o residuos lleva a

implicaciones en el comercio, ya que afectan la inocuidad de alimentos de origen pecuario (Márquez, 2008).

Estas enfermedades hematozoarias influyen en los programas de mejoramiento bovino en el trópico, por las restricciones en el uso de razas *Bos taurus*, con el objetivo de aumentar la productividad de las razas *B. indicus*, siendo las *B. taurus* más susceptibles a infestaciones por ectoparásitos, protozoarios y rickettsias (González & Meléndez, 2007); aunque en África, se han hallado bovinos de razas *B. taurus* tolerantes al tripanosoma (Gachohi *et al.* 2009). En Venezuela, bovinos de la raza criollo limonero puros y mestizo fueron tolerantes al tripanosoma, lo que permite una mayor adaptación a las condiciones tropicales (Agudo *et al.* 2009).

En Colombia, la garrapata, vector de babesias y anaplasmas, se localiza en altitudes inferiores a los 2.200msnm y temperaturas que fluctúa entre los 28 y 32°C, con una humedad relativa entre 85 y 90% (Ríos *et al.* 2010); sin embargo, ya existen reportes donde describen la presencia de babesiosis bovina en zonas ubicadas a mayores altitudes (Betancourt, 2011) y han relacionado esto con el efecto del cambio climático, que favorece en la adaptación de las garrapatas.

Alteraciones ambientales en los últimos años han ocasionado cambios en los regímenes de lluvias, incremento de la temperatura ambiental y de la humedad relativa; esto ha provocado en el Caribe colombiano disminución o pérdida de la oferta forrajera, detrimento del nivel freático de los suelos, ampliación de la época seca, lo que incide directamente en un desbalance nutricional y del bienestar animal, generando reducción en la condición corporal, bajas en la producción de carne y de leche, desequilibrio de la estabilidad enzoótica y baja en el sistema inmune de los bovinos, que se traduce en un aumento de la susceptibilidad al ataque de los ectoparásitos, vectores de hematozoarios. Actualmente, en Córdoba, en Sucre y en la región del Urabá, no se registran reportes de afectación por hematozoarios en bovinos; por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de hematozoarios en bovinos, en una época seca, en una región del Caribe colombiano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio. Se implementó un estudio descriptivo, de corte transversal (Manterola & Otzen, 2014).

Selección de la muestra. Por medio de un muestreo por conveniencia, se seleccionaron en 8 municipios de tres departamentos (Tabla 1), 12 empresas ganaderas, donde en cada una de ellas, se tomó entre 19 a 25 bovinos, a los cuales, se les colectó una muestra de sangre. Los criterios de inclusión fueron: que se permitirá por propietarios y administradores el proceso de toma de muestras, de registros productivos

y reproductivos. Igualmente, se implementó una encuesta para conocer aspectos de manejo y de conocimientos sobre hematozoarios; este muestreo se realizó durante una época de mínima precipitación.

Toma de las muestras. En cada una de las empresas ganaderas, se tomaron tres milímetros de sangre en tubos vacutainer al vacío sin anticoagulante y con anticoagulante (EDTA), de la vena coccígea, previa desinfección de esta área; cada muestra se rotuló y se conservó en refrigeración 4°C, en cavas de poliestireno y remitidas hasta la Clínica Ju-

lio E. Cuervo de la Universidad de Córdoba, sede Berástegui, donde se procesaron. Además de la identificación de los bovinos, se tomaron algunos anamnesicos clínicos y la evaluación de la condición corporal (CC); se calificó entre 1 y 5 y se categorizó como: condición excelente, >4,25; condición buena, 4,0; condición regular, cuando osciló entre 3,75 y 3,0 y condición mala, entre <2,75. La clasificación de los fenotipos se ajustó a la raza cebú (Brahman comercial) y mestizos los cruzamientos de cebú por *Bos taurus* (Holstein, Simmental, Pardo Suizo).

Tabla 1. Ubicación de las empresas ganaderas, número de muestras de sangre para diagnóstico y frecuencia de los hematozoarios en bovinos, en el Caribe colombiano.

Depto.	Municipio	No. Fincas	No. de muestras	Bovinos con hematozoarios		
				<i>A. marginale</i>	<i>B. bigemina</i>	<i>T. vivax</i>
Antioquía	Arboletes	1	25	5	4	0
Córdoba	Ciénaga de Oro	1	22	10	3	0
	Los Córdoba	2	46	14	14	2
	Montería	4	120	39	19	1
	P. Libertador	1	19	4	3	0
	Planeta Rica	1	22	5	7	0
	Valencia	1	37	2	0	0
Sucre	San Benito Abad	1	19	7	10	4
TOTAL		12	310	86	60	7

Análisis de las muestras. Para hematocrito, se homogenizó la sangre del tubo con EDTA y por medio de un capilar, se llenó hasta las tres cuartas partes de la capacidad del tubo capilar y se selló el otro extremo con plastilina; se centrifugó el capilar a 13.680 gravedades, durante 5 min y se procedió a su lectura en la tabla para hematocrito. Los diagnósticos de hematozoarios, se efectuaron por medio de extendidos, donde una pequeña gota de sangre, tomada con una pipeta Pasteur, se depositó en una lámina portaobjetos y se expandió con un cubreobjetos, con una inclinación de 45°; el extendido se secó y después se aplicó una solución del colorante de Wright por toda la lámina, durante 2 min; luego, se colocaron 2 o 3 gotas de agua destilada, se sopló hasta que la placa cambió el color tornasol, se dejó durante 2 min, se enjuagó con agua corriente [fluctúa entre los 28 y 32°C, con una humedad relativa entre 85 y 90% (Latimer *et al.* 2005)] y se procedió a la lectura, donde se leyeron 10.000 eritrocitos y el resultado se expresó en porcentaje, para Babesia y *Anaplasma*; para tripanosomas, se evaluaron 100 campos y el resultado se expresó por campo; todas las lecturas se hicieron en un microscopio de luz con el objetivo de 100X. Se consideraron animales con anaplasma, cuando el por-

centaje de parasitemia fue superior al 0,03% y la presencia de babesia y tripanosoma como bovinos, como infectado o con hematozoarios.

Análisis estadístico. Se elaboró una base de datos en formato Excel, donde se consignó información de las variables evaluadas de los bovinos y se compararon entre bovinos sin hematozoarios y bovinos con hematozoarios; donde esta última categoría se estableció con, al menos, el diagnóstico de un solo grupo. La comparación de los grupos se implementó con la prueba de t-student para las variables cuantitativas; todos estos cálculos se efectuaron mediante el software SAS.

Aspectos éticos. El Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT) de la Universidad de Córdoba, clasificó este estudio de bajo riesgo. Las muestras fueron tomadas por un Médico Veterinario Zootecnista, quien efectuó los procedimientos de la toma de las muestras, teniendo en cuenta los procedimientos de manejo y de conservación, las normas éticas, técnicas, científicas y administrativas para la investigación en animales, según la Ley 84 del Congreso de Colombia de 1989. A lo largo del

estudio, se mantuvo la confidencialidad de la información; solo se proporcionó a los encargados del manejo directo de los bovinos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al considerar como bovinos con hematozoarios, al menos cualquier individuo donde se observó algún agente etiológico evaluado, la frecuencia fue del 40,32% y la principal asociación de patógenos fue *Anaplasma* y *Babesia*, con el 8,39%. No hubo asociación de *Babesia* y de *Trypanosoma* y no se determinó ningún caso, donde los tres agentes etiológicos estuvieron presentes. En todas las empresas ganaderas y en todos los municipios, se comprobó la presencia de hematozoarios.

Mayores casos de detección se han obteniendo empleando técnicas de biología molecular, como lo reportado por Canever *et al.* (2014). Actualmente, se están empleando técnicas de biología molecular, donde la frecuencia o seroprevalencia son más elevadas, por la alta sensibilidad que la empleada en el actual estudio.

Además de cambio climático hay otros factores que pueden modificar distribuciones de garrapatas (Giles *et al.* 2014). Dentro de las variables evaluadas para el control de ectoparásitos, se encontró que en el 83,33% de las fincas desconocen el ciclo biológico de las garrapatas, la dilución y la cantidad de solución aplicada por animal y no hacen rotación de moléculas o principios activos, a pesar de usar diferentes nombres comerciales. El 100% de los productores o encargados directos del manejo desconocen la calidad fisicoquímica del agua y la correcta calibración de equipos de aspersión y no realizan muestreos para determinar el tipo de garrapatas o hematozoarios.

Se evaluaron 151 bovinos cebú y 159 mestizos (Tabla 2); se encontró que la mayor frecuencia de hematozoarios fue en el grupo de mestizos (23,55%), en comparación con bovinos cebú (16,77%), aunque estas diferencias no fueron significativas; igualmente, la misma tendencia se determinó para la variable categoría animal. Se conoce que ganados *B. indicus* son más resistentes a los ectoparásitos que los *B. taurus* (Bianchin *et al.* 2007) y con el cruzamiento de estas dos grupos, se produce un mestizaje, que permite el incremento de los índices productivos, debido al vigor híbrido o heterosis, generado en el cruce y mayor grado de resistencia a las condiciones tropicales, frente al *B. taurus* (Frisch *et al.* 2000; Silva *et al.* 2007; Oliveira *et al.* 2009).

Se determinó que la mayor frecuencia de hematozoarios fue para *Anaplasma* sp., con el 27,74%, seguido de *Babesia*, 19,35% y *Trypanosoma* sp., con el 2,26% (Tabla 1). En la región del bajo Cauca y Alto San Jorge, se determinó que *Anaplasma* sp. fue el hematozoario más frecuente, con el 61,8% (Herrera *et al.* 2008). En una región del Noreste de Brasil, se determinó que el mayor agente de hematozoarios fue *A. marginale*, con el 89,1%, seguido de *B. bovis*, con el 68.8% y *B. bigemina*, con el 52.5% (Souza *et al.* 2013).

Esta mayor frecuencia de *Anaplasma* sp., en el actual estudio, se puede deber a que el muestreo se efectuó en la época de mínima precipitación, donde hay mayor infestación de garrapatas y las condiciones ambientales disminuyen la disponibilidad de forrajes, situaciones que conducen a estrés, produciendo un aumento de infecciones por hematozoarios. Otras causas, como picaduras de moscas y factores iatrogénicos, como el no uso de agujas estériles por animal y el no cambio de guantes en chequeos reproductivos, han sido reportadas como causas de hematozoarios (Souza *et al.* 2013), variables que no fueron evaluadas en el presente estudio. En Costa Rica, la exposición del ganado por *A. margin-*

Tabla 2. Bovinos muestreados y frecuencia de bovinos con y sin presencia de hematozoarios, por tipo racial, en el Caribe colombiano.

Categoría	Bovinos muestreados				Bovinos con hematozoarios				Frecuencia	
	Cebú		Mestizos		Cebú		Mestizos			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Toros	11	3,54	7	2,27	1	0,32	3	0,97	4	1,29
Toretas	16	5,16	30	9,68	3	0,97	8	2,58	11	3,55
Vacas	62	20,0	61	19,67	30	9,68	35	11,29	65	20,97
Terneros	62	20,0	61	19,67	18	5,81	27	8,71	45	14,51
Total	151	48,70	159	51,29	52	16,77	71	23,55	125	40,32

ale es común en los hatos lecheros, donde la inestabilidad endémica es, probablemente, debida al inadecuado control de vectores (Oliveira *et al.* 2011).

En el actual estudio, la principal asociación fue anaplasma y babesia, con el 8,39% y en Santa Catarina (Brasil), determinaron que el 54,5% de los animales estaban coinfectados con dos o tres parásitos, usando PCR multiplex (Canever *et al.* 2014). Una mayor tasa de seroprevalencia de *T. evansi* se asoció con una mayor prevalencia de tábanos (Cadioli *et al.* 2012).

En cuatro fincas, los propietarios o encargados del manejo directo de los bovinos manifestaron la muerte en días, previos a la toma de muestras y, en estas empresas, se determinó la presencia de *Trypanosma* sp. Una de las mayores causas

de anemia en el ganado en zonas endémicas es la tripanosomiasis (Biryomumaisho *et al.* 2013).

Al comparar los promedios entre bovinos sin y con hematozoarios (Tabla 3), se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), para los valores del hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y leucocitos; estas diferencias, se pueden deber a lo reportado en Brasil, donde la anemia fue el cambio más importante que se evidenció en bovinos infectados y mostraron promedios significativos más bajos del hematocrito o volumen celular aglomerado (PCV), en comparación con bovinos parasitológicamente sanos (Cuglovici *et al.* 2010). Se ha reportado en Punjab (India), que valores de hemoglobina y de glucosa en sangre, se redujeron en bovinos infectados por *B. bovis*, en comparación con bovinos no infectados (Zulfiqar *et al.* 2012).

Tabla 3. Valores del cuadro hemático entre bovinos con y sin presencia de hematozoarios, en el Caribe colombiano.

Variable	n	Media	D. estándar	V. mínimo	V. máximo
Bovinos sin hematozoarios					
Hematocrito	185	34,17	6,46	19,00	53,00
Hemoglobina	185	11,34	2,16	6,30	17,600
Eritrocitos	185	56556	1085	310	8800
Leucocitos	185	72572	2769	200	17900
Bovinos infectados con hematozoarios					
Hematocrito	125	31,50	6,26	14,00	45,00
Hemoglobina	125	10,64	2,85	4,60	32,3
Eritrocitos	125	5294400	1407486	2300	16100
Leucocitos	125	8720	3,193	2500	17900

Al comparar la CC entre bovinos con y sin hematozoarios (Tabla 4), el mayor número de bovinos infectados y no infectados, se concentró dentro de la categoría regular y mala, siendo las mayores frecuencias para los bovinos sanos, en comparación con los infectados; es posible que la CC este afectada por otras variables no evaluadas dentro de este estudio, como la disponibilidad y la calidad nutricional y el estado fisiológico. Se ha deducido que la presencia de hematozoarios no es evidencia concluyente para la CC, ya que depende de los factores anteriormente mencionados (Florio *et al.* 2012). En México, se dedujo que los hemoparásitos pueden representar problemas de salud y de producción animal (Rodríguez *et al.* 2000) y, en Vietnam, se concluyó que los hemoparásitos continúan siendo una amenaza para la industria ganadera (Sivakumar *et al.* 2013).

Este estudio, determinó la presencia clínica de anaplasmosis, babesiosis y, en menor frecuencia, tripanosomiasis, lo cual, puede repercutir en algunos parámetros de interés zootécnicos, como ganancia de peso. Igualmente, se hace necesario evaluar las medidas integrales de prevención y de control de vectores, como también caracterizar los costos y sus implicaciones sobre la producción animal.

Agradecimientos: Los autores agradecen a todos los ganaderos y asistentes técnicos, quienes permitieron la toma de las muestras en sus empresas ganaderas. **Conflicto de intereses:** Este manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que pongan en riesgo la validez de los resultados presentados.

Tabla 4. Evaluación de la condición corporal en bovinos con y sin hematozoarios, en el Caribe colombiano.

Condición Corporal	Bovinos sin hematozoarios		Bovinos con hematozoarios		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
Excelente	2	0,65	0	0	2	0,65
Buena	3	0,97	4	1,29	7	2,26
Regular	31	10,0	23	7,42	54	17,42
Mala	153	48,06	98	31,61	247	79,67
TOTAL	185	59,68	125	40,32	310	100

BIBLIOGRAFÍA

- AGUDO, L.; TAMASAUKAS, R.; SILVA, A.; SÁNCHEZ, J.; RON, J.; FERNÁNDEZ, M.; FLORIO, J.; VINTIMILLA, M.; COLMENARES, O.; RIVERA, S. 2009. Identificación y caracterización fenotípica de tipo bovino doble propósito trypanotolerante. Rev. Electrónica Veterinaria REDVET (España). 10(10). Disponible desde Internet en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100910.pdf> (con acceso 18/05/15).
- AÑEZ, R.N.; ROMERO, O.; VALBUENA, H.; CRISANTE, G.; ROJAS, A.; BOLÍVAR, A.M.; AÑEZ, N. 2010. Detección de transmisión transplacentaria de *Anaplasma marginale* en bovinos asintomáticos. Rev. Cient. FCV-LUZ (Venezuela). 20(4):377-382.
- BENAVIDES, O.E.; POLANCO, P.N.; VIZCAÍNO, O.; BETANCUR, H.O. 2012. Criterios y protocolos para el diagnóstico de hemoparásitos en bovinos. Rev. Cienc. Anim. (Colombia). 5:31-49.
- BETANCOURT, J.A. 2011. Parasitología veterinaria y cambio climático. Biomédica (Colombia). 31(3):279-282.
- BIANCHIN, I.; CATTO, J.B.; KICHEL, A.N.; TORRES, R.A.A.; HONER, M.R. 2007. The effect of the control of endo- and ectoparasites on weight gains in cross-bred cattle (*Bos taurus taurus* × *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. Trop. Anim. Health Prod. 39:287-296.
- BIRYOMUMAISHO, S.; RWAKISHAYA, E.K.; MELVILLE, S.E.; CAILLEAU, A.; LUBEGA, G.W. 2013. Livestock trypanosomosis in Uganda: parasite heterogeneity and anaemia status of naturally infected cattle, goats and pigs. Parasitol. Res. (Alemania). 112(4):1443-1450.
- BOCK, R.; JACKSON, L.; De Vos, A.; JORGENSEN, W. 2004. Babesiosis of cattle. Parasitology. 129:S247-269.
- BOLÍVAR, A.M. 2013. Metodología diagnóstica para hemoparásitos dentro de la ganadería bovina con énfasis en la reacción en cadena de la polimerasa y su variante múltiple. Rev. Salud Anim. (Cuba). 35(1):1-9.
- CADIOLI, F.A.; BARNABÉ PA.; MACHADO, R.Z.; TEIXEIRA, M.C.; ANDRÉ, M.R.; SAMPAIO, P.H.; FIDÉLIS, J.O.L.; TEIXEIRA, M.M.; MARQUES, L.C. 2012. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. (Brasil) 21(2):118-124.
- CANEVER, M.F.; VIEIRA, L.L.; RECK, C.; RICHTER, L.; MILETTI, L.C. 2014. First evaluation of an outbreak of bovine babesiosis and anaplasmosis in Southern Brazil using multiplex PCR. Korean J. Parasitol. 52(5):507-511.
- CORTÉS, J.A. 2010. Cambios en la distribución y abundancia de las garrapatas y su relación con el calentamiento global. Rev. Med. Vet. Zoot. 57:65-75.
- ČUĞLOVICI, D.A.; BARTHOLOMEU, D.C.; REIS, C.J.L.; CARVALHO A.U.; RIBEIRO, M.F. 2010. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. Vet. Parasitol. (Brasil). 169(3-4):320-326.
- FLORIO, L.J.; TAMASAUKAS, R.; RIVERA, S. 2012. Diagnóstico participativo de hemotrópicos en bovinos a nivel de pequeños productores y productoras de ganadería doble propósito en el sur del estado Aragua en la República Bolivariana de Venezuela. AICA (España). 2:163-170.

14. FRISCH, J.E.; O'NEILL, C.J.; KELLY, M.J. 2000. Using genetics to control cattle parasites: the Rockhampton experience. *Ind. J. Parasitol.* 30:253-264.
15. GACHOHI, J.; BETT, B.; MURILLA, G. 2009. Factors influencing the prevalence of trypanosomiasis in Orma Boran (trypanotolerant) and Teso zebu (trypanosusceptible) cattle crosses in Teso District, western Kenya. *Livestock Res. Rural Development* (Colombia). 21(12). Disponible desde Internet en: <http://www.lrrd.org/lrrd21/12/gach21216.htm> (con acceso 18/05/15).
16. GILES, J.R.; PETERSON, A.T.; BUSCH, J.D.; OLAFSON, P.U.; SCOLES, G.A.; DAVEY, R.B.; POUND, J.M.; KAMMLAH, D.M.; LOHMEYER, K.H.; WAGNER, D.M. 2014. Invasive potential of cattle fever ticks in the southern United States. *Parasites & Vectors* (Inglaterra). 7:189.
17. GONZÁLEZ, J.R.; MELÉNDEZ, R.D. 2007. Seroprevalencia de la tripanosomiasis y anaplasmosis bovina en el municipio Juan José Mora del Estado Carabobo, Venezuela, mediante la técnica de Elisa. *Rev. Cient. (Venezuela)*. 17(5):7-10.
18. HERRERA, M.; SOTO, A.; URREGO, V.; RIVERA, G.; ZAPATA, M.; RÍOS, L. 2008. Frecuencia de hemoparásitos en bovinos del Bajo Cauca y Alto San Jorge, 2000-2005. *Rev. MVZ Córdoba* (Colombia). 13(3):1486-1494.
19. HOWARTH, J.A.; ROBY, T.O. 1972. Transmission of anaplasmosis by field collections of *Dermacentor occidentalis* Marx (Acarina: Ixodidae). *Proc. US Animal Health Assoc.* 76:98-102.
20. LATIMER, K.S.; MAHAFFEY, E.A.; PRASS, K.W. 2005. Duncan & Prasse's Patología Clínica veterinaria 4 Edición. Multimedica Ed (Barcelona, España). 557p.
21. MÁRQUEZ, L.D. 2008. Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. *Rev. Corpoica Ciencia y Tecn. Agropec.* (Colombia). 9(1):124-135.
22. MANTEROLA, C.; OTZEN, T. 2014. Estudios observacionales. Los diseños utilizados con mayor frecuencia en investigación clínica. *Int. J. Morphol.* 32(2):634-645.
23. OFICINA INTERNACIONAL DE SANIDAD ANIMAL – OIE-. 2004. Anaplasmosis bovina. Manual de la OIE sobre enfermedades terrestres. 534-547. Disponible desde Internet en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.01_Anaplasmosis_bovina.pdf (con acceso 18/05/15).
24. OLIVEIRA, M.C.S.; ALENCAR, M.M.; CHAGAS, A.C.S.; GIGLIOTI, R.; OLIVEIRA, H.N. 2009. Gastrointestinal nematode infection in beef cattle of different genetic groups in Brazil. *Vet. Parasitol.* 166:249-254.
25. OLIVEIRA, J.B.; MONTOYA, J.; ROMERO, J.J.; URBINA, A.; SOTO, B.N.; MELO, E.S.; RAMOS, C.A.; ARAÚJO, F.R. 2011. Epidemiology of bovine anaplasmosis in dairy herds from Costa Rica. *Vet. Parasitol* (Holanda). 177:359-365.
26. PRADA, S.G.; CRESPO, J. 2006. Determinación taxonómica de hemoparásitos y su prevalencia en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en el Magdalena Medio, Colombia. *Rev. Investigación* (Colombia). 6(1):67-73.
27. QUIJADA, T.; CONTRERAS, J.; FORIANO, M. 1998. Seropositividad a *Babesia bigemina* en bovinos mestizos de Las Yaguas, Carora, Estado Lara, Venezuela. *Veterinaria Tropical*. 23(1):13-24.
28. REGASSA, A.; PENZHORN, B.; BRYSON, N. 2003. Attainment of endemic stability to *Babesia bigemina* in cattle on a South African ranch where non-intensive tick control was applied. *Vet. Parasitol* (Holanda). 116:267-274.
29. RÍOS, O.L.A.; ZAPATA, S.R.; REYES, J.; MEJÍA, J.; BAEÑA, A. 2010. Estabilidad enzoótica de babesiosis bovina en la región de Puerto Berrío, Colombia. *Rev. Cient. FCV-LUZ* (Venezuela). 20(5):485-492.
30. RISTIC, M.; McINTYRE, I. 1981. Diseases of Cattle in the tropics, Economic and zoonotic relevance. *Marinus Nijhoff Publishers*. 662p.
31. RODRÍGUEZ, V.R.I.; COB, G.L.A.; DOMÍNGUEZ, A.J.L. 2000. Hemoparásitos en bovinos, caninos y equinos diagnosticados en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (1984-1999). *Rev. Biomed.* (México). 11:277-282.
32. ROSSI, S.M.S.; SIGALES, L.; ZAPATA, D. 2008. Inmunoensayo de capa fina (ICF) en el serodiagnóstico de la tripanosomiasis bovina causada por el *Trypanosoma vivax*. *Rev. Fac. Cs. Vets.* (Venezuela). 49(2):81-89.

33. SILVA, A.M.; ALENCAR, M.M.; REGITANO, L.C.A.; OLIVEIRA, M.C.S; BARIONI, JW. 2007. Artificial infestation of *Boophilus microplus* in beef cattle heifers of four genetic groups. *Gen. Mol. Biol.*30:1150-1155.
34. SIVAKUMAR, T.; LAN, D.T.; LONG, P.T.; YOSHINARI, T.; TATTIYAPONG, M.; GUSWANTO, A.; OKUBO, K.; IGARASHI I., INOUE, N.; XUAN, X.; YOKOYAMA, N. 2013. PCR detection and genetic diversity of bovine hemoprotozoan parasites in Vietnam. *J. Vet. Med. Sci. (Japón)*. 75(11):1455-1462.
35. SOUZA, F.A.L.; BRAGA, J.F.V.; PIRES.; LIDIANY, V.L.; CARVALHO, C.J.S.; COSTA, E.A.; MÚCIO, F.B.; RIBEIRO, M.F.V.; SANTOS, R.L.; SILVA, M.M.S. 2013. Babesiosis and anaplasmosis in dairy cattle in Northeastern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 33(9):1057-1061.
36. SUÁREZ, G.; GARCÍA, F.; ROMÁN, D.; CORONADO, A.; PERRONE, T.; REYNA, A.; PARRA, N. 2009. Factores de riesgo asociado a la tripanosomosis bovina en explotaciones ganaderas de Venezuela. *Zootecnia Trop.* 27(4):363-372.
37. THORNTON, P.K.; VAN DE STEEG, J.; NOTENBAERT, A.; HERRERO, M. 2009. The impacts of climate change on livestock and livestock systems in developing countries: A review of what we know and what we need to know. *Agric. Syst.* 101:113-127.
38. VIZCAÍNO, O. 2011. *Anaplasma marginale*: noxa de rickettsias, antigénica, inmunológica y económicamente importante en bovinos de áreas intertropicales. *Biomédica (Colombia)*. 31:18-31.
39. WICKWITE, K.B.; KOCAN, K.M.; BARRON, S.J.; SMITH, R.D.; HAIR, J.A. 1987. Infectivity of three *Anaplasma marginale* isolates for *Dermacentor andersoni*. *Am. J. Vet. Res* 48(1):96-99.
40. ZINTL, A.; MULCAHY, G.; SKERRETT, H.E.; TAYLOR, S.M.; GRAY, J.S. 2003. *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clinical Microbiol. Reviews.* 16(4):622-636.
41. ZULFIQAR, S.; SHAHNAWAZ, S.; ALI, M.; BHUTTA, A.M.; IQBAL, S.; HAYAT, S.; QADIR, S.; LATIF, M.; KIRAN, N.; SAEED, A.; ALI, M.; IQBAL, F. 2012. Detection of *Babesia bovis* in blood samples and its effect on the hematological and serum biochemical profile in large ruminants from Southern Punjab. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed. (China)*. 2(2):104-108.

Recibido: Abril 10 de 2015

Aceptado: Noviembre 3 de 2015

Cómo Citar

Calderón, A.; Martínez, N.; Iguarán, H. 2016. Frecuencia de hematozoarios en bovinos de una región del caribe colombiano. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 131-138.

PREVALENCIA DE FASCIOSIS BOVINA EN UNA ZONA DE CALDAS COLOMBIA CON EVIDENCIAS DE LA ENFERMEDAD

PREVALENCE OF BOVINE FASCIOSIS IN A ZONE OF CALDAS COLOMBIA WITH EVIDENCES OF THE DISEASE

Etna Giraldo Pinzón¹, Jorge Pérez Cárdenas², Sandra Aguilar Marín³, Sergio Linares Villalba⁴

¹ MVZ, M.Sc., Grupo de investigación en Ciencias Veterinarias CIENVET, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, e-mail: julieth.giraldo@ucaldas.edu.co; ² Bacteriólogo, M.Sc., Grupo de Investigación BIOSALUD, Facultad de Ciencias para la Salud. Universidad de Caldas, e-mail: labmicro@ucaldas.edu.co; ³ Licenciada en Biología y Química, M.Sc., Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, e-mail: sandra.aguilar@ucaldas.edu.co; ⁴ MV, M.Sc., Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, e-mail: sergio.linares@ucaldas.edu.co; Universidad de Caldas. Manizales Colombia. Calle 65 No. 26-10 www.ucaldas.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 139-148, Enero-Julio, 2016

RESUMEN

La fasciolosis es una parasitosis que afecta rumiantes, equinos, porcinos, entre otras especies y es causante de grandes pérdidas económicas y puede parasitar humanos. En la presente investigación, se evaluó la frecuencia de la enfermedad por tres métodos de detección, en veintiséis predios, localizados en los municipios del departamento de Caldas, con mayor prevalencia, según reportes de la Central de beneficio de Manizales. Se utilizaron los métodos de coprología, PCR y ELISA, en heces y en suero de bovinos seleccionados aleatoriamente en predios, con el sistema de producción de leche bovina, localizados en los Andes colombianos, entre 1.980-3.721 msnm. Se obtuvieron 414 muestras de materia fecal, procesadas con la técnica Dennis modificada. El ADN fue extraído de las heces usando un kit comercial y fue amplificado con cebadores específicos, por PCR convencional. En las muestras de suero, se detectó la presencia de inmunoglobulina G (IgG) contra *Fasciola hepatica*, a través del uso de un Kit comercial, específico para este fin. La región estudiada, se dividió en cuatro zonas, para efectos del estudio. La prevalencia de la fasciolosis por coprología fue 12,3%; por Elisa, 19,1% y por PCR, 67,2%. La zona tres presentó la mayor proporción de animales positivos, por los tres métodos, con odds ratio elevados y alta significancia estadística; fueron hallados caracoles Limneidos en ambientes acuáticos, aptos para su desarrollo, que permiten perpetuar el inóculo. Se confirma la presencia de fasciolosis bovina en la región estudiada y se requieren hacer estudios adicionales, para validar la PCR, como método para la detección de fasciolosis.

Palabras clave: PCR, *Fasciola hepatica*, caracoles, zoonosis, Elisa, coprología.

SUMMARY

Fasciolosis is a parasitic disease that affects ruminants, horses, pigs and other species; it is the cause of significant economic losses and can also parasitize humans. In this research, the frequency of the disease using three detection methods in twenty-six farms, located in the municipalities most prevalent according to reports from the Slaughtering Central of Manizales-Caldas in the department of Caldas was evaluated. The coproscopic, PCR and ELISA methods in feces and serum of randomly selected cattle farms with a system of dairy production, located in the Colombian Andes, between 1980 3721m, were used. 414 stool samples were obtained and processed with the Dennis modified technique. DNA was extracted from stool using a commercial kit and was amplified with specific primers for standard PCR. In serum samples, the presence of immunoglobulin G (IgG) against *Fasciola hepatica* was detected through the use of a specific commercial kit for this purpose. The study area was divided into four zones for the study purposes. The prevalence of fascioliasis by the coproscopic test was 12.3%, by ELISA of 19.1%, and 67.2% by PCR. Zone three displayed the highest proportion of positive animals by the three methods, with high odds ratio and high statistical significance; lymnaeid snails were found in aquatic environments suitable for development, allowing perpetuate the inoculum. The presence of bovine fasciolosis in the studied region was confirmed; additional studies to validate PCR as a method by the fasciolosis detection are required.

Key words: PCR, *Fasciola hepatica*, snails, zoonoses, Elisa, coprology.

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis o distomatosis hepática es una enfermedad parasitaria causada por el trematodo *Fasciola hepatica*, de importancia veterinaria, debido a las pérdidas económicas que ocasiona en rumiantes, a nivel mundial. Se calcula que más de 300 millones de bovinos y 250 millones de ovinos pastorean en zonas donde se encuentra el trematodo, lo cual, genera un riesgo de infección a millones de animales y de personas, en 61 países, a nivel mundial (Esteban *et al.* 1997). *F. hepatica* provoca la helmintiasis de mayor prevalencia en los bovinos del área ecuatorial, con valores que oscilan entre el 30 y el 90% (Valencia *et al.* 2005; Wilches *et al.* 2009; Ticona *et al.* 2010).

La enfermedad afecta a 2,4 millones de personas, habitantes de focos naturales o zonas de riesgo en todo el mundo, quienes se infectan al ingerir las metacercarias, a través de los alimentos (Mas-Coma *et al.* 2009); en estas áreas, se presentan ensambles ecológicos, que relacionan parásitos, hospedadores y vectores, en ambientes que facilitan el ciclo biológico del parásito y su persistencia en el medio. Por ello, conocer la dinámica de las poblaciones parasitarias es necesario, para entender la interrelación entre los tres eslabones descritos y la historia de vida del parásito, para lograr su control (Haseeb & Fried, 1997).

Los bovinos parasitados eliminan los huevos operculados, a través de las heces (Pinheiro *et al.* 2004); en el agua, éstos embrionan y, posteriormente, se liberan los miracidios, que penetran, activamente, a los moluscos del género *Lymnaea*; en Colombia, se han identificado *Lymnaea ubaquensis*, *L. bogotensis*, *L. columella* y *Physa acuta* (Velásquez, 2006). La presencia de los hospedadores intermediarios adecuados será la que determine la cantidad de formas infectantes para los animales y para el hombre (Boray *et al.* 1983; Malone & Yilma, 1999; Valencia-López *et al.* 2012). En condiciones apropiadas, después de ingresar al molusco, pierden los cilios y se forman los esporocistos; de allí, se crean una o dos generaciones de redias que, a su vez, darán origen a las cercarias, que salen activamente del caracol al ambiente; después, se recubren con una sustancia mucilaginoso y toman la forma de metacercarias, infectantes para el hombre y para los animales (Urquhart *et al.* 2001). Éstas, se pueden ingerir, a través del consumo de las pasturas, en vegetales frescos contaminados, como berros, lechugas, espinacas o alfalfa (Marcos & Terashima, 2007; Valencia *et al.* 2005).

El parásito requiere de los cuerpos de agua, en especial, de los manantiales y de las quebradas, escenarios de evapotranspiración, que se asocian a condiciones variables de sequía y de humedad. Se deben considerar las situaciones asociadas al cambio climático, como el fenómeno del niño, que da lugar a sequías e inundaciones, que favorecen la per-

sistencia y la circulación del parásito, además del ambiente físico, donde se encuentra el parásito, que determina la capacidad de transformación de cercarias a metacercarias, al generar condiciones favorables para la infección de un nuevo hospedador (Mas-Coma *et al.* 2009).

En Colombia, no se cuenta con una estimación precisa del detrimento asociado a la presencia de este parásito, aunque se han propuesto cifras por encima de 12.000 millones de pesos anuales; el 9,18% es asociado con el decomiso de hígados parasitados (Becerra, 2001; Pulido *et al.* 2010; Bernardo *et al.* 2011). Las regiones con mayor riesgo para la presentación de fasciolosis en el país están ubicadas en la zona andina, donde los huevos de *F. hepatica*, eliminados en ambientes acuáticos, en praderas encharcables, en las zonas de drenaje, en las aguas cristalinas de curso lento, en las plantas, como los berros, son factores que favorecen el desarrollo del ciclo evolutivo y la presencia de los caracoles, indispensables en el mismo (Pinheiro *et al.* 2004). Las lesiones y las manifestaciones clínicas de la enfermedad en los animales varían de acuerdo al grado de infección, al ingerir las metacercarias y al proceso inflamatorio, debido a la migración de las formas inmaduras hacia el órgano blanco del hospedador definitivo, en el ciclo de vida. De acuerdo a la sintomatología clínica, se puede observar la forma aguda, la subaguda y la crónica de la enfermedad; esta última es la más importante, al presentarse con mayor frecuencia en temporadas de lluvia (Fox *et al.* 2011). Los animales parasitados muestran una disminución de la productividad, debido a la anemia que se desencadena dos a cinco meses después de la infección, cursa con hipoalbuminemia al inicio, aunque se pueden presentar animales asintomáticos o con manifestaciones agudas de la enfermedad, como hepatomegalia, ictericia y, ocasionalmente, la presencia de abscesos, de fibrosis o de colangitis hiperplásica (Dalton, 1999; Becerra, 2001). A la observación posmortem, el parásito se ubica en los canales biliares de los animales afectados, lo cual, ocasiona el decomiso completo del hígado, en las plantas de beneficio (Mas-Coma *et al.* 1999; Marcos & Terashima, 2007).

En Colombia, se registran dos estudios recientes, que describen la presencia de *F. hepatica*: el primero, realizado por Wilches *et al.* (2009), en el valle de San Nicolás, en el oriente antioqueño, con prevalencias en bovinos por encima del 90% y en humanos, de 4,9%; el segundo, de Recalde-Reyes *et al.* (2014), quienes encontraron prevalencias en bovinos, entre 1,14-14,28%, en algunos municipios del departamento de Quindío. En este mismo estudio, se encontró una persona con anticuerpos contra el parásito; este hallazgo demuestra la presencia de fasciolosis humana, en sitios con infección bovina y puede ser el indicio de un posible problema de salud pública, que no está restringido a estas regiones en particular, sino a todas aquellas en Colombia, asociadas a explotaciones bovinas.

En el departamento de Caldas, no se han adelantado estudios que evidencien la presencia de fasciolosis bovina; sin embargo, se presentan evidencias de acuerdo con los informes de inspección sanitaria, efectuados en la Central de beneficio de Manizales, donde se detectó un incremento en el reporte de decomisos de hígados bovinos, por la presencia de *F. hepática*, en los canales biliares, entre 2007 y 2009, en animales procedentes de los municipios de Manizales, Neira y Villamaría, ubicados en predios por encima de los 1.900 msnm (datos no publicados). Por tal razón, el objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de *F. hepática*, en una muestra aleatoria de explotaciones bovinas de los tres municipios, antes mencionados, utilizando la coprología para la detección de huevos, a través de la técnica de Dennis modificada, que tiene una sensibilidad y especificidad de 73,2% (IC 95%=58,4% - 87,9%) y 84,2% (IC 95%=77,7% - 90,6%), respectivamente, con un valor predictivo positivo de 57,7% (IC 95%=43,3% - 72,1%) y negativo de 91,4% (IC 95%=86,2% - 96,6%) (Correa *et al.* 2016). La PCR para de-

teectar secuencias específicas de ADN del parásito con sensibilidad de 96,9% (IC del 95% = 87,7-99,3), una especificidad del 99,2 (95% C.I. = 96,7-99,8) (Kaplan *et al.* 1997) y una prueba de ELISA para la detección de IgG contra *F. hepática*, con sensibilidad de 98% (IC 96-100%) y especificidad de 96% (IC, 93-98%), a un valor de corte de 15% de positividad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el consentimiento del comité de ética para experimentación con animales de la Universidad de Caldas, del 23 de marzo de 2012, se hizo un estudio descriptivo. Se analizaron veintiséis predios elegidos al azar, en los municipios de Manizales, de Neira y de Villamaría, ubicados en la región centro-sur de Caldas (Figura 1a y b), por encima de 1.900 msnm, en la Cordillera Central colombiana, entre los 4° 55.918' N y 75° 28.06' W; los predios están dedicados a la explotación de ganado bovino lechero.

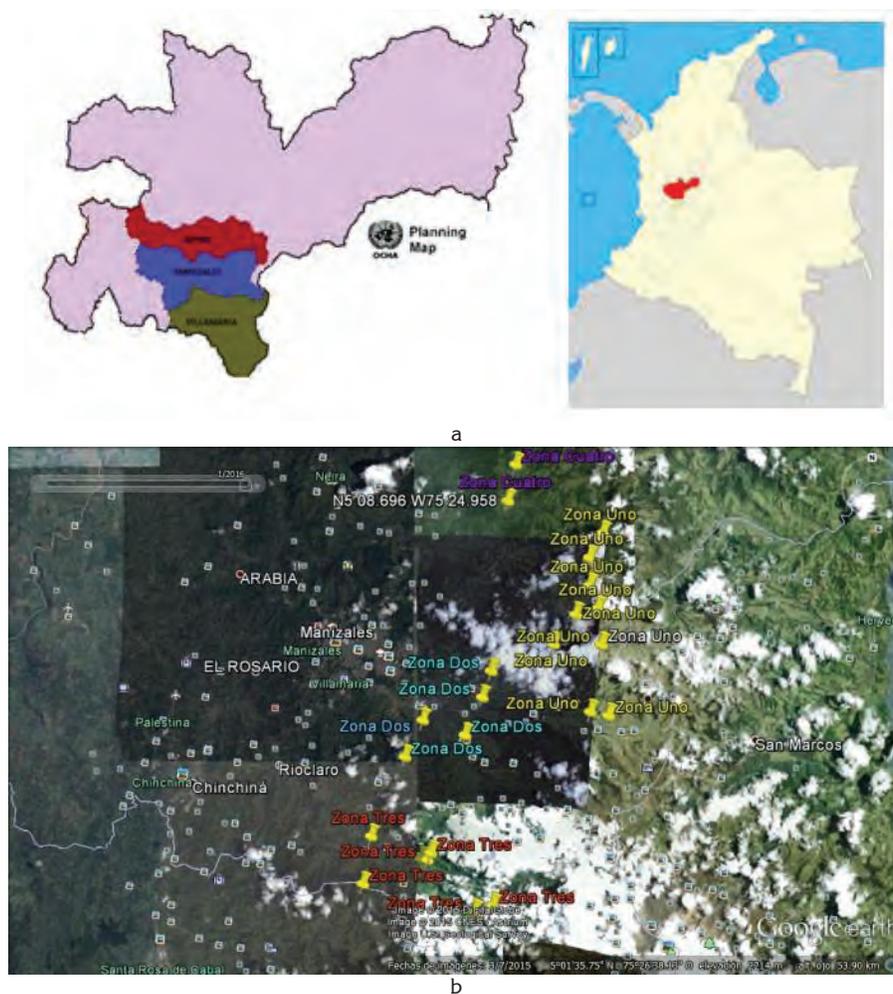


Figura 1: a) Ubicación geográfica del departamento de Caldas y de los municipios del estudio. b) Ubicación geográfica de los predios del estudio.

El muestreo estuvo conformado por hembras bovinas en producción de leche o con sesenta días antes del parto, de la raza normando (90%) y sus cruces y, en menor proporción, la raza Holstein y sus cruces (10%), ampliamente distribuidas en las cuatro zonas ganaderas, en que se dividió el área de estudio, de acuerdo a las características agroecológicas de altura sobre el nivel del mar, fuentes de agua, topografía, temperatura, suelos y humedad relativa.

Se obtuvieron 414 muestras de sangre, para la detección de anticuerpos específicos, por medio de la técnica de ELISA indirecta BIOX® *F. hepatica* para bovinos, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se analizó igual número de muestras de heces, por la técnica de Dennis modificado (Dennis *et al.* 1954; Correa *et al.* 2016); las muestras, se observaron, a través del microscopio óptico y se consideró como positiva, la que tuviera, al me-

nos, un huevo de *F. hepatica*. En cada sedimento, se hizo la extracción de ADN, con el kit fecal Ultraclean® Laboratorios MoBio; dicho procedimiento, se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Para la amplificación, se empleó un termociclador DNAEngine® BIO-RAD PTC 200, utilizando el siguiente protocolo: desnaturalización inicial, a 95°C, 5 min; 40 ciclos de desnaturalización, a 95°C, por 1 min; alineación, a 55,4°C, 1 min; extensión, a 72°C, por 1 min. Se finalizó la amplificación, con una extensión final a 72°C, por 10 min. Los ADN obtenidos fueron visualizados en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio (Figura 2). Se empleó como marcador de peso molecular, el Hyperladder V® Laboratories, que presenta bandas entre 25 a 500p. Para la identificación del ADN de *F. hepática*, se usaron cebadores para la amplificación de una secuencia repetitiva de 124pb, que constituye, aproximadamente, el 15% del genoma del parásito (Kaplan *et al.* 1995; 1997; Caron *et al.* 2007; 2011; 2014).



Figura 2. Gel de agarosa al 2%, con tres predios evaluados por la técnica PCR convencional, para *Fasciola hepatica*. Carril 1: Marcador de peso molecular (25pb-500pb); Carril 2: Control negativo; Carril 3: Control positivo; Carril 5-9: muestras predio La Vega; Carril 11-16: Predio La Inés; Carril 17-27: Predio La Laguna; Carril 28: Marcador de peso molecular.

Se calculó el porcentaje de animales infectados con el parásito, sobre el total de bovinos evaluados; para el análisis estadístico, se aplicó la prueba de χ^2 , se calculó el valor mid-p y, además, el Odds ratio con sus intervalos de confianza, para evaluar la posible asociación entre factores de riesgo y las muestras positivas.

Los estudios parasitológicos fueron complementados con la identificación de los caracoles procedentes de la zona de estudio y con la búsqueda de las formas intramolusco de *F. hepatica*. Para obtenerlos, se visitaron los sitios con afloramientos naturales de agua dulce, bebederos, canales de agua y quebradas de los 26 predios del estudio; se buscó en la vegetación asociada a las zonas húmedas de cada predio;

para la captura, se utilizó la metodología por unidad de esfuerzo (Rabinovich, 1980), definida como el número de caracoles colectados en un período de 30 minutos; se emplearon tamices colectores y se estableció un transecto longitudinal en la dirección del cauce; además, se realizó la búsqueda visual de caracoles sobre las plantas y demás sustratos de la zona inundada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prevalencia de la fasciolosis calculada por el método de coprología fue del 12,3%; la zona dos y tres presentaron animales positivos por este método, con mayor prevalencia en esta última zona, donde se registró una alta significancia es-

tadística y una alta probabilidad de adquisición de la enfermedad ($p < 0,01$; OR:96; IC95%:27-600) (Tabla 1). Este resultado se puede atribuir a la sensibilidad de la técnica utilizada.

La prevalencia de fasciolosis en los bovinos analizados por ELISA fue de 19,1%; todas las zonas evaluadas presenta-

ron animales con anticuerpos frente a *F. hepatica*. La zona tres, nuevamente, presentó la mayor frecuencia de animales positivos, con una alta significancia estadística y alto riesgo de adquisición de la enfermedad ($p < 0,01$; OR: 10,7; IC95%:6,1-19) (Tabla 2).

Tabla 1. Prevalencia de *F. hepatica* en bovinos por zona geográfica, de acuerdo a los resultados del coprológico, en la región centro sur, del departamento de Caldas, Colombia.

ZONAS	TOTAL	POS	PREV (%)	P	OR	IC (%)
1	159	0	0	-	-	-
2	97	2	2,1	<0,01	0,11	0,01-0,4
3	122	49	40	<0,01	96	27-600
4	36	0	0,0	-	-	-
TOTAL	414	51	12,3			

POS: Número de positivos; PREV: Prevalencia; P: Valor de p calculado por MID-p exacto; OR: Odds ratio, calculado con MID-p exacto; IC: Intervalo de confianza.

Tabla 2. Prevalencia de *F. hepatica* en bovinos por la técnica ELISA, en la región centro sur, del departamento de Caldas, Colombia.

ZONAS	TOTAL	POS	PREV (%)	P	OR	IC (%)
1	159	3	1,9	<0,01	0,04	0,01-0,13
2	97	14	14,4	0,18	0,65	0,3-1,2
3	122	57	46,7	<0,01	10,7	6,1-19
4	36	5	13,9	0,21	0,7	0,2-1,7
TOTAL	414	79	19,1			

POS: Número de positivos; PREV: Prevalencia; P: Valor de p calculado por MID-p exacto; OR: Odds ratio, calculado con MID-p exacto; IC: Intervalo de confianza.

La prevalencia de fasciolosis para los bovinos en los predios evaluados por PCR convencional fue del 67,2%, con animales positivos en la zona 2 y 3 (Tabla 3); este valor fue mayor al obtenido por los otros métodos utilizados. Es necesario aclarar que no se pudo analizar las muestras de la zona 1, debido a que las mismas fueron conservadas en formalina al 10% y no fue posible obtener el ADN, por la degradación del mismo. De manera similar a lo obtenido en los resultados anteriores, se observa una alta significancia estadística y alta probabilidad de adquisición de la enfermedad en la zona 3 ($p < 0,01$ OR: 2,6 IC95%: 1,34-5,12) (Tabla 4).

Un factor en común en los tres métodos utilizados es la alta significancia estadística y valores de odds ratio altos, acompañados con intervalos de confianza mayores de 1, presentes en la zona 3 (Tabla 1, 2 y 3). Estos valores elevados pueden estar vinculados a diferentes factores de riesgo asociados con la enfermedad, tales como la presencia de caracoles, que son reportados como hospederos intermediarios del parásito, que se encuentran en las pasturas y en las plantas acuáticas, en las que se pueden implantar las metacercarias.

Aunque los métodos coproparasitológicos son de gran utilidad y de bajo costo (Duthaler *et al.* 2010; Godoy *et al.* 2010) son moderadamente sensibles para detectar la infección por

Tabla 3. Prevalencia de *F. hepatica* en bovinos por PCR convencional, en la región centro sur, del departamento de Caldas, Colombia.

ZONA	TOTAL	POS	PREV (%)	P	OR	IC (%)
2	33	25	75,8	0,06	2,2	0,94-5,5
3	114	79	69,3	<0,01	2,61	1,34-5,12
4	21	0	0,00	-	-	-
TOTAL	168	104	67,2			-

POS: Número de positivos; PREV: Prevalencia; P: valor de p calculado por MID-p exacto; OR: Odds ratio, calculado con MID-p exacto; IC: Intervalo de confianza.

Tabla 4. Prevalencia de *F. hepatica* en bovinos, en la región centro sur del departamento de Caldas, Colombia, según la altura sobre el nivel del mar y método de detección utilizado.

COPROLÓGICO					
RANGOS DE ALTURA	POS	NEG	P	OR	IC
1900-2500	47	153	<0,01	16,04	6,12-53,33
2501-3100	4	51	0,22	0,52	0,15-1,4
3101-3800	0	159	NC	NC	NC
ELISAS					
1900-2500	73	127	<0,001	19,8	8,8-51,5
2501-3100	3	52	<0,01	0,21	0,051-0,63
3101-3800	3	156	<0,001	0,045	0,01-0,13
PCR					
1900-2500	82	41	0,03	2,08	1,03-4,2
2501-3100	22	23	0,03	0,48	0,23-0,96
3101-3800	0	0	NC	NC	NC

POS: Muestras positivas; NEG: Muestras negativas; P: Valor de p; OR: Odds ratio; IC: Intervalo de confianza al 95%.

F. hepatica, cuando la emisión de huevos al medio es moderada y alta, lo que coincide con la infección aguda y crónica, respectivamente. Los métodos tienen reducida sensibilidad al encontrarse en infecciones de baja intensidad o en la fase migratoria del parásito, después de haber sido ingerida su forma infectante (Fredes *et al.* 2001; Duthaler *et al.* 2010).

Estudios en Colombia indican que el parásito afecta al 25% de los bovinos en producción lechera; de allí, se generan pérdidas, por la disminución en la producción de leche y de carne (Becerra, 2001). De manera similar, Wilches *et al.* (2009), reportaron en el departamento de Antioquia, prevalencias mayores del 40%; en estos estudios, el método de diagnóstico empleado fue el coprológico, por lo tanto, si se comparan estos resultados con los obtenidos por el mismo método en

el presente estudio, se podría concluir que la prevalencia de la fasciolosis, en esta zona de Caldas, es intermedia y representa un problema importante de salud animal.

Al comparar los resultados obtenidos en el coprológico con respecto a las pruebas de Elisa, se evidenció que 33 de las 51 muestras positivas por el coprológico fueron también positivas para la presencia de IgG contra *F. hepática*. El grado de concordancia de ambos métodos fue moderado al aplicar el índice kappa ($k=0,421$; $P=<0.01$). Dentro de los factores asociados con este resultado, se debe tener en cuenta el grado de parasitismo de los animales; la presencia de baja cantidad de parásitos adultos disminuye la probabilidad de encontrar huevos en las heces, factor que puede estar asociado, también, con la ausencia de cambios patológicos y de

sintomatología en el animal. Los estímulos antigénicos del parásito al inicio, durante su migración y el paso al estado adulto, generan una respuesta inmunológica, asociada con la producción de anticuerpos, que alcanzan a ser detectados por los métodos implementados para este propósito. Algunos estudios han demostrado que las IgM y las IgE se elevan algunas semanas después de la infección (Salimi-Bejestani *et al.* 2005); la IgG puede ser detectada por tres a siete meses después del tratamiento efectivo contra *F. hepatica* (Gorman *et al.* 1998; Castro *et al.* 2000), generando una huella inmunológica del proceso infeccioso previo.

Contrasta la alta frecuencia de animales positivos por PCR con los obtenidos por medio del coprológico y la prueba de ELISA; los índices de concordancia, al comparar los tres métodos, muestran que la misma es baja, siendo estadísticamente significativa cuando se compara el coprológico con la PCR ($k: 0,28$ $P: <0,01$). Este hallazgo puede estar asociado a la mayor sensibilidad de la prueba molecular (Kaplan *et al.* 1995; Cucher *et al.* 2006; Caron *et al.* 2011; 2014) y podría ser un indicador de la baja sensibilidad del coprológico, para la detección de los huevos del parásito; sin embargo, se requieren estudios adicionales, que puedan servir para corroborar este resultado.

La mayoría de las muestras analizadas por el método molecular procedieron de la zona dos y tres, áreas en las que se obtuvieron las frecuencias más altas de coprológicos positivos y de anticuerpos frente al parásito (Tabla 1 y 2). Se podría argumentar que la amplificación realizada no es específica para *Fasciola* sp.; por esta razón, se procedió a analizar el grado de anillamiento de los cebadores utilizados en el proceso de amplificación con otras secuencias no asociadas con *F. hepatica*, con el uso del programa basic alignment search tool (BLAST), del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos. Se observó, que dichos cebadores no se alineaban con secuencias asociadas con genes presentes en bovinos, con plantas que hicieran parte de su alimentación, ni con microorganismos que pudieran estar presentes en su tracto digestivo. En cuanto a la sensibilidad del PCR, ensayos realizados por Kaplan *et al.* (1995) y Caron *et al.* (2014), han demostrado que la misma puede detectar la presencia del genoma de *F. hepatica* en caracoles, infectados con un solo miracidio.

En el presente estudio, se buscaron en las cuatro zonas de muestreo la presencia de caracoles que pudieran ser hospederos intermediarios de *F. hepatica*; dichos moluscos fueron encontrados en tres fincas, de la zona dos y en tres predios, de la zona tres. De los caracoles encontrados en dichos predios, solamente *Lymnaea columella* se ha asociado con la transmisión de *F. hepatica*, en Colombia (López *et al.* 2008; Wilches *et al.* 2009). Los caracoles, se albergaron en al menos diez especies diferentes de plantas, siendo la más fre-

cuentada los berros (*Nasturtium officinale*) (Giraldo & Álvarez, 2013), planta preferida por los herbívoros domésticos, en razón de su palatabilidad y digestibilidad, que coincide con los registros de otros países (Prepelitchi *et al.* 2011).

Tanto los caracoles como las plantas, se encuentran en fuentes de agua tomadas por los predios rurales para su abastecimiento, en especial, manantiales y quebradas; los bovinos tienen libre acceso a dichas fuentes, que generan la contaminación permanente del agua, con materias fecales infectadas y la ingesta de agua y de vegetación con metacercarias, que perpetúan, de manera indefinida, la infección por este trematodo. El análisis de los caracoles obtenidos no demostró la presencia de formas intramolusco del parásito; sin embargo, otros estudios han encontrado que los métodos microscópicos para la búsqueda de estas formas larvares, no es tan sensible como el uso de métodos moleculares (Caron *et al.* 2011), los cuales, no pudieron ser utilizados por limitaciones presupuestales.

Los predios en los que se detectó la presencia de *L. columella* estuvieron entre los 1.980 y 3.800msnm; la mayoría de ellos, entre los 1.900 y los 2.500msnm (5 predios). Al analizar si había asociación estadísticamente significativa entre el piso térmico y las muestras positivas, se registró que en todos los métodos utilizados hubo significancia estadística en el rango de 1.900 a 2.500msnm (Tabla 4), siendo este resultado un indicio de la importancia de este hospedero intermediario en la transmisión y mantenimiento de *F. hepática*, en dichos predios.

De los resultados obtenidos, se confirma la presencia de fasciolosis en esta región de Caldas; si se tiene en cuenta la prevalencia encontrada por el método molecular, ésta es superior a lo observado en otros estudios adelantados en Colombia. El uso del método molecular podría evidenciar un subdiagnóstico de la enfermedad, con el uso de la técnica coprológica, como la prueba de ELISA; métodos que al ser aplicados en zonas con baja endemicidad podrían generar alto porcentaje de falsos negativos. Se requiere hacer estudios que permitan validar la técnica molecular, como un método de detección de fasciolosis bovina.

La zona tres es la que presenta el mayor número de animales positivos; indica este hallazgo, la presencia de factores de riesgo que contribuyen a la dispersión del parásito, en la población bovina de esta zona, en la cual, se identifican los hospedadores intermediarios relacionados con la transmisión del parásito; la interacción entre especies introducidas del viejo mundo (bovinos, *Fasciola*, *Lymnaea columella* e, incluso, el hospedero más frecuente del caracol, *Nasturtium officinale*), han generado un ensamble que, a su vez, se constituye en foco endémico, en la región norte de Suramérica.

Se recomienda hacer estudios adicionales que confirmen los resultados obtenidos e identifiquen los factores de riesgo que incrementan la prevalencia de la enfermedad, utilizando, por ejemplo, métodos moleculares, que permitan detectar la presencia de cercarias y metacercarias en el agua, en las plantas o la presencia de formas larvianas dentro de los caracoles, asociados a este ecosistema.

De igual manera, se recomienda el uso de métodos moleculares, adecuadamente validados, para la detección del parásito en heces, ya que, de acuerdo a los resultados obtenidos, podrían detectar una mayor proporción de animales infectados, que tienen una baja carga parasitaria.

Conflictos de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados; además, que no se tienen ninguna relación comercial o contractual con las casas comerciales proveedoras de los materiales y reactivos utilizados en esta investigación. **Financiación:** Este estudio fue financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones y Posgrados de la Universidad de Caldas.

BIBLIOGRAFÍA

1. BECERRA, W. 2001. Consideraciones sobre estrategias sostenibles para el control de *Fasciola hepatica* en Latinoamérica. Rev. Col. Cienc. Pec. 14(1):28-35.
2. BERNARDO, C.C.; CARNEIRO, M.B.; AVELAR, B.R.; DONATELE, D.M.; MARTINS, I.V.F.; PEREIRA, M.J.S. 2011. Prevalence of liver condemnation due to bovine fasciolosis in southern Espírito Santo: temporal distribution and economic losses. Rev. Bras. Parasitol Vet. 20(1):49-53.
3. BORAY, J.C.; CROWFOOT, P.D.; STRONG, M.B. 1983. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. Vet. Record. 113(14):315-322.
4. CARON, Y.; MARTENS, K.; LEMPEREUR, L.; SAEGERMAN, C.; LOSSON, B. 2014. New insight in lymnaeid snails (Mollusca, Gastropoda) as intermediate hosts of *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) in Belgium and Luxembourg. Parasites & Vectors. (Reino Unido). 7:66.
5. CARON, Y.; LASRI, S.; LOSSON, B. 2007. *Fasciola hepatica*: an assessment on the vectorial capacity of *Radix labiata* and *R. balthica* commonly found in Belgium. Vet. Parasitol. 149(1-2):95-103.
6. CARON, Y.; RIGHI, S.; LEMPEREUR, L.; SAEGERMAN, C.; LOSSON, B. 2011. An optimized DNA extraction and multiplex PCR for the detection of *Fasciola* sp. in lymnaeid snails. Vet. Parasitol. 178(1-2):93-99.
7. CASTRO, E.; FREYRE, A.; HERNANDEZ, Z. 2000. Serological responses of cattle after treatment and during natural re-infection with *Fasciola hepatica* measured using a dot-ELISA system. Vet. Parasitol. 90(3):201-208.
8. CORREA, S.; MARTÍNEZ, Y.L.; LÓPEZ, J.L.; VELÁSQUEZ, L.E. 2016. Evaluación de la técnica parasitológica Dennis modificada para el diagnóstico de fasciolosis bovina. Biomédica. 36(2) Publicación provisional.
9. CUCHER, M.A.; CARNEVALE, S.; PREPELITCHI, L.; WISNEVESKY-COLLI, C. 2006. PCR diagnosis of *Fasciola hepatica* in field-collected *Lymnaea columella* and *Lymnaea viatrix* snails. Vet. Parasitol. 137(1-2):74-82.
10. DALTON, J.P. 1999. Editor. Epidemiology and control. En: Fasciolosis. Oxford, UK: CABI publ. p.113-149.
11. DENNIS, W.; STONE, W.; SWANSON, L. 1954. A new laboratory and field diagnostic test for fluke ova in feces. Florida Agr. Exp. Station J. Series. 172:47-50.
12. DÜTHALER, U.; RINALDI, L.; MAURELLI, M.P.; VARGAS, M.; UZINGER, J.; CRINGOLI, G.; KEISER J. 2010. *Fasciola hepatica*: Comparison of the sedimentation and FLOTAC techniques for the detection and quantification of faecal egg counts in rats. Exp. Parasitol. 126(2):161-166.
13. ESTEBAN, J.G.; FLORES, A.; ANGLES, R.; STRAUSS, W.; AGUIRRE, C.; MAS-COMA, S. 1997. A population-based coprological study of human fascioliasis in a hyperendemic area of the Bolivian Altiplano. Trop. Med. Int. Health (Reino Unido). 2(7):695-699.
14. FREDES, F.; SÁNCHEZ, C.; GORMAN, T.; ALCAINO, H. 2001. Purificación de antígenos de *Fasciola hepatica* mediante electroelución y su aplicación inmunodiagnóstica en la infección animal. Parasitol. Día. (Chile). 25(1-2):19-23.
15. FOX, N.J.; WHITE, P.C.L.; MCCLEAN, C.J.; MARION, G.; EVANS, A.; HUTCHINGS, M.R. 2011. Predicting Impacts of Climate Change on *Fasciola hepatica* Risk. PLoS ONE 6(1): e16126.

16. GIRALDO, E.J.; ÁLVAREZ, L.M. 2013. Registro de plantas hospederas de caracoles Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), vectores de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), en humedales de la región central andina colombiana. *Vet. Zoot.* 7(2):63-74.
17. GODOY M., Y.; ROQUE L., E.; RODRIGUEZ F., R. 2010. Diagnóstico coproparasitológico de *Fasciola hepatica* en ganado bovino en una empresa pecuaria cubana. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 21(2):175-179.
18. GORMAN, T.; SÁNCHEZ, R.; FREDERES, F.; ALCAINO, H. 1998. Inmunodiagnóstico de fasciolosis bovina mediante ELISA y Western Blot. *Parasitol. Día.* 22(1-2):16-22.
19. HASEEB, M.A.; FRIED, B. 1997. Modes of transmissions of trematode infections and their control. In: Fried, B.; Graczyk, T. (Eds). *Trematode Biology*. CRC Press (Boca Raton). 466p.
20. KAPLAN, R.M.; DAME, J.B.; REDDY, G.R.; COURTNEY, C.H. 1997. The prevalence of *Fasciola hepatica* in its snail intermediate host determined by DNA probe assay. *Int. J. Parasitol (Reino Unido).* 27(12):1585-1593.
21. KAPLAN, R.M.; DAME, J.B.; REDDY, G.R.; COURTNEY, C.H. 1995. A repetitive DNA probe for the sensitive detection of *Fasciola hepatica* infected snails. *Int. J. Parasitol.* 25:601-610.
22. LÓPEZ, L.P.; ROMERO, J.; VELÁSQUEZ, L.E. 2008. Aislamiento de Paramphistomidae en vacas de leche y en el hospedador intermediario (*Lymnaea truncatula* y *Lymnaea columella*) en una granja del trópico alto en el occidente de Colombia. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 21(1):9-18.
23. MALONE, J.B.; YILMA, J.M. 1999. Predicting outbreaks of fasciolosis: from ollerenshaw to satellites. In: Dalton, J.P. (ed.). *Fasciolosis*. Dublin: School of Biotechnology. p.151-182.
24. MARCOS, L.A.; TERASHIMA, A. 2007. Update on human fascioliasis in Peru: Diagnosis, treatment and clinical classification proposal. *Neotrop. Helminthol. (Perú).* 1(2):85-104.
25. MAS-COMA, S.; ANGLES, R.; ESTEBAN, J.G.; BUCHON, P.; FRANKEN, M.; SATRAUSS, W. 1999. The Northern Bolivian Altiplano: a region highly endemic for human fascioliasis. *Trop. Med. Int. Health (Reino Unido).* 4(6):454-467.
26. MAS-COMA, S.; VALERO, M.A.; BARGÜES, M.D. 2009. *Fasciola*, lymnaeids and human fascioliasis, with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. *Adv. Parasitol.* 69:41-146.
27. PINHEIRO, J.; MALDONADO, A.J.; ATTIAS, M.; LANFREDI, R.M. 2004. Morphology of the rediae of *Echinostoma paraensei* (Trematoda: Echinostomatidae) from its intermediate host *Lymnaea columella* (Mollusca, Gastropoda). *Parasitology research (Alemania).* 93(3):171-177.
28. PREPELITCHI, L.; PIETROKOVSKY, S.; KLEIMAN, F.; RÜBEL, D.; ISSIA, L.; MORIENA, R.; RACIOPPI, O.; ÁLVAREZ, J.; WISNIVESKY-COLLI, C. 2011. Population structure and dynamics of *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Gastropoda: Lymnaeidae) in wetlands of northeastern Argentina. *Zool. Studies (Taiwan).* 50(2):164-176.
29. PULIDO, A.; CASTAÑEDA, R.; ARBELÁEZ, G. 2010. Fasciolosis hepática, pedagogía de diagnóstico por laboratorio y su situación en Colombia. *REDVET.* 12:1-11.
30. RABINOVICH, J.E. 1980. Introducción a la ecología de Poblaciones Animales. México. Editorial Continental S.A. 313p.
31. RECALDE-REYES, D.P.; PADILLA SANABRIA, L.; GIRALDO GIRALDO, M.I.; TORO SEGOVIA, L.J.; GONZALEZ, M.M.; CASTAÑO OSORIO, J.C. 2014. Prevalencia de *Fasciola hepatica*, en humanos y bovinos en el departamento del Quindío-Colombia 2012-2013. *Infectio (Colombia).* 18(4):153-157.
32. SALIMI-BEJESTANI, M.R.; MCGARRY, J.W.; FELSTEAD, S.; ORTIZ, P.; AKCA, A.; WILLIAMS, D.J. 2005. Development of an antibody-detection ELISA for *Fasciola hepatica* and its evaluation against a commercially available test. *Res. Vet. Sci.* 78:177-181.
33. TICONA, D.S.; CHÁVEZ, A.; CASAS, G.; CHAVERA, C.A.; LI, E.O. 2010. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos y ovinos de Vilcashuamán, Ayacucho. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 21:168-174.
34. URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. 2001. *Parasitología Veterinaria*. Editorial Acribia S.A. Segunda Edición. Zaragoza: Impreso en Grafic Rm Color. S.L. p.115-130.

35. VALENCIA, M.N.; PARIONA D., A.; HUAMÁN A., M.; MIRANDA M., F.; QUINTANILLA C., S.; GONZALES A., A. 2005. Seroprevalencia de fasciolosis en escolares y en ganado vacuno en la provincia de Huancavelica, Perú. *Rev. Peru Med. Exp. Salud Públ.* 22(2):96-102.
36. VALENCIA-LÓPEZ, N.; MALONE, J.B.; CARMONA, C.G.; VELÁSQUEZ, L.E. 2012. Climate-based risk models for *Fasciola hepatica* in Colombia. *Geospat Health.* 6(3):67-85.
37. VELÁSQUEZ, L.E. 2006. Synonymy between *Lymnaea bogotensis* Pilsbry, 1935 and *Lymnaea cou-*
sini Jousseume, 1887 (Gastropoda: Lymnaeidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 101(7):795-799.
38. WILCHES, C.; JARAMILLO, J.G.; MUÑOZ, D.L.; ROBLEDOS, S.M.; VÉLEZ, I.D. 2009. Presencia de infestación por *Fasciola hepatica* en habitantes del valle de San Nicolás, oriente antioqueño. *Infectio* 13(2):92-99.

Recibido: Octubre 6 de 2015

Aceptado: Febrero 5 de 2016

Cómo citar:

Giraldo Pinzón, E.; Pérez Cardenas, J.; Aguilar Marín, S.; Linares Villaba, S. Prevalencia de fasciolosis bovina en una zona de Caldas Colombia con evidencias de la enfermedad. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(2): 139-148.

PREVALENCIA DE OTITIS PARASITARIA POR *Rhabditis* sp. EN EMPRESAS GANADERAS GYR EN CÓRDOBA, COLOMBIA

PREVALENCE OF *Rhabditis* sp. PARASITIC OTITIS IN CATTLE FARMS GYR IN CORDOBA, COLOMBIA

Alfonso Calderón¹, José Cardona², Marlene Vargas³

¹MVZ, M.Sc., Docente, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba, kilómetro 27 vía Ciénaga de Oro. Estudiante Doctorado en Medicina Tropical, SUE-Caribe, Universidad de Cartagena, e-mail: acalderonr@correo.unicordoba.edu.co; ²MVZ, Esp, M.Sc. Ph.D, Docente, Grupo de Investigación en Medicina de Grandes Animales (MEGA), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba, kilómetro 27 vía Ciénaga de Oro. Correspondencia: e-mail: jacardonaalvarez@correo.unicordoba.edu.co; ³MVZ, M.Sc, Ph.D, Docente, Departamento de Medicina Veterinaria. Universidad Federal de Viçosa, Brasil, e-mail: bebel@ufv.br

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 149-154, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Dentro del género *Bos indicus*, las razas Indubrasil y Gyr son más susceptibles a la otitis parasitaria por *Rhabditis bovis*. El ganado Gyr, por sus características zootécnicas en el Caribe colombiano, ha sido seleccionado para la producción de leche. El objetivo de la presente investigación fue determinar la prevalencia de otitis parasitaria por *Rhabditis* sp., en bovinos Gyr, en empresas ganaderas de Córdoba, Colombia. Se implementó un estudio descriptivo prospectivo de conveniencia, donde se recolectaron hisopados de cerumen de los conductos auditivos externos, de 136 bovinos. El criterio de diagnóstico fue la observación directa del movimiento en masa del cerumen y la visualización de los nematodos. La prevalencia de otitis parasitaria fue del 83,82%. Hubo diferencia significativa para las variables otitis clínicas, otorrea y olor. El diagnóstico del parásito demuestra la existencia de *Rhabditis* sp., como causa de otitis parasitaria en ganados Gyr, en empresas ganaderas de Córdoba.

Palabras clave: Cerumen, diagnóstico, doble propósito, nematodo.

SUMMARY

Within the genus *Bos indicus*, the Indubrasil and Gyr breeds are more susceptible to *Rhabditis bovis* parasitic otitis. The Gyr breed due to its characteristics, in the Colombian Caribe has been selected for milk production. The objective was to determine the prevalence of *Rhabditis* sp., parasitic otitis in Gyr cattle farms in different livestock enterprises in Cordoba, Colombia. A prospective descriptive study was implemented

by convenience. Swabs of cerumen from ear canals of 136 cattle were collected in six cattle farms. The diagnostic criterion was the direct observation of the mass movement of cerumen and visualization of nematodes. The prevalence of parasitic otitis was 83.82%. Significant difference was found for the variables clinical otitis, otorrhea and odor, the sex variable was not analyzed. Parasite diagnosis shows the existence of *Rhabditis* sp. as the cause of parasitic otitis in cattle in livestock farms in Cordoba (Colombia).

Key words: Cerumen, diagnosis, dual purpose, Nematoda

INTRODUCCIÓN

Las razas de la especie *Bos indicus* más propensas a la otitis parasitaria por *Rhabditis bovis* son las Indubrasil y Gyr. Msolla *et al.* (1993) y Verocai *et al.* (2007) afirman que esto obedece a la conformación anatómica del oído externo de estas razas y de sus canales auditivos. En países tropicales, la infestación por nematodos del género *Rhabditis* es la principal causa de la otitis externa en los bovinos; por lo general, se producen brotes y puede afectar hasta el 100% del hato, como lo referencia Duarte *et al.* (2001). Leite *et al.* (2013) afirman que esta problemática representa un problema de salud serio del hato. Vieira *et al.* (1998) explican que el impacto económico de la otitis en la producción de las empresas ganaderas, se puede presentar por la devaluación de animales genéticamente puros y por los costos de los medicamentos, para prevención y control. Souza *et al.* (2008) afirman que dentro de las pérdidas económicas, se incluyen la reducción en la producción de leche, la ganancia de peso y, en casos extremos, la muerte.

El género *Rhabditis* es saprófito, generalmente se desarrolla en materia orgánica en descomposición, como por ejemplo heces frescas; sus miembros son de vida libre, como lo señalan Vieira *et al.* (2001), Duarte & Hamdan (2004), Souza *et al.* (2008). Dentro de las principales fuentes de contagio, se encuentran las actividades grupales como: baños, vacunaciones y pesajes, que por el hacinamiento, favorece la diseminación rápida del parásito, a partir de animales enfermos a sanos (Msolla *et al.* 1986; Cardona *et al.* 2010).

Ushewokunze *et al.* (1999) señalaron que un factor de riesgo es la presencia de moscas; Obatolu *et al.* (1999), en África, mencionan que la mosca doméstica podría ser un vector de nematodos, igualmente Verocai *et al.* (2007), en Brasil, sugirieron que la mosca doméstica podría tener un papel importante en la diseminación del nematodo; sin embargo, Leite *et al.* (2012) postulan que aún hace faltan estudios, que clarifiquen el mecanismo de transmisión.

Abdalla *et al.* (2008) y Cardona *et al.* (2010) sostienen que la otitis parasitaria por *Rhabditis* produce estrés y dolor, debido al proceso inflamatorio que causa el estrechamiento del canal auditivo y la pérdida de audición.

Dentro de los signos clínicos, Msolla *et al.* (1993) y Verocai *et al.* (2007) incluyen secreción purulenta y fétida, otorrea que predispone a la miasis y signos nerviosos, como hemiplejía facial, que afecta la aprehensión y la masticación, que reducen drásticamente la producción y la ganancia de peso. Abdalla *et al.* (2008) y Souza *et al.* (2008) manifiestan que la pérdida del equilibrio y de la coordinación, se presenta por el síndrome vestibular, caracterizado por la inclinación de la cabeza, constante nistagmo de tipo horizontal y caída de orejas, párpados, nariz y los labios se tornan flácidos.

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de otitis parasitaria por *Rhabditis* sp., en bovinos Gyr, en empresas ganaderas doble propósito, en cuatro municipios del departamento de Córdoba, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se implementó un estudio descriptivo, que involucró zonas rurales de los municipios de Planeta Rica, Cereté, San Carlos y Sahagún, de la región del Medio Sinú, del departamento de Córdoba, donde las características geoclimáticas son similares. Córdoba está ubicado entre las coordenadas 7°23' y 9°26' de latitud Norte y los 74°52' y 76°32' de longitud al Oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 30msnm, con temperatura promedio anual de 28°C, humedad relativa del 82%, precipitación media anual de 1400mm; pertenece a la formación climática de bosque tropical lluvioso y presentan dos épocas de máxima y mínima precipitación, bien definidas (Palencia *et al.* 2006).

Para calcular el tamaño de la muestra, se utilizó el censo de la raza Gyr, del registro de la Asociación Colombiana de Criadores de Ganado Cebú del 2010, que fue de 2.728 bovinos puros (Fedegan & Ganacor, 2013) y se estableció, como tamaño de la muestra, 136 bovinos puros de la raza Gyr, con un intervalo de confianza del 95%, un margen de error del 0,05 y un prevalencia del 90% (Casal & Mateu, 2003). Esta muestra, se tomó en las cuatro mayores empresas ganaderas de la raza Gyr, empresas en las que la población fluctuó alrededor de 300 ejemplares. De cada hato se tomaron 36 muestras, tratando que la población de adultos y jóvenes fuera igual y pertenecía a ambos sexos.

Todos los bovinos involucrados, en el presente estudio, se inmovilizaron en un brete y se hizo sujeción de la cabeza, para garantizar la integridad física del personal involucrado y hacer más fácil la recolección del cerumen de los conductos auditivos externos. El cerumen, se obtuvo mediante el hisopado de los conductos auditivos externos, observando en forma directa el movimiento en masa del cerumen. Posteriormente, el material recolectado se depositó en tubos de ensayo, debidamente identificados y luego transportados a temperatura ambiente al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Córdoba, donde se observó utilizando un microscopio estereoscópico. La observación en forma directa del movimiento en masa del cerumen y la visualización de los nematodos fue el criterio de diagnóstico. El estudio de campo, se realizó entre julio y noviembre de 2013.

Además se realizó la evaluación de la condición corporal (CC) de cada animal, cuyo objetivo fue la estimación de las reservas corporales, grasa y músculos, mediante la calificación visual y la palpación de las costillas, la columna vertebral, los huesos de la cadera e inserción de la cola. En esta evaluación se compara lo observado con un modelo, al que se le han predeterminado unos valores numéricos. Uno corresponde a un animal emaciado y nueve a uno obeso (Houghton *et al.* 1990; Wagner *et al.* 1988; Kabaleski, 2013).

La identificación de los signos clínicos de otitis parasitaria por *Rhabditis* sp., se realizó por medio de un examen clínico, en donde a la palpación en las bases de las orejas, se evaluó la presencia de dolor y linfadenitis de los nódulos linfáticos mandibulares. Este examen, se hizo en ambos conductos auditivos. Las valoraciones siempre fueron realizadas por el mismo Médico Veterinario Zootecnista (MVZ), quien es uno de los autores.

Los datos, se organizaron en tablas y se analizaron en forma descriptiva en el Software SAS. Se usó Chi.cuadrado, para ver si los datos obtenidos presentan variaciones estadísticamente significativas (Gómez *et al.* 2003).

El estudio fue considerado de bajo riesgo por el Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad de Córdoba. La manipulación de los bovinos, para la toma de las muestras, se realizó bajo la supervisión de un MVZ, quien siempre tuvo en cuenta los procedimientos de toma de muestras, manejo y conservación, según las normas de las buenas prácticas de laboratorio y las normas éticas, técnicas y científicas, conforme a la Ley 84 (Congreso de Colombia, 1989). A lo largo del estudio, se mantuvo la confidencialidad de la información de las fincas y de los animales evaluados. Para evitar errores de apreciación, la valoración clínica de la otorrea siempre fue realizada por el mismo profesional.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 136 ejemplares de bovinos de la raza Gyr, donde el 97,8% fueron hembras y el 2,2%, machos (Tabla 1), provenientes de las cuatro empresas ganaderas, dedicadas a su cría y fomento, ubicadas en áreas rurales de Córdoba, se obtuvo una prevalencia del 83,82%, para otitis clínica parasitaria por *Rhabditis* sp.

En Colombia, no se han realizado estudios de prevalencia de otitis parasitaria clínica por *Rhabditis* sp. En ganado Gyr,

sólo se han reportado dos estudios de frecuencia en Córdoba (Cardona *et al.* 2012), donde reporta una frecuencia de 63,2% y Cardona *et al.* (2014), en Sucre, del 85,6%. Este tipo de otitis parasitaria se presenta, principalmente, en ganados Gyr, por la disposición del oído externo y sus conductos auditivos, el acúmulo del cerumen, como lo reportan Msolla *et al.* (1993) y Verocai *et al.* (2007). Además influyen las condiciones de humedad y de calor de la zona, escenarios que ofrecen condiciones favorables, para el desarrollo del nematodo *Rhabditis* spp. (Verocai *et al.* 2007).

En países tropicales, como Tanzania (Msolla *et al.* 1993), Kenia (Round, 1962; Matandala *et al.* 2002), Zimbabwe (Ushewokunze *et al.* 1999) y Brasil (Vieira *et al.* 1998), la infestación por nematodos del género *Rhabditis* es la principal causa de la otitis externa, en el ganado bovino.

Vieira *et al.* (1998), en Brasil, en empresas ganaderas de Gyr puro, observó un alto índice de prevalencia de otitis parasitaria por *Rhabditis* sp; Leite *et al.* (1993), en Minas Gerais, del 93%; Vieira *et al.* (1998), en Goiás, del 78,43%; Duarte *et al.* (2001), en Minas Gerais, del 60,1%; Verocai *et al.* (2007), en Río de Janeiro, del 90,9% y Leite *et al.* (2013), en Minas Gerais, del 52,2%. Estos reportes están demostrando un alto potencial de transmisión y la necesidad de implementar me-

Tabla 1. Prevalencia de otitis parasitaria clínica por *Rhabditis* sp., en bovinos Gyr, en cuatro empresas ganaderas de Córdoba, por sexo.

Categoría	Negativos		Positivos		TOTAL	
	%	n	%	n	%	N
Hembras	13,97	19	83,8	114	97,8	133
Machos	2,20	3	0,00	0	2,20	3
TOTAL	16,2	22	83,8	114	100	136

didadas de control. Msolla *et al.* (1993), Vieira *et al.* (2001) y Duarte & Hamdan (2004) afirman que esta parasitosis puede causar disminución de la producción de leche y disminución de la ganancia de peso, ocasionando así pérdidas económicas para los productores.

El 72,78% de la población evaluada correspondió a bovinos adultos, mientras que el 27,20%, a bovinos jóvenes y la prevalencia, de acuerdo al grupo etario edad (adulto y joven), se presenta en la tabla 2. La mayor prevalencia, se reveló dentro del grupo adulto (64,70%), por ser la mayor población evaluada, pero se observa que bovinos jóvenes, también se están infectando. Estos resultados concuerdan con el estudio de Martins *et al.* (1971) y Duarte *et al.* (2001), quienes asociaron síntomas de otitis a ganado adulto, mientras que en los animales jóvenes, las infecciones observadas fueron generalmente pocas.

Diversos estudios han demostrado que existe gran diferencia en las manifestaciones clínicas de la enfermedad, entre animales adultos y jóvenes. Martins *et al.* (1971) afirmaron que las infecciones en adultos se asociaron, generalmente, con síntomas de otitis, mientras infecciones en los terneros son siempre leves y asintomáticas. Leite *et al.* (1993) y Duarte *et al.* (2001) concluyen que en vacas Gyr la prevalencia de otitis parasitaria fue significativamente mayor por la presencia de cuernos y puede ser considerado como un factor de riesgo, ya que los cuernos grandes pueden comprimir el canal auditivo y crear un ambiente más propicio, para un mayor parasitismo.

Se determinó que existe asociación entre otitis parasitaria y las variables otorrea, otitis clínica y olor fétido ($p < 0,001$); para estos casos, la otorrea, la otitis clínica y el olor fétido están asociados con la otitis parasitaria. En contraste, no se

Tabla 2. Presencia de otitis parasitaria clínica por *Rhabditis* sp., en bovinos Gyr, en cuatro empresas ganaderas de Córdoba, por edad.

Categoría	Adulto		Joven		TOTAL	
	%	n	%	n	%	N
Negativo	8,1	11	8,1	11	16,2	22
Positivo	64,7	88	19,12	26	83,8	114
TOTAL	72,8	99	27,2	37	100	136

encontró asociación para la variable condición corporal con otitis parasitaria. Florio *et al.* (2012), respecto a la presentación de otitis parasitaria y la condición corporal, concluyeron que la condición corporal depende de otros factores, como la nutrición, el estado fisiológico del animal, entre otros.

En la tabla 3, se presenta la estadística descriptiva de la otitis, donde se observó que el 77,21% fue otitis clínica y el 6,61% no fue clínica. Esto se determinó por la no evidencia de signos clínicos, pero sí se observó en el cerumen, el movimiento en masa y presencia de nematodos, parámetros de diagnósticos considerados como positivos para otitis parasitaria, en este estudio.

Con relación al grado de la otorrea o salida de flujo o secreciones procedentes del conducto auditivo externo (Tabla 4), en el 82,35% fueron evidentes y en el 1,47%, sin otorrea, pero con diagnóstico positivo, a partir del cerumen. Esto coincide con estudios previos, donde se describe que animales con otitis parasitaria, en la mayoría de los casos, presentan la afección en ambas orejas, acompañadas principalmente de otorrea con secreción, algunas veces purulenta,

fétida y proceso inflamatorio, que causa el estrechamiento del canal auditivo, dolor a la palpación en las bases de las orejas y linfadenitis de los nódulos linfáticos mandibulares (Vieira *et al.* 1998; 2001; Abdalla *et al.* 2008).

El olor fétido, se manifestó en el 68,38% y, en el 31,54%, el olor fue normal, pero en el 15,44%, el diagnóstico fue positivo, a partir del cerumen, ya que se demostró movimiento en masa del cerumen y presencia de nematodos; en el 16,17%, el olor fue normal y no se evidenciaron estos parámetros, considerados como positivos para otitis parasitaria, en este estudio (Tabla 5).

Las muestras fueron colectadas en los meses de mayor precipitación, por lo que se puede inferir, que la alta prevalencia puede estar influenciada por la presentación de lluvias y la elevada humedad relativa. Vieira *et al.* (2001) y Duarte & Hamdan (2004) afirmaron que estas condiciones favorecen una mayor presentación de material en descomposición, que mejora la condición del ciclo reproductivo del nematodo. Igualmente, Leite *et al.* (2013) determinaron que la alta humedad relativa y la elevada temperatura ambiental favoreció la transmisión de *Rhabditis* sp., agente etiológico de la otitis parasitaria.

Tabla 3. Presencia o ausencia de otitis clínica en bovinos Gyr, en cuatro empresas ganaderas de Córdoba ($p < 0,001$).

Categoría	Sin otitis clínica		Con otitis clínica		TOTAL	
	%	n	%	n	%	N
Negativo	16,2	22	0,00	0	16,2	22
Positivo	6,6	9	77,2	105	83,8	114
TOTAL	22,8	31	77,2	105	100	136

Tabla 4. Presencia o ausencia de otorrea en bovinos Gyr, en empresas ganaderas de Córdoba ($p < 0,001$).

Categoría	Sin otorrea		Con otorrea		TOTAL	
	%	n	%	n	%	N
Negativo	16,2	22	0,00	0	16,2	22
Positivo	1,4	2	82,4	112	83,8	114
TOTAL	17,6	24	82,4	112	100	136

Tabla 5. Caracterización del olor en bovinos Gyr, en empresas ganaderas de Córdoba (p<0,001).

Categoría	Fétido		Normal		TOTAL	
	%	n	%	n	%	N
Negativo	0,00	0	16,2	22	16,2	22
Positivo	68,4	93	15,4	21	83,8	114
TOTAL	68,4	93	31,6	43	100	136

La prevalencia de otitis parasitaria clínica por *Rhabditis* sp., en ganados Gyr, en empresas ganaderas de Córdoba fue alta y es necesario establecer un adecuado manejo de toda la materia en descomposición, existente en lugares donde se produce una mayor concentración de animales, como corrales y bretes. Estas medidas deben realizarse con el fin de erradicar dichos focos de infección e implementar medidas de control integrado, que incluyan estrategias químicas, biológicas o culturales e implementar planes sanitarios curativos y profilácticos.

Agradecimientos: Los autores agradecen a todos los ganaderos y asistentes técnicos, quienes permitieron la toma de las muestras en sus empresas ganaderas. **Conflictos de intereses:** Este manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que pongan en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABDALLA, M.S.; PEIXOTO, T.C.; ALVES P, A.M.; FRANÇA, T.N.; BRITO, M.F. 2008. Aspectos anatómopatológicos de la otitis causada por *Rhabditis* sp. en bovinos en Río de Janeiro. Brasil. Disponible desde internet en: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/r0743-1.pdf> (con acceso 14/04/2015).
2. CARDONA, J.; GONZÁLEZ, M.; ÁLVAREZ, J. 2010. Otitis bovina por *Rhabditis bovis* en Córdoba, Colombia. Reporte de dos casos. Rev. MVZ Córdoba (Colombia) 15:2240-2244.
3. CARDONA, J.; GONZÁLEZ, M.; ÁLVAREZ, J. 2012. Frecuencia de otitis parasitaria clínica por nematodos Rhabditiformes (*Rhabditis* spp.) en seis fincas de la raza Gyr en Córdoba, Colombia. Rev. Col. Cienc Pec. 25:417-421.
4. CARDONA, J.; CALDERÓN, A.; PERDOMO, S. 2014. Frecuencia de otitis parasitaria bovina (*Rhabditis* spp.) en tres explotaciones de la raza Gyr en el Departamento de Sucre, Colombia. Rev. Científica, FCV-LUZ (Venezuela) 24(1):22-26.
5. CASAL, J.; MATEU, E. 2003. Tipos de muestreo. Rev. Epidem. Med. Prev (España). 1: 3-7.
6. CONGRESO DE COLOMBIA. 1989. Estatuto nacional de protección animal. Ley 84/1989 del 27 de Diciembre. Diario Oficial 39120 de Diciembre 27 de 1989. Disponible desde Internet en: <http://spac-05.tripod.com/id24.html> (con acceso 14/04/2015).
7. DUARTE, E.; MELO, M.; HAMDAN, J. 2001. Epidemiological aspects of bovine parasitic otitis caused by *Rhabditis* spp. and/or *Railletia* spp. In the state of Minas Gerais, Brazil. Vet. Parasitol (Brasil). 101(1):45-52.
8. DUARTE, E.; HAMDAN, J.S. 2004. Otitis in cattle, an aetiological review. J. Vet. Med. B Infect Dis Vet Public Health (Alemania). 51(1):1-7.
9. FEDERACIÓN COLOMBIANA DE GANADEROS – FEDEGAN-; FEDERACIÓN GANADERA DE CORDOBA –GANACOR-. 2013. Informe final ciclo II 2013. Coordinación regional Córdoba (Colombia). 15p.
10. FLORIO, L.J.; TAMASAIKAS, R.; RIVERA, S. 2012. Diagnóstico participativo de hemotrópicos en bovinos a nivel de pequeños productores y productoras de ganadería doble propósito en el sur del estado Aragua en la República Bolivariana de Venezuela. AICA (España). 2:163-170.
11. GÓMEZ, G.M.; DANGLLOT, B.D.; LEOPOLDO VEJA, F.L. 2003. Sinopsis de pruebas estadísticas nas paramétricas. Cuando usarlas. Rev Mex Pediatr 70(2): 91-99. 2003.
12. HOUGHTON, P.L.; LEMENAGER, R.P.; HORSTMAN, L.A.; HENDRIX, K.S.; MOSS, G.E. 1990. Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. J. Anim Sci 68(5):1438-1446.
13. KABALESKI, C.D. 2013. Condición corporal en ganado de carne. Disponible en: <http://www.produccion->

- animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_condicion_corporal/50-Condicion_Corporal_Carne.pdf (con acceso 14/04/2015).
14. LEITE, R.C.; NUNES, V.A.; NUNES, I.J.; COSTA, A.L.; FACCINI, J.L.H.; LOPES, C.W.G. 1993. Otite parasitária bovina por nematóides rhabditiformes: aspectos epidemiológicos e clínicos. Rev. Bras. Med. Vet. 5(2):49-51.
 15. LEITE, P.V.B.; CUNHA, L.M.; OLIVEIRA, P.R.; LEITE, L.B.; LEITE, R.C. 2012. Farmers' perception about parasitic otitis in Gyr breed from three states of Brazil. Pesq. Vet. Bras. 32(9):855-858.
 16. LEITE, P.V.B.; LEITE, L.B.; CUNHA, A.P. da SILVA, M.X.; BELLO, A.C.P.P.; DOMINGUES, L.N.; LEITE, A.; LEITE, R.C. 2013. Clinical aspects and dynamics of auricular parasitosis in Gir cattle. Pesq. Vet. Bras. 33(3):319-325.
 17. MARTINS, J.R.; NUNES, I.J.; RIBEIRAL, L.A.; ROSAZ, C.E.E.; NUNES, V.A. 1971. Nota sobre a ocorrência de Rhabditidae (Nematoda, Rhabditida) relacionados com otite em bovinos na região geo-econômica de Brasília, DF. Ciência e Cultura. 23:248-249.
 18. MATANDALA, M.; MUGERA, G.; NGATIA, T. 2002. Prevalence of bovine (nematodes) otitis in Kenya. Kenya Vet. 25:32-35.
 19. MSOLLA, P.; MATAFU, E.; MONRAD, J. 1986. Epidemiology of bovine parasitic otitis in Tanzania. Trop. Anim. Health Prod. (Estados Unidos). 18:51-52.
 20. MSOLLA, P.; SEMUGURUKA, W.D.; KASSUKU, A.A.; SHOO, M.K. 1993. Clinical observations on bovine parasitic otitis in Tanzania. Trop. Anim. Health Prod. 25(1):15-18.
 21. OBATOLU, U.U.; PFUKENYI, D.M.; USHE, T. 1999. A retrospective epidemiological study of parasitic otitis in cattle in the South-East Lowveld of Zimbabwe. Zimbabwe Vet. J. 30(1):19-24.
 22. PALENCIA, G.; MERCADO, T.; COMBATT, E. 2006. Estudio agroclimatológico del departamento de Córdoba. Universidad de Córdoba. Editorial Gráficas del Caribe. 129p.
 23. ROUND, M.C. 1962. The helminth parasites of domesticated animals in Kenya. J. Helminthol. (Inglaterra). 36(4):375-449.
 24. SOUZA, W.A.; CALDERARO, T.; MATOSINHO, R.O.; PRATELLESI, N.B.; SOLIVA, A.N.; NEVES, M.F. 2008. Otite parasitária causada por nematoides Rhabditiformes. Rev. Cient. Eletônica Med. Vet. 6(11):1-5. Disponible desde Internet en: http://www.faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/SXkBRrCphpOGdSJ_2013-6-13-15-43-8.pdf (con acceso 14/04/2015).
 25. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS –SAS-. 2001. User's Guide (Version 9.1), Cary (USA). Institute. SAS/STAT.
 26. USHEWOKUNZE, O.U.; PFUKENYI, D.; USHE, T. 1999. A retrospective epidemiological study of parasitic otitis in cattle in South-East Lowveld of Zimbabwe. Zimbabwe Vet. J. 30(1):19-24.
 27. VEROCAI, G.G.; FERNANDES, J.I.; CORREIA, T.R.; MELO, R.M.P.S.; ALVES, P.A.M.; SCOTT, F.B. 2007. Otite parasitária bovina por nematóides rhabditiformes em vacas Gir no Estado do Rio de Janeiro. Brazil J. Parasitol. Vet. 16(2):105-107.
 28. VIEIRA, M.; Da SILVA, L.; BORGES, N.; BARROS, J.; IGLESIAS, A.; VIEIRA, E. 1998. Estudo da prevalência de otites clínicas por *Rhabditis sp.* em bovinos da raça Gir no estado de Goiás. Anais Esc. Agron. Vet. (Brasil) 28:19-29.
 29. VIEIRA, M.; Da SILVA, L.; ARAÚJO, J.; ANDRADE, M.; FIORAVANTI, M.; SILVA E. 2001. Otites parasitárias por nematóides rhabditiformes em bovinos: avaliação de tratamentos. Ciênc. Anim. Bras. 2(1):51-55.
 30. WAGNER, J.J.; LUSBY, K.S.; OLTJEN, J.W.; RAKES-TRAW, J.; WETTEMANN R.P.; WALTERS, L.E. 1988. Carcass composition in mature Hereford cows: estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. J. Anim Sci 66(3): 603-612.

Recibido: Abril 20 de 2015
 Aceptado Marzo 29 de 2016

Cómo citar:

Calderón, A.; Cardona, J.; Vargas, M. 2016. Prevalencia de otitis parasitaria por *Rhabditis sp.* en empresas ganaderas Gyr en Córdoba, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 149-154.

SUPLEMENTACIÓN CON AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA EN LA PROGRESIÓN DE LA HEPATITIS CRÓNICA

SUPPLEMENTATION WITH BRANCHED-CHAIN AMINO ACID ON THE PROGRESSION OF CRONIC HEPATITIS

Jorge Mario Cruz Amaya¹, Melina Flórez Cuadros², William Narváez Solarte³

¹DMV, Ph.D., Docente. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agrarias. Calle 59^A No. 63-40, Grupo de investigación en biodiversidad y genética molecular BIOGEM, e-mail: jmcrusa@unal.edu.co; ²MVZ, cPh.D. Universidad de Nebraska, e-mail: melinaflorezcudros@huskers.unl.edu; ³ZOOT., Ph.D., Docente. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Calle 65 No. 26-10, Manizales, Colombia, e-mail: wnarvaez@ucaldas.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 155-160, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

La malnutrición calórico-proteica es una condición frecuente en la falla hepática. El objetivo fue evaluar el efecto de la suplementación con aminoácidos de cadena ramificada (ACR), en la dieta de ratas con hepatitis crónica. Se generó daño hepático, aplicando tetracloruro de carbono (CCL₄), durante diez semanas, en todos los tratamientos, excepto en el control. Las unidades experimentales fueron asignadas aleatoriamente a seis tratamientos: valina, leucina, isoleucina, los tres ACR, CCL₄ y control, con cinco repeticiones por tratamiento y tres animales por unidad experimental. Se midió la concentración sérica de albúmina. Las lesiones tisulares histopatológicas fueron evaluadas, asignando un valor de cero a tres a variables, como infiltración celular, vacuolización y fibrosis. Se monitoreó la ganancia de peso, el consumo de alimento y los signos relacionados con daño hepático. Las muestras fueron tomadas en la semana 6, 8 y 10 del experimento. Se realizó un análisis de varianza, fijando una significancia de $p < 0,05$ y la prueba de comparación múltiple de Tukey, en la presencia de diferencia estadísticamente significativa. El suplemento de la dieta con ACR no alteró la progresión de la fibrogenesis; sin embargo, las ratas bajo el tratamiento valina, mostraron un peso significativamente superior. Los animales en los tratamientos leucina y valina exhibieron un consumo de alimento significativamente superiores. En ningún tratamiento se observaron signos de insuficiencia hepática. Se concluye que la suplementación con ACR valina y leucina podrían tener un efecto benéfico en el desbalance proteico, que se presenta en la enfermedad hepática crónica.

Palabras clave: Enfermedad hepática, aminoácidos de cadena ramificada, desnutrición proteica.

SUMMARY

Malnourishment is a common condition of hepatic failure. Our objective was to evaluate the effect of supplementation with branched-chain amino acid (BCAA) in the diet of rats with chronic hepatitis. Liver damage was generated using carbon tetrachloride (CCl₄) for ten weeks in all treatments except control. Experimental units were randomly assigned to six treatments: valine, leucine, isoleucine, three BCAA, CCl₄ and control, five replicates per treatment, and three animals per experimental unit. Serum albumin concentrations were compare. Tissue injury level was histopathologically graded from zero to three looking for disturbances such as cellular infiltration, fibrosis, and vacuolization. Also, weight gain, food intake, and liver damage signs were monitored. Samples were taken at week 6, 8, and 10. When the effect of treatment was significant ($p < 0.05$) in the analysis of variance, multiple comparisons were adjusted with Tukey-Kramer method. The dietary supplement with BCAA does not alter the progression of fibrogenesis. However, rats under valine treatment showed significantly more weight. Animals in leucine and valine treatments exhibited significantly higher food intake. No signs of liver failure were observed in any treatment. As conclusion, valine and leucine supplementation could have a positive effect in the protein imbalance present in the chronic liver disease.

Key words: Chronic hepatitis, branched chain amino acids, protein malnutrition.

INTRODUCCIÓN

La malnutrición calórico-proteica es una condición frecuente, compleja y multifactorial en la falla hepática, que se presenta hasta en un 90% de los pacientes con cirrosis (Larsen,

2008) y está fuertemente asociada a mayor morbilidad y mortalidad (Khanna & Gopalan, 2007).

La disminución en el consumo de proteínas, causado por la sensación de saciedad, la alteración del sentido del gusto y la incapacidad del hígado para metabolizar glucosa, puede desarrollar un estado catabólico y caquexia (Charton, 2006). De otra parte, existe en estos pacientes una alteración en la relación de los aminoácidos de cadena ramificada (ACR) y los aminoácidos aromáticos (AAA), que se caracteriza por una disminución notable de los primeros (Larsen, 2008; Tajiri & Shimizu, 2013), siendo este tipo de aminoácidos un sustrato importante para la detoxificación cerebral e inhibición de la proteólisis del músculo esquelético (Kondrup, 2006).

La desnutrición proteica en la cirrosis esta usualmente caracterizada por la reducción en la albúmina sérica y la disminución del volumen del músculo esquelético. Existe una correlación altamente significativa entre los niveles plasmáticos de albúmina y los ACR, donde los niveles bajos de ACR en plasma van asociados a hipoalbuminemia (Yoshida *et al.* 1989).

Del mismo modo, el hígado juega un papel importante en el metabolismo energético. Los pacientes con cirrosis presentan un deterioro en la acumulación del glucógeno, debido a la atrofia del órgano y, por lo tanto, desarrollan estados catabólicos severos, cuando se presenta ayuno (Nakaya *et al.* 2007).

Las hepatopatías crónicas, con frecuencia, son incurables, ya que los tratamientos instaurados no detienen la progresión de la enfermedad a cirrosis y la consecuente falla hepática. La terapia, se realiza dirigida al control de los síntomas que se van desarrollando y en evitar las complicaciones secundarias. Las modificaciones dietéticas, con base en el balance de la calidad y la cantidad de proteína, se mantienen, como uno de los pilares del tratamiento para la enfermedad hepática crónica (García *et al.* 2007; Tajiri & Shimizu, 2013).

El trasplante hepático es la única alternativa de supervivencia a largo plazo cuando existe cirrosis, pero debido a la poca disponibilidad de órganos y los altos costos de la cirugía, no está ampliamente disponible (García *et al.* 2007). En la actualidad, la terapia de la falla hepática, tanto en animales como en el hombre, está muy lejos de haber alcanzado un objetivo óptimo y sigue planteando serios retos en la investigación (Muddu *et al.* 2007).

La terapia con ACR en pacientes con fallo hepático, se ha intentado en el pasado y, en la actualidad, existen conceptos contradictorios al respecto. Algunos autores no han encontrado efectos benéficos (Charton, 2006), mientras que otros han observado que mejoran la relación de ACR/AAA en plasma (Nakaya *et al.* 2002), la ganancia de peso, el aumento de

la albúmina plasmática y la calidad de vida (Moriwaki *et al.* 2004; Chen *et al.* 2015) y disminuyen los signos de encefalopatía (Marchesini *et al.* 2005; Tajiri & Shimizu, 2013).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación en la dieta con ACR, en ratas con enfermedad hepática crónica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo, se llevó a cabo en el bioterio de la Universidad de Caldas, ubicado en Manizales, Colombia, a 2.150msnm, con una temperatura promedio de 20°C y humedad relativa de 78%. Las dietas evaluadas fueron elaboradas en la Unidad Tecnológica de Alimentos y los análisis histopatológicos y sanguíneos en los laboratorios de Patología Veterinaria y Patología Clínica de la misma institución. La presente investigación fue avalada por el comité de ética para la experimentación con animales de la Universidad de Caldas, acta número 2 de abril 28, 2009.

Se utilizaron 81 ratas (*Rattus norvegicus*), línea Wistar, con un peso inicial aproximado de 257g y ocho meses de edad, procedentes del bioterio de la Universidad de Caldas. Se distribuyeron en 25 cajas plásticas transparentes de 40cm de largo, 30 de fondo y 50 de alto (Vanyplas®), con 500g de cascarilla de arroz, como cama, con recambio dos veces a la semana.

El alimento, se dispuso *ad libitum*. Hasta los siete meses de edad recibieron una dieta balanceada, que contenía 18% de proteína bruta, 4% de extracto etéreo, 5% de fibra bruta, 1% de calcio y 0,8% de fósforo. Después de este periodo, los animales tuvieron una etapa de adaptación a la dieta experimental, con un cambio gradual de ocho días, hasta recibir el 100% de la dieta experimental básica, la cual, no contenía ACR, ni preservantes.

Los animales, se pesaron semanalmente desde el inicio del periodo experimental, en una báscula digital. De igual manera, en una ficha de seguimiento, se realizó el registro del consumo de alimento diario, la mortalidad y los signos clínicos observados en cada tratamiento.

Como dieta básica experimental, se utilizó la AIN 76, descrita por el American Institute of Nutrition para ratas de laboratorio (AIN, 1977), que contiene por cada kilogramo: 500g/sacarosa, 200g/caseína, 150g/fécula de maíz, 50g/celulosa, 50g/aceite de maíz, 30g/metionina, 20g/cloruro de colina. A esta dieta, se adicionó leucina, isoleucina y valina, para formar los diferentes tratamientos.

Una vez formuladas las dietas experimentales, se procedió a su elaboración en una mezcladora de tipo cilíndrica, con

50L de capacidad, adicionando todos los ingredientes y 6% de agua a 60°C. Se mezclaron los ingredientes durante 15 min; posteriormente, la mezcla se pasó por un molino con criba (Omega®), formando los pellets, que fueron secados en un horno, a una temperatura promedio de 55°C, durante dos horas y, luego, almacenados en el congelador, a -4°C, hasta su uso.

Superado el periodo de adaptación a la dieta, se indujo el daño hepático, en todos los animales, con la aplicación subcutánea de CCl₄, menos en el grupo control, según el protocolo de Proctor & Chatamra (1984). EL CCl₄, se preparó disuelto en aceite de oliva, en una proporción de 1:1. Esta mezcla, se aplicó dos veces por semana, a las dosis de 1mL/kg de peso corporal, por vía subcutánea, durante diez semanas.

A la sexta, octava y décima semana de aplicar el CCl₄, se muestreó un animal por unidad experimental, para observar los efectos de los tratamientos. Los animales fueron sacrificados con una sobre dosis de isoflurano (Isorane Lab.

Abbot®), según lo establecido por la American Veterinary Medical Association (2007). Una vez logrado el paro cardio-respiratorio, se tomó la muestra de sangre intracardiaca sin anticoagulante y una muestra de tejido hepático, utilizando, como conservante, formol al 10%. A la necropsia del animal, se registraron los hallazgos macroscópicos.

En el Laboratorio de Patología Clínica, las muestras de sangre se centrifugaron a 2000rpm, durante 15min, para la obtención de suero y la medición de albúmina. Las muestras de tejido hepático fueron coloreadas con hematoxilina-eosina. La lectura de las placa, se realizó teniendo en cuenta el grado de actividad inflamatoria, vacuolización y fibrosis, asignando una escala de cero, a tres a cada variable, donde cero no presenta actividad y tres presenta la actividad máxima, adaptando el sistema marcador METAVIR (Theise, 2007), especialmente diseñado, para pacientes con hepatitis.

Los animales, se distribuyeron en 6 tratamientos, en un diseño irrestrictamente al azar, formado por cinco repeticiones y tres animales por unidad experimental (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos experimentales, cantidad en gramos de aminoácidos de cadena ramificada, suplementados por cada 100g de dieta experimental.

Tratamiento	CCl ₄	leucina	isoleucina	valina
T0 CCl ₄	+	1,620	1,000	1,228
T1 ACR	+	2,694	1,522	1,832
T2 leucina	+	2,994	0,922	1,132
T3 isoleucina	+	1,494	1,672	1,132
T4 valina	+	1,494	0,922	2,007
T5 control	-	1,620	1,000	1,228

(+)= 1 mLCCl₄ de peso vivo durante diez semanas, subcutáneo, durante 10 semanas; (-)=no aplica.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), fijando la $p < 0,05$ y se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey, en la presencia de diferencia estadísticamente significativa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo, ningún tratamiento con adición de ACR alteró la progresión de la fibrogénesis ni el daño hepático; no se observaron diferencias estadísticas significativas en la evaluación histopatológica de las variables vacuolización, infiltración celular y fibrosis en los diferentes tratamientos. En general, las lesiones histopatológicas más notorias observadas fueron vacuolización acompañada de degeneración grasa y fibrosis centrolobulillar o puentes fibrocitos de comunicación porto-central, que se manifestaron de manera progresiva y con mayor intensidad, a medida que progresaba

el experimento en todos los tratamientos, en los cuales, el CCl₄ estaba presente.

El estudio histopatológico realizado en la semana seis mostró vacuolización y fibrosis leve alrededor de la vena central del lobulillo hepático en todos los tratamientos, excepto en el grupo control, que mostró normalidad (Figura 1). Posteriormente, en la semana ocho, se presentaron estas lesiones con mayor intensidad, pero con la misma severidad en todos los tratamientos; durante la semana diez, se observaron vacuolización y fibrosis importantes, con severa reducción del tejido hepático funcional.

Los niveles plasmáticos de albumina en los tratamientos con ACR, leucina, valina e isoleucina estuvieron por debajo del nivel fisiológico 35-40g/dl y no se observó diferencia estadís-

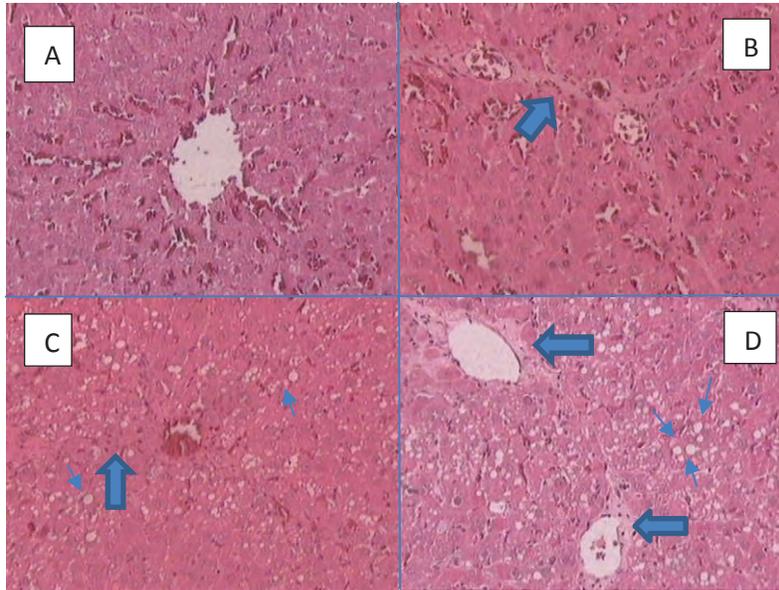


Figura 1: Daño hepático progresivo. A) T5 control en la semana seis, se observa una porción de lobulillo hepático normal con su vena central (400x); B) T0 CCl4 semana seis, fibrosis leve uniendo dos venas centrales (400x), flecha gruesa; C) T0 CCl4 semana ocho, fibrosis (flecha gruesa) y vacuolización (flechas delgadas) moderadas alrededor de central (400x); D) T0 CCl4 semana diez, vacuolización (flechas delgadas) y fibrosis (flechas gruesas) intensas entre dos venas centrales (400x).

tica entre tratamientos. En promedio, el nivel de albúmina estuvo entre 25-30g/dl, en todos los tratamientos, excepto para el grupo control, cuyo promedio fue de 35,2g/dl.

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), al evaluar las variables consumo de alimentos y peso corporal. Los animales del grupo valina tuvieron un consumo de alimento significativamente mayor, 78g/día, en promedio, al compararlos con el T0, 65g/día. Además, en cuanto al peso corporal, los tratamientos valina 249g y leucina 225g presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), al compararlos con el tratamiento T0, 190g.

Excepto la pérdida de peso, no se observaron signos de insuficiencia hepática en las ratas durante el experimento; tampoco, se encontraron lesiones macroscópicas durante las necropsias compatibles con lesión hepática.

Existe un interés especial en establecer si la terapia con aminoácidos de cadena ramificada (ACR) tiene efectos terapéuticos favorables en pacientes que sufren de enfermedad hepática crónica, debido al estado catabólico, que caracteriza esta condición. Los ACR no solo sirven de sustrato en la síntesis proteica, sino que también regulan el catabolismo de estas sustancias. Varios estudios han demostrado el efecto estimulante de los ACR sobre la síntesis de proteínas y la inhibición de la proteólisis (Holecek, 2010; Ishihara *et al.* 2014; Chen *et al.* 2015).

En este trabajo, el suplemento de la dieta con valina y leucina mostraron ventajas importantes respecto al equilibrio proteico de las ratas enfermas de hepatitis crónica. El tratamiento con valina reveló un consumo mayor de alimentos, mientras que este mismo tratamiento y el tratamiento leucina presentaron un peso significativamente superior. Y si bien, ambas respuestas son extremadamente importantes para un paciente con daño hepático, no se acompañaron de una mejoría en los parámetros de patología clínica, como el nivel plasmático de albúmina y el desarrollo lesiones tisulares. Estos resultados coinciden con lo reportado por Nakaya *et al.* (2002), Marchesini *et al.* (2005) y Tajiri & Shimizu (2013), investigadores quienes observaron que el suministro de ACR en pacientes humanos con cirrosis mejora la condición corporal y el estado nutricional, lo que se reflejó en una calidad de vida más alta y supervivencia mayor.

También, Chen *et al.* (2015) encontraron que los ACR mejoran la síntesis de proteína hepática, lo que ayuda a corregir el estado catabólico del paciente con daño hepático y disminuye la presentación de complicaciones secundarias, como el sangrado gastrointestinal. Al parecer, todo lo anterior se debe a que los ACR escapan del metabolismo hepático y están disponibles en la circulación general, para la síntesis de proteínas (Marchesini *et al.* 2005).

Tradicionalmente, los trabajos en los cuales se suplementan ACR en pacientes con daño hepático utilizan estos compues-

tos, de forma conjunta (Usui *et al.* 1996, Marchesini *et al.* 2005); sin embargo, Tomiya *et al.* (2002) demostraron en un estudio *in vitro* que la leucina era superior a la valina y la isoleucina, en estimular la secreción del factor de crecimiento hepático, por las células estrelladas, factor que estimula la producción de albumina, por los hepatocitos y su proliferación *in vitro* e *in vivo* (Tomiya *et al.* 2002; Tajiri & Shimizu, 2013).

A luz de los hallazgos de Tomiya *et al.* (2002), se podría pensar que los pacientes cirróticos se benefician del suplemento de leucina, más que de isoleucina y valina; no obstante, en este trabajo, el tratamiento con valina presentó una diferencia significativa en el consumo de alimentos y una ganancia de peso mayor, que los demás tratamientos.

El nivel plasmático de albumina no rebasó el límite inferior normal en ningún tratamiento, excepto en el control, en contraste con lo reportado por Kajiwara *et al.* (1998), quienes observaron que el nivel plasmático de albúmina se mantenía dentro de los rangos fisiológicos en ratas, a las cuales, se indujo daño hepático con CCL₄, tratadas con ACR. De otra parte, Ishihara *et al.* (2014) y Chen *et al.* (2015) reportaron que el suplemento con ACR a personas que padecían cirrosis o carcinoma hepático presentaron incrementos en el nivel de albumina plasmático.

Una concentración muy baja de albúmina produce disminución de la presión oncótica, lo que trae, como consecuencia, el desarrollo de ascitis y edema periférico (Brunton *et al.* 2009). En este experimento, no se advirtieron síntomas relacionados con hipoalbuminemia.

No se observaron diferencias significativas estadísticas en el grado de fibrosis, infiltración celular y vacuolización tisular, entre tratamientos. Ya se había reportado, que el tratamiento con ACR no alteraba la progresión de las lesiones (Kajiwara *et al.* 1998) y, a pesar de la gravedad de éstas, no se observaron signos relacionados a fallo hepático. De otra parte, el grupo tratado con valina presentó un consumo mayor de alimento y mayor peso corporal y es posible que estos animales tuvieran una supervivencia mayor, si el experimento se hubiera prolongado.

Se concluye que la suplementación dietética con valina y leucina en ratas con daño hepático crónico podría contrarrestar el desbalance calórico-proteico, al estimular el consumo de alimento y promover un mejor peso corporal. Esta recomendación podría estar indicada en otras especies animales y el hombre, especialmente, porque la suplementación con estos aminoácidos no origina complicaciones.

Conflictos de interés: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declara-

mos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. Guidelines on euthanasia. 2007. Disponible desde Internet en: www.avma.org/resources/euthanasia.pdf (con acceso 10/10/15).
2. BRUNTON, L.; LAZO, J.; PARKER, K. 2009. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Goodman & Gilman. 11ed. México. McGrawHill. p.567-569.
3. CHEN, L.; CHEN, Y.; WNG, X.; LI, H.; ZHANG, H.; GONG, J.; SHEN, S.; YIN, W.; HU, H. 2015. Efficacy and safety of oral branched-chain amino acid supplementation in patients undergoing interventions for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Nutr. J. USA.* 14 (67):1502-1515.
4. CHARTON, M. 2006. Branched-chain amino acid enriched supplements as therapy for liver disease. *J. Nutr. USA.* 136:295-298.
5. COMMITTEE OF AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION -AIN-. 1977. Report of American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutrition studies. *J. Nutr. USA.* 107:1340-1348.
6. GARCÍA, M.; GÁLVEZ, J.; ARMENDÁRIZ, J. 2007. Blancos terapéuticos para revertir la cirrosis hepática. *Rev. Méd. Chile.* 135:783-791.
7. HOLECEK, M. 2010. Three targets of branched-chain amino acid supplementation in the treatment of liver disease. *Nutr. USA* 26:482-490.
8. ISHIHARA, T.; IWASA, M.; TANAKA, H.; KAITO, M.; IKOMA, J.; SHIBATA, T.; TAKEI, Y. 2014. Effect of branched-chain amino acids in patients receiving intervention for hepatocellular carcinoma. *China.* 20 (10): 2673-2680.
9. KAJIWARA, K.; OKUNO, M.; KOBAYASHI, T.; HONMA, N.; MAKI, T.; KATO, M.; OHNISHI, H.; MUTO, Y.; MORIWAKI, H. 1998. Oral supplementation with branched-chain amino acids improves survival rate of rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. *Digest. Dis. Sci.* 43:1572-1579.
10. KHANNA, S.; GOPALAN, S. 2007. Role of branched-chain amino acids in liver diseases: the evidence for and against. *Curr. Opin. Clin. Nutr.* 10:297-303.

11. KONDRUP, J. 2006. Nutrition in end stage liver disease. *Best Pract. Res. Cl. Ga. ENGLAND* 20:547-560.
12. LARSEN, F. 2008. Branched-chain amino acids antagonism in the patients with cirrhosis and a simulated upper GI bleed. *J. Hepatol. ENGLAND* 49:686-687.
13. MARCHESINI, G.; MARZOCCHI, R.; NOIA, M.; BIANHI, G. 2005. Branched-chain amino acid supplementation in patients with liver diseases. *J. Nutr. USA* 135:1596-1601.
14. MORIWAKI, H.; MIWA, Y.; TAJIKA, M.; KATO, M.; FUKUSHIMA, H.; SHIRAKI, M. 2004. Branched-chain amino acids as a protein and energy source in liver cirrhosis. *Biochem. Bioph. Res. Co. USA* 313:405-409.
15. MUDDU, J.; GUHA, I.; ELSHARKAWY, M.; MANN, A. 2007. Resolving fibrosis in the diseases liver: Translating the scientific promise to the clinic. *Int. J. Biochem. Cell B. USA* 39: 695-714.
16. NAKAYA, Y.; HARAD, N.; KAKI, S.; OKADA, K.; TAKAHASHI, A.; INOI, J.; ITO, S. 2002. Severe catabolic state after prolonged fasting in cirrhotic patients: effect of oral branched-chain amino-acid enriched nutrient mixture. *J. Gastroenterol. JAPAN* 379: 531-536.
17. NAKAYA, Y.; OKITA, K.; SUZUKI, K.; MORIWAKI, H.; KATO, A.; KAITO, M.; WATANABE, A.; HABU, D., ITO, S.; ISHIKAWA, T.; KAWAMURA, N.; ARAWAKA, Y. 2007. BCAA-enriched snack improves nutritional State of cirrhosis. *Nutri. USA* 23:113-120.
18. PROCTOR, E.; CHATAMRA, K. 1984. Standardized micronodular cirrhosis in the rat. *Eur. Surg. Res. SWITZERLAND* 16:182-186.
19. TAJIRI, K.; SHIMIZU, Y. 2013. Branched-chain amino acids liver diseases. *World J. Gastroenterol. China* 19(43):7620-7629.
20. THEISE, N. 2007. Liver biopsy assessment in chronic viral hepatitis. *Mod. Pathol. USA* 20:3-14.
21. TOMIYA, T.; INOUE, Y.; YANASE, M.; ARAI, M.; IKEDA, H.; TEJIMA, K.; NAGASHIMA, K.; NISHIKAWA, T.; FUJIWARA, K. 2002. Leucine stimulates the secretion of hepatocyte grow factor by hepatic stellate cells. *Biochem. Bioph. Res. Co. USA* 297:1108-1111.
22. USUI, T.; MORIWAKI, H.; HATAKEYAMA, H.; KASAI, T.; KATO, M.; SEISHIMA, M.; OKUNO, M.; YOSHIDA, T.; MUTO, Y. 1996. Oral supplementation with branched-chain amino acids improves tansthyretin turnover in rats with carbon tetrachloride induced liver cirrhosis. *J. Nutri. USA* 126:1412-1420.
23. YOSHIDA, T.; MUTO, Y.; MORIWAKI, H.; YAMATO, M. 1989. Effect of long-term oral supplementation with branched-chain amino acid granules on the prognosis of liver cirrhosis. *Gastroenterol. Jpn.* 24:692-698.

Recibido: Febrero 19 de 2016

Aceptado: Mayo 2 de 2016

Cómo citar:

Cruz Amaya, J.M.; Flórez Cuadros, M.; Narváez Solarte, W. 2016. Suplementación con aminoácidos de cadena ramificada en la progresión de la hepatitis crónica. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 155-160.

EFFECTO DE DOS MANIOBRAS MANUALES CÍCLICAS DE RECLUTAMIENTO ALVEOLAR SOBRE GASES SANGUÍNEOS EN PERROS ANESTESIADOS

EFFECT OF TWO MANUAL CYCLICAL ALVEOLAR RECRUITMENT MANEUVERS ON THE VALUE OF BLOOD GASES IN ANESTHETIZED DOGS

Edwin Buriticá Gaviria¹, Diego Echeverry Bonilla², Diego Ospina Argüelles³

¹Médico Veterinario Zootecnista, Especialista en docencia universitaria, Especialista Clínico en pequeñas especies animales, M.Sc. en Ciencias Veterinarias. Grupo de Investigación en Medicina y Cirugía de Pequeños Animales. Universidad del Tolima, Código postal 730006299, Ibagué-Tolima, Colombia, e-mail: efburiticag@ut.edu.co; ²Médico Veterinario Zootecnista, Especialista en docencia universitaria, M.Sc. en técnicas de diagnóstico animal, Ph.D. en Veterinaria. Líder del Grupo de Investigación en Medicina y Cirugía de Pequeños Animales. Ibagué-Tolima, Colombia, e-mail: decheverry@ut.edu.co; ³Médico Veterinario Zootecnista, Especialista en pedagogía. Grupo de Investigación en Medicina y Cirugía de Pequeños Animales. Ibagué-Tolima, Colombia, e-mail: daospina@ut.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 161-168, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Las atelectasias durante la realización de procedimientos anestésicos afecta el intercambio gaseoso en seres humanos y en animales. Esta condición, se puede corregir, empleando maniobras de reclutamiento alveolar. El presente estudio evaluó el efecto de dos protocolos cíclicos de reclutamiento alveolar, mediante el incremento de la presión tele-espiratoria (PEEP), sobre seis parámetros de gases arteriales, en 28 caninos anestesiados. Los animales fueron asignados aleatoriamente en dos grupos, según la maniobra de reclutamiento alveolar (MRA) a realizar; grupo 1: Maniobra 1 (M1), reclutado con PEEP de 10cmH₂O y grupo 2: Maniobra 2 (M2), reclutado con PEEP de 20cmH₂O. Las MRA, se realizaron empleando una unidad de respiración artificial manual (AMBU). Para cada maniobra, se evaluó la PaO₂, PaCO₂, TCO₂, PaO₂/ FiO₂, SpO₂ y CaO₂, en cuatro tiempos a saber: T1 (basal en preanestesia), T2 (pre-reclutamiento), T3 (30 min post-maniobra) y T4 (24 h post-maniobra). En el tiempo T2, los valores de PaO₂, PaCO₂, TCO₂, SpO₂ y CaO₂ presentaron un incremento significativo ($p < 0,05$), respecto al tiempo basal T1. No se evidenciaron cambios estadísticos significativos tras realizar cada una de las MRA en el tiempo T3; sin embargo, hubo un incremento significativo ($p < 0,05$) en la PaO₂, de 13,5% y la PaO₂/FiO₂, del 13,5%, en el tiempo T4, tras realizar la maniobra M2. Se concluye, que la realización de MRA, mediante el empleo de AMBU, es una alternativa económica y segura de ventilación asistida, tras su empleo con PEEP inferiores a 20cm H₂O, en animales clínicamente sanos.

Palabras clave: Anestesia, atelectasia, gasometría, oxigenación, ventilación manual.

SUMMARY

The atelectasis during anesthesia affects gas exchange in humans and animals; this can be corrected using alveolar recruitment maneuvers (MRA). This study evaluated the effect of two cyclic alveolar recruitment protocols by increasing the positive end expiratory pressure (PEEP) on six parameters of arterial blood gases in 28 anesthetized bitches. The animals were randomly distributed into two groups according to the alveolar recruitment maneuver (MRA) to perform; Group 1: Maneuver 1 (M1) recruited with PEEP of 10cmH₂O and group 2: Maneuver 2 (M2) with PEEP 20cmH₂O recruited with 20 cmH₂O PEEP. Cyclic maneuvers were performed using ambulatory manual breathing units (AMBU). The PaO₂, PaCO₂, TCO₂, PaO₂/ FiO₂, SpO₂ y CaO₂ values was analyzed for each MRA in four times; T1 (baseline in preanesthesia), T2 (before of the recruitment), T3 (30 minutes after maneuver) and T4 (24 hours after maneuver). In the T2 moment the PaO₂, PaCO₂, TCO₂, SpO₂ and CaO₂ values showed a significant increase ($p < 0.05$) from T1 baseline moment. No significant changes were apparent after performing each maneuver in the time T3 of evaluation; however, there was a significant increase ($p < 0.05$) in PaO₂ of 13.5% in the time T4 after making the M2 maneuver. From which we conclude that the performance of alveolar recruitment maneuvers by artificial manual breathing units - AMBU are a safe alternative

to assisted ventilation during alveolar recruitment maneuvers with PEEP lower than 20cmH₂O in clinically healthy animals.

Key words: Anesthesia, atelectasis, gasometry, manual ventilation, oxygenation.

INTRODUCCIÓN

Bajo condiciones ideales cada unidad alveolar debería recibir la misma cantidad de aire inspirado y de sangre venosa, pero esta afirmación es solamente teórica, debido a la heterogenicidad alveolar, en diferentes áreas del pulmón. En la práctica clínica, la valoración del equilibrio entre ventilación y perfusión, se realiza mediante el estudio del intercambio gaseoso, en donde los valores de dióxido de carbono (CO₂) y de oxígeno (O₂) en sangre arterial son el reflejo de dicho equilibrio (Soro & Belda, 2009; Corcoran, 2013) y deben ser tenidos en cuenta, durante el monitoreo ventilatorio.

La atelectasia pulmonar es considerada como la principal causa de hipoxemia intraoperatoria. Las áreas de atelectasia se localizan, fundamentalmente, en las zonas dependientes del pulmón y afectan según el procedimiento quirúrgico realizado, entre un 5 y 50% de este órgano (Martínez & Cruz, 2008). El uso de fracciones inspiradas de oxígeno (FiO₂), superiores al 80%, favorecen la formación de atelectasias (Edmark *et al.* 2003), mientras que FiO₂, inferiores al 60%, han sido asociadas a una reducción preventiva de las mismas (Staffieri *et al.* 2010a). De acuerdo con Strandberg *et al.* (1986), las atelectasias generalmente desaparecen, tras las primeras 24 h del periodo postoperatorio, pero en otras ocasiones, pueden permanecer por varios días (Warner, 2000).

Diversas estrategias de distensión alveolar han sido desarrolladas para disminuir la presentación de atelectasias durante el periodo transanestésico, mediante la apertura de la mayor cantidad de unidades alveolares durante el mayor tiempo posible, a fin de mejorar el intercambio gaseoso (Perasso *et al.* 2006; Ibanovich *et al.* 2009; Tusman & Böhm, 2010; Ospina *et al.* 2014). Dentro de estas estrategias, se incluyen la presión positiva continua de la vía aérea (Rothen *et al.* 1993), posición prona (Gattinoni *et al.* 1993), suspiros intermitentes (Perasso *et al.* 2006), maniobra de capacidad vital (Martínez & Cruz, 2008) y la empleada en el presente estudio, presión positiva al final de la espiración (PEEP) (Torrente, 2011; Canfrán *et al.* 2012). La mayoría de las anteriores estrategias son habitualmente realizadas, mediante el empleo de equipos de ventilación mecánica controlada.

La disponibilidad de equipos de ventilación mecánica controlada puede ser una limitante para la práctica de estrategias de distensión alveolar transanestésica en veterinaria, especialmente, en países en vía de desarrollo. Debido a lo anterior, el empleo de unidades de respiración artificial manual (AMBÚ),

se constituye como una herramienta alternativa, que permite la aplicación de estrategias de distensión alveolar y soporte ventilatorio en la práctica médico veterinaria, en estos países (Maurya *et al.* 2008); sin embargo, del conocimiento de los autores, no se registran estudios publicados que demuestren cuál es el efecto del empleo del AMBÚ, como estrategia de distensión alveolar, sobre la dinámica de intercambio gaseoso en caninos. Tampoco existen evidencias que permitan dilucidar el efecto de estas maniobras, sobre el valor de gases sanguíneos, a las 24 horas de realizadas.

Debido a lo anterior, se planteó el presente estudio, con el objetivo de evaluar el efecto que tiene la realización de diversas maniobras cíclicas de reclutamiento alveolar, sobre el valor de gases sanguíneos, en perros anestesiados, empleando ventilación manual con AMBÚ.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio fue avalado por el comité de bioética de la Universidad del Tolima y desarrollado bajo los lineamientos de las leyes 84 de 1989 y 1774 de 2016 de protección animal y desarrollado en la Clínica de Pequeños Animales de la Universidad del Tolima, localizada en Ibagué, Tolima – Colombia, a una altura sobre el nivel del mar de 1.527msnm, una presión barométrica de 657mmHg y una temperatura promedio de 28,9°C.

Veintiocho hembras caninas, con un peso comprendido entre 9,0 y 31,4kg, un rango de edades entre 17,5 y 25,7 meses, clínicamente sanas y sometidas a profilaxis dentales, bajo un protocolo de anestesia general inhalada, fueron incluidas en el presente estudio prospectivo. Los criterios de inclusión para los animales ingresados incluyeron: edad entre 1 y 8 años, peso entre 5 y 35kg, normalidad en los resultados del examen físico y paraclínico. Por su parte, los criterios de exclusión comprendieron: obesidad, braquicefalia, agresividad y nerviosismo evidente. Las condiciones generales en las que se desarrolló el estudio fueron: no se realizó medicación preanestésica, la anestesia general fue inducida con tiopental sódico a posología de 12mg/kg,IV y mantenida en ventilación espontánea con isoflurano en oxígeno al 100%. La duración de la intervención (profilaxis dental) fue de 30 minutos, en todos los casos y los individuos fueron posicionados en decúbito lateral derecho, durante todo el tiempo anestésico.

Los animales incluidos en el estudio fueron asignados al azar, mediante un sistema de aleatorización en línea RANDOM.ORG, dentro de uno de los dos grupos experimentales a saber: El grupo uno (M1), reclutado mediante maniobra cíclica manual, a una PEEP progresiva de 10cmH₂O y el grupo dos (M2), reclutado manualmente, con una PEEP progresiva de 20cmH₂O; el acondicionamiento hemodinámico y los tiem-

pos de la maniobra, se encuentran referenciados en la figura 1. Las maniobras de reclutamiento alveolar fueron realizadas mediante el empleo de AMBU, a un volumen tidal de 10mL/kg, una presión de flujo inspiratorio de 10 cmH₂O y una relación inspiración:expiración (I:E) de 1:3. Los dispositivos AMBU fueron provistos de un manómetro integrado de presión inspiratoria y una válvula PEEP, para garantizar las condiciones ya mencionadas (Figura 2). Todas las maniobras de ventilación fueron desarrolladas por un mismo profesional entrenado y con experiencia en este tipo de maniobras.

Se obtuvieron muestras sanguíneas, mediante punción de la arteria femoral derecha o izquierda, en cuatro tiempos diferentes: T1 (basal en preanestesia), T2 (pre-reclutamiento), T3 (30 min post-maniobra) y T4 (24h post-maniobra). El T2 correspondió al momento en que los pacientes alcanzaron el plano anestésico III, para lo cual, fue empleado un resumen de los criterios de la clasificación de Guedel (Haskins, 2015): presencia de ventro rotación ocular, dilatación pupilar y tono mandibular disminuido; reflejos y respuestas fisiológicas a estímulos nociceptivos ausentes.

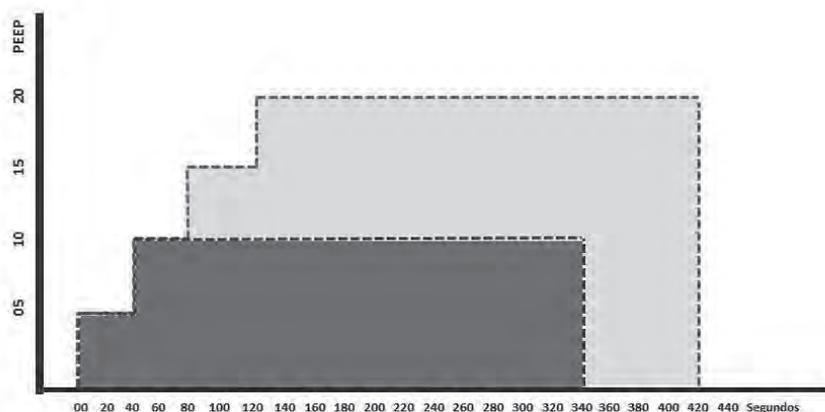


Figura 1. Relación entre la presión tele-espiratoria alcanzada y el tiempo de ejecución de la maniobra, para cada uno de los protocolos de reclutamiento, empleados en el estudio; grupo 1 (gris oscuro) y grupo 2 (gris claro). Los periodos de acondicionamiento hemodinámico, para los protocolos 1 y 2, se encuentran escalonados. El tiempo de reclutamiento para cada grupo fue de 300 segundos.

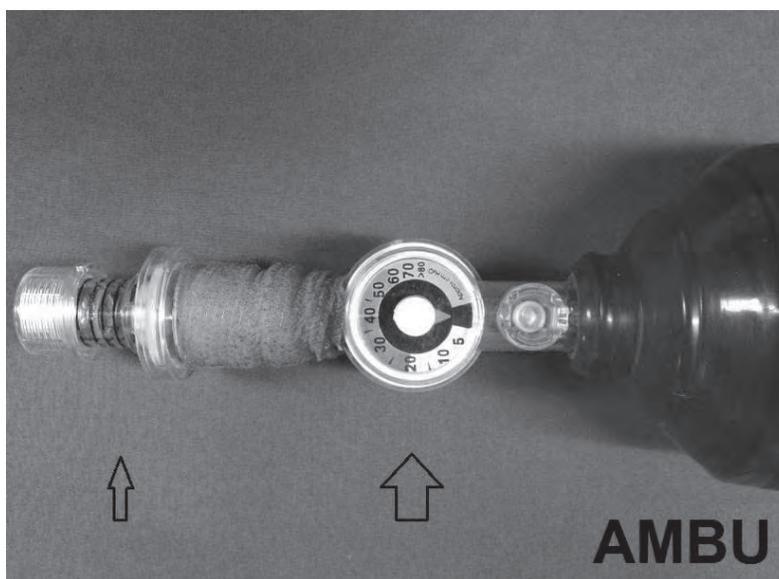


Figura 2. Unidad de respiración artificial manual –AMBU–, de sus siglas en idioma inglés artificial manual breathing unit. La flecha gruesa señala el manómetro integrado para control de presión inspiratoria; la flecha delgada señala la válvula ajustable de PEEP.

Cada muestra sanguínea fue procesada inmediatamente, empleando un equipo de hemogasometría portátil (I-STAT 300 / CG4+, Abbott point of care, Illinois). Las variables evaluadas fueron: presión arterial de oxígeno (PaO_2), presión arterial de dióxido de carbono (PaCO_2), dióxido de carbono total (TCO_2), relación presión arterial de oxígeno/fracción inspirada de oxígeno ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$), saturación de oxígeno (SpO_2) y concentración arterial de oxígeno (CaO_2).

Los registros de la frecuencia cardiaca y ventilatoria, presión arterial no invasiva sistólica, diastólica y media, así como también de la temperatura rectal fueron evaluados en cada uno de cuatro tiempos experimentales estudiados.

Todas las variables numéricas fueron analizadas, a través de medidas descriptivas. El tiempo T1, se comparó con el tiempo T4 (animales no anestesiados) y el tiempo T2, con el T3 (animales anestesiados), lo anterior, con el fin de estudiar posibles diferencias entre grupos. De igual manera, las dos maniobras fueron contrastadas entre sí, en cada uno de los tiempos, T3 y T4. La distribución normal de los datos fue verificada por medio de la prueba de Shapiro Wilk. El test de análisis de varianza de una vía (ANOVA), para mediciones repetidas, fue empleado para definir la diferencia entre variables. Los análisis no paramétricos fueron realizados mediante la prueba U-Mann Whitney, como *post hoc*. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo. Los datos fueron analizados en el Software Graph Pad Prism 6.0, California, USA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de dos maniobras manuales cíclicas de reclutamiento alveolar, mediante el incremento de la presión tele-espiratoria (PEEP), sobre seis parámetros de gases arteriales, en caninos anestesiados y ventilados, mediante el uso de AMBU. El actual estudio evidenció que el uso de las maniobras M1 y M2, empleadas en el presente trabajo, no generaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros sanguíneos evaluados en el tiempo T3, pero sí en el tiempo T4, para la maniobra M2, lo que hace suponer que el empleo de AMBU, a mayor presión y tiempo, podría tener un efecto sobre el valor de gases arteriales a las 24 horas de realizada cada maniobra de reclutamiento alveolar (MRA). Del conocimiento de los autores, este estudio es el primero en proveer información sobre los valores de referencia de los gases sanguíneos estudiados para cada uno de los tiempos evaluados, después de aplicar una MRA, mediante el empleo de AMBU; dichos resultados se muestra en la tabla 1.

Los valores de frecuencia cardiaca, frecuencia ventilatoria, presión arterial y temperatura rectal, no evidenciaron cambios estadísticos significativos entre los grupos comparables T1 – T4 y T2 – T3 y estuvieron entre los rangos descritos para la especie.

Durante el tiempo T2, los valores de PaO_2 , $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, PCO_2 y SpO_2 evidenciaron un incremento estadísticamente signifi-

Tabla 1. Valor de gases arteriales (\pm SD) para cada uno de los protocolos evaluados, en los tiempos T1, T2, T3 (M1 y M2), T4 (M1 y M2), presión arterial de oxígeno (PaO_2), presión arterial de dióxido de carbono (PaCO_2), dióxido de carbono total (TCO_2), relación presión arterial de oxígeno/fracción inspirada de oxígeno ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$), saturación de oxígeno (SpO_2) y concentración arterial de oxígeno (CaO_2).

Variable	T1	T2	30 minutos		24 horas	
			T3 (M1)	T3 (M2)	T4 (M1)	T4 (M2)
PaO_2 (mmHg)	91,7 (\pm 5,6)	558,9 (\pm 6,9)*	554,6 (\pm 6,9)	554,5 (\pm 5,3)	91,6 (\pm 3,3)	104,1 (\pm 1,8)*
PCO_2 (mmHg)	29,1 (\pm 4,5)	40,9 (\pm 5,6)*	44,3 (\pm 5,5)	44,4 (\pm 4,2)	29,2 (\pm 2,6)	28,9 (\pm 2,9)
TCO_2 (mmol/L)	20,1 (\pm 3,9)	23,8 (\pm 2,6)	24,2 (\pm 2,1)	24,6 (\pm 1,6)	19,5 (\pm 2,4)	19,2 (\pm 1,5)
$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	436,7 (\pm 26,8)	558,9 (\pm 6,9)*	554,6 (\pm 6,9)	554,5 (\pm 5,3)	436,1 (\pm 15,5)	495,1 (\pm 8,7)*
SpO_2 (%)	94,4 (\pm 1,5)	99,9 (\pm 0,2)*	98,2 (\pm 3,4)	99,4 (\pm 1,2)	94,6 (\pm 1,4)	93,2 (\pm 4,2)
CaO_2 (ml/dl)	19,5 (\pm 2,5)	21,5 (\pm 2,5)	21,9 (\pm 3,2)	20,4 (\pm 2,3)	18,4 (\pm 2,1)	19,9 (\pm 2,2)

* Significancia estadística $p < 0.05$.

cativo ($p < 0,05$), con respecto al T1 (Figura 3). Los demás parámetros de gases arteriales evaluados no mostraron diferencias estadísticas significativas en este tiempo. Se ha descrito que los fármacos barbitúricos ocasionan depresión respiratoria, sin cambios estadísticamente significativos sobre los parámetros de gases arteriales, tras la inducción anestésica (Robinson *et al.* 1986). Los incrementos presentados en los valores de gases arteriales, en el presente estudio, podrían ser asociados a la ventilación espontánea con isoflurano, vehiculizado en oxígeno al 100%, empleada en los animales estudiados (Edmark *et al.* 2003; Soro & Belda,

2009). En este sentido, se afirma que el uso de FiO_2 superiores al 21% genera un incremento de la PaO_2 , en una relación cercana de 1:5 (Haskins, 2015), por lo tanto, la aplicación de ventilación con FiO_2 al 100%, llevaría a incrementos promedio de la PaO_2 de 500mmHg, valores que fueron observados en el monitoreo hemogasométrico, del presente estudio, en los tiempos T2 y T3; de igual manera y debido a que la PaO_2/FiO_2 , y la SpO_2 son variables dependientes de la concentración de O_2 en sangre, estos parámetros también evidencian un incremento en los tiempos relacionados.

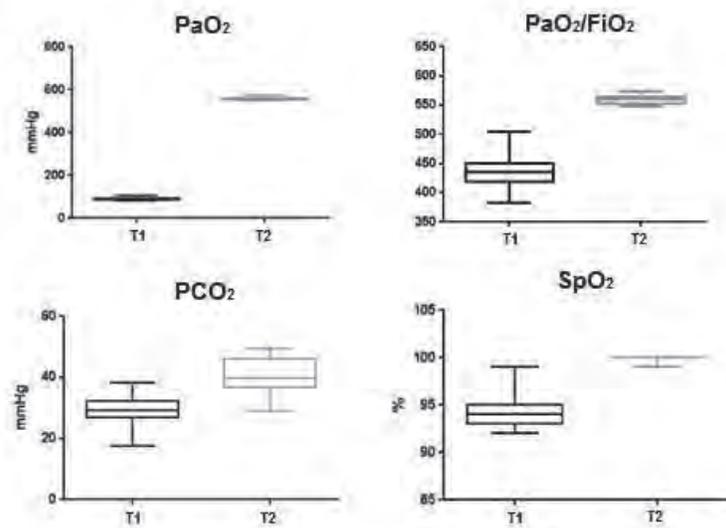


Figura 3. Comparación entre el valor de PaO_2 , PaO_2/FiO_2 , PCO_2 y SpO_2 basal y el valor obtenido durante el T2 (pre-reclutamiento), con diferencia estadísticamente significativa $p < 0,05$.

La realización de las maniobras M1 y M2, empleadas en el presente estudio, no evidenciaron cambios estadísticamente significativos en el tiempo T3; sin embargo, durante el tiempo T4, se evidenció un incremento significativo del 13,5%, tanto en la PaO_2 como en la PaO_2/FiO_2 , en la maniobra M2, con respecto al valor basal T1. Por su parte, estas mismas variables no mostraron cambios estadísticamente significativos entre la maniobra M1 y tiempo T1 (Figura 4); en las demás variables evaluadas no se evidenciaron diferencias estadísticas significativas, tras la realización de las maniobras. Los hallazgos obtenidos en el tiempo T3 contrastan con lo reportado por Trojik *et al.* (2012), quienes encontraron que diversas maniobras de reclutamiento alveolar en seres humanos generaron incrementos significativos en el valor de PaO_2 , SaO_2 y PaO_2/FiO_2 , a los 5 y 60 min de realizadas las maniobras; de igual manera, incrementos en los valores de PaO_2 , PaO_2/FiO_2 y $PaCO_2$, a los 20 y 60 min posteriores a reclutamiento, mediante PEEP, han sido evidenciados en perros (Canfrán *et al.* 2012). Cabe resaltar que esos dos

estudios fueron realizados empleando una FiO_2 de 0,4. La ausencia de cambios estadísticamente significativos en los parámetros evaluados para el T3, en el presente estudio, podrían estar relacionados con el empleo de una FiO_2 alta, lo que generó incrementos sostenidos de la PaO_2 y la PaO_2/FiO_2 , durante todo el evento anestésico, realizado en el presente estudio (Soro & Belda, 2009).

Se afirma, que existe un incremento de la PaO_2/FiO_2 , tras el aumento de la FiO_2 en pacientes ventilados (Sánchez *et al.* 2011; Hernández & Cerón, 2013). Cambios como este, soportan la relación existente entre la PaO_2 y la FiO_2 , como una representación del estado de la mezcla venosa de gases sin efecto de cortocircuito pulmonar (Hernández & Cerón, 2013); sin embargo, a pesar de mejorar la relación ventilación/perfusión (V/Q), el uso de FiO_2 superiores al 80% podría conducir a la presentación de atelectasias por reabsorción (Edmark *et al.* 2003; Staffieri *et al.* 2010b; De Monte *et al.* 2013), incremento en el riesgo de intoxicación por O_2 , es-

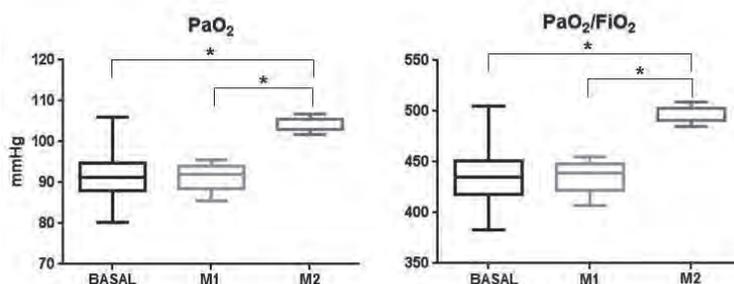


Figura 4. Diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$ entre los tiempos T1 y T4 (24 horas post-maniobra), para las variables PaO₂ y PaO₂/FiO₂, en cada una de las Maniobras M1 y M2.

pecialmente, durante procesos anestésicos prolongados (Frávega-Pérez, 2011) y al subvalor en los parámetros de gases arteriales durante el monitoreo ventilatorio (Sánchez *et al.* 2011), como es el caso de la hipercapnia, aún en condiciones de hipoventilación, lo que puede conllevar a errores de interpretación, durante el monitoreo anestésico.

Algunos estudios han evidenciado un incremento en el valor de gases sanguíneos posteriores a MRA, durante periodos de tiempo inferiores a 60 min (Staffieri *et al.* 2010b; Canfrán *et al.* 2012; Trojik *et al.* 2012). Del conocimiento de los autores, tan solo un estudio de caso relacionó en seres humanos la utilización de MRA, de forma manual, con el empleo de AMBU, usando FiO₂ del 100% y alcanzando un pico máximo de presión de 20cmH₂O, que permitió obtener un intercambio gaseoso óptimo, en términos de la PaO₂/FiO₂, tras su realización consecutiva por cinco días (Maa *et al.* 2005). La no evidencia de estos cambios a las 24 horas de realizadas las MRA, bajo los protocolos empleados en el presente estudio, resalta la importancia clínica del mismo, toda vez que en la práctica médico veterinaria en Colombia, el uso de AMBU es considerado como una herramienta de rutina para apoyar la ventilación transanestésica, en aquellos momentos en que la ventilación espontánea es insuficiente.

Un estudio realizado en pulmones de ratas demostró que el empleo de una maniobra de insuflación sostenida con 20cmH₂O produce un reclutamiento alveolar de hasta $63,1 \pm 9\%$, siendo la cantidad de alveolos reclutados, dependientes de esta presión alcanzada (Albert *et al.* 2009). Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten inferir que, a las 24 horas de realizada una MRA, a una PEEP de 20cmH₂O, se generarán mayores alveolos funcionales en el tiempo, por lo tanto, el valor de gases sanguíneos asociados al oxígeno serán mayores, en contraste con una PEEP de 10cmH₂O.

La escasa disponibilidad de equipos anestésicos que permitan el suministro controlado de la mezcla aire y oxígeno a FiO₂ inferiores al 40% es una limitante en la práctica médico veterinaria, en países en vías de desarrollo, lo que hace rutinario el uso de dispositivos de ventilación asistida con FiO₂ del 100%, situación que conlleva riesgos inherentes a su empleo. De igual manera, el uso de dispositivos manuales de ventilación tipo AMBU, por lo regular, carecen de mecanismos de control de flujo inspiratorio, lo que podría favorecer en casos de entrenamiento limitado del personal médico veterinario, la inducción de lesiones asociadas a barotrauma (Kim *et al.* 2010). El presente estudio no evidenció complicaciones clínicas asociadas a neumomediastino en los animales evaluados, durante las primeras 24 horas de realizadas las maniobras; se consideró que el riesgo de barotrauma fue minimizado, debido al entrenamiento previo del profesional, quien realizó la ventilación, así como también al control de la presión inspiratoria visualizada en la válvula de presión inspiratoria integrada en el AMBU. Por lo tanto, se puede afirmar que el empleo de AMBU con válvula de control de flujo inspiratorio y por personal previamente entrenado, siempre deberá ser prioritario al momento de realizar maniobras, a fin de minimizar riesgos inherentes al incremento de la presión inspiratoria.

Limitaciones del estudio: Tras la realización del presente estudio es importante considerar que no fue posible estimar el grado de atelectasia alveolar presentado en cada uno de los individuos evaluados, ni la minimización de la misma, tras el uso de las distintas maniobras. Estas condiciones podrían ser tenidas en cuenta para la realización de trabajos futuros, que incluyan el empleo de dispositivos tipo AMBU.

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten concluir, que el uso de maniobras cíclicas de reclutamiento alveolar, mediante el empleo de dispositivos tipo AMBU, en la práctica clínica de pequeños animales, puede ser una alternativa a la optimización de la dinámica ventilatoria, en

pacientes con normalidad pulmonar, sometidos a anestesia general inhalada y un mejor efecto sobre la oxigenación se puede alcanzar, empleando un protocolo cíclico escalonado, hasta alcanzar una presión telespiratoria tope de 20cmH₂O de PEEP; sin embargo, el uso de altas concentraciones de oxígeno en la vehiculización anestésica tiende a enmascarar algunos valores de gases sanguíneos evaluables durante el monitoreo anestésico, subestimando el diagnóstico de hipercapnia o de hipoxemia.

Conflictos de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por la Oficina de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad del Tolima.

BIBLIOGRAFÍA

- ALBERT, S.P.; DIROCCO, J.; ALLEN, G.B.; BATES, J.H.; LAFOLLETTE, R.; KUBIAK, B.D.; FISCHER, J.; MARONEY, S.; NIEMAN, G.F. 2009. The role of time and pressure on alveolar recruitment. *J. Appl. Physiol.* (Estados Unidos). 106(3):757-765.
- CANFRÁN, S.; GÓMEZ DE SEGURA, I.A.; CEDIEL, R.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, J. 2012. Effects of a stepwise lung recruitment manoeuvre and positive end-expiratory pressure on lung compliance and arterial blood oxygenation in healthy dogs. *Vet. J. (Inglaterra)*. 194(1):89-93.
- CORCORAN, B. 2013. Fisiopatología respiratoria. En: Fuentes VL, Swift S (eds). *Manual de medicina y cirugía cardiorrespiratorias en pequeños animales*. Ed. S – Lexus (España).p.17-25.
- DE MONTE, V.; GRASSO, S.; DE MARZO, C.; CROVACE, A.; STAFFIERI, F. 2013. Effects of reduction of inspired oxygen fraction or application of positive end-expiratory pressure after an alveolar recruitment maneuver on respiratory mechanics, gas exchange, and lung aeration in dogs during anesthesia and neuromuscular blockade. *Am. J. Vet. Res.* (Estados Unidos). 74(1):25-33.
- EDMARK, L.; KOSTOVA-AHERDAN, K.; ENLUND, M.; HEDENSTIERNA, G. 2003. Optimal oxygen concentration during induction of general anesthesia. *Anesthesiology*. (Estados Unidos). 98(1):28-33.
- FRÁVEGA-FLÓREZ, R. 2011. Revisión: Toxicidad pulmonar por oxígeno. *Hospitales Veterinarios (Chile)*. 3(1):31-34.
- GATTINONI, L.; D'ANDREA, L.; PELOSI, P.; VITALE, G.; PESENTI, A.; FUMAGALLI, R. 1993. Regional effects and mechanism of positive end-expiratory pressure in early adult respiratory distress syndrome. *JAMA*. (Estados Unidos). 269(6):2122-2127.
- HASKINS, S.C. 2015. Monitoring Anesthetized Patients. En: Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA (eds). *Veterinary Anesthesia and Analgesia The Fifth Edition of Lumb and Jones*. Ed. Wiley-Blackwell (Iowa). p.86-113.
- HERNÁNDEZ G.; CERÓN U. 2013. Influencia de la PEEP en la correlación entre la DA-aO₂ y la PaO₂/FiO₂. *Revista de la Asociación Mexicana de medicina crítica y terapia intensiva*. (México). 27(4):226-230.
- IBANCOVICH, J.A.; MORAN R., A.; ARCIQUE, M.; VICTORIA, J.M. 2009. Introducción a la ventilación mecánica en la unidad de cuidados críticos. *Rev. AMMVEPE*. (México). 20(5):128-132.
- KIM, J.B.; JUNG, H.J.; LEE, J.M.; IM, S.K.; KIM, D.J. 2010. Barotrauma developed during intra-hospital transfer: A case report. *Korean J Anesthesiol.* (Korea). 59(suppl):s218-s221.
- MAA, S.H.; HUNG, T.J.; HSU, K.H.; HSIEH, Y.I.; WANG, K.Y.; WANG, C.H.; LIN, H.C. 2005. Manual hyperinflation improves alveolar recruitment in difficult-to-wean patients. *CHEST*. (Estados Unidos). 128(4):2714-2721.
- MARTÍNEZ, G.; CRUZ, P. 2008. Atelectasias en anestesia general y estrategias de reclutamiento alveolar. *Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.* 55(1):493-503.
- MAURYA, P.K.; KALITA, J.; PALIWAL, V.K.; MISRA, U.K. 2008. Manual AMBU ventilation is still relevant in developing countries. *QJM.* (Inglaterra). 101(12):990-991.doi: 10.1093/qjmed/hcn113.
- OSPINA, D.A.; BURITICÁ, E.F.; ECHEVERRY, D.F.; VILLANUEVA-RODRÍGUEZ, C.L.; RONDÓN-BARRAGÁN, I.S. 2014. Maniobras de reclutamiento alveolar en el control de la atelectasia pulmonar: revisión de literatura. *Veterinaria y Zootecnia*. (Colombia). 8(1):17-34.
- PERASSO, O.; CAPURRO, J.; SANZ, R.; GÓMEZ, L. 2006. Maniobras de reclutamiento alveolar. *Rev. Argent. Anesthesiol.* 64(5):201-215.

17. ROBINSON, E.P.; SAMS, R.A.; MUIR, W.W. 1986. Barbiturate anesthesia in greyhound and mixed-breed dogs: comparative cardiopulmonary effects, anesthetic effects, and recovery rates. *Am. J. Vet. Res.* (Estados Unidos). 47(10):2105-2112.
18. ROTHEN, H.U.; SPORRE, B.; ENGBERG, G.; WEGENIUS G.; HEDENSTIERNA, G. 1993. Reexpansion of atelectasis during general anaesthesia: a computed tomography study. *Br. J. Anaesth.* (Inglaterra). 71(6):788-795.
19. SÁNCHEZ, M.; QUINTANA, M.; PALACIOS, D.; HORTIGÜELA, V.; MARCO, C.; GARCÍA, J.; CANABAL, A.; PÉREZ, J.M.; VELASCO, A.; ARRESE, M.A. 2011. Relación entre el gradiente alveolo-arterial de oxígeno y la PaO₂/FiO₂ introduciendo la PEEP en el modelo. *Medicina intensiva.* (España). 36(5):329-334.
20. SORO, M.; BELDA, F.J. 2009. Intercambio de gases. Relación ventilación – perfusión, oxigenación y eliminación de CO₂. En: Belda FJ, Lloréns J. Ventilación mecánica en anestesia y cuidados críticos. Arán ediciones S.L. (España). p.107-139.
21. STAFFIERI, F.; DE MONTE, V.; DE MARZO, C.; GRASSO, S.; CROVACE, A. 2010a. Effects of two fractions of inspired oxygen on lung aeration and gas exchange in cats under inhalant anaesthesia. *Vet. Anaesth. Analg.* (Inglaterra). 37(6):483-490.
22. STAFFIERI, F.; DE MONTE, V.; DE MARZO, C.; SCRASCIA, F.; CROVACE, A. 2010b. Alveolar recruiting maneuver in dogs under general anesthesia: effects on alveolar ventilation, gas exchange, and respiratory mechanics. *Vet. Res. Commun.* (Holanda). 34(1):S131-S134.
23. STRANDBERG, A.; TOKICS, L.; BRISMAR, B.; LINDQUIST, H.; HEDENSTIERNA, G. 1986. Atelectasis during anaesthesia and in the postoperative period. *Acta. Anaesthesiol. Scand.* (Inglaterra). 30(2):154-158.
24. TORRENTE, C. 2011. Ventilación mecánica en el pulmón patológico. *Clin. Vet. Peq. Anim.* (España). 31(2):77-84.
25. TROJIK, T.; SHOSHOLCHEVA, M.; RADULOVSKA-CHABUKOVSKA, J.; LOVACH-CHEPUJNOSKA, M. 2012. Evaluation of effects of repetitive recruitment maneuvers. *Acta. Inform. Med.* (Bosnia y Herzegovina). 20(2):85-89.
26. TUSMAN, G.; BÖHM, S. 2010. Prevention and reversal of lung collapse during the intra-operative period. *Best. Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* (Holanda). 24(1):183-197.
27. WARNER, D.O. 2000. Preventing postoperative pulmonary complications: The role of the anesthesiologist. *Anesthesiology.* (Estados Unidos). 92(5):1467-1472.

Recibido: Septiembre 23 de 2015

Aceptado: Mayo 17 de 2016

Cómo Citar:

Buriticá Gaviria, E.; Echeverry Bonilla, D.; Ospina Argüelles, D.: Efecto de dos maniobras manuales cíclicas de reclutamiento alveolar sobre gases sanguíneos en perros anestesiados. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 161-168.

REMOCIÓN DE PLOMO POR BIOMASAS RESIDUALES DE CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis*) Y ZURO DE MAÍZ (*Zea mays*)

REMOVAL OF LEAD USING RESIDUAL BIOMASS OF ORANGE PEEL AND CORNCOB

Candelaria Tejada Tovar¹, Adriana Herrera², Juan Núñez Zarur³

¹ M.Sc. Ingeniería Ambiental, M.Sc. Educación. Universidad de Cartagena, Avenida del Consulado Calle 30 No. 48-152, Cartagena, Bolívar, Colombia, e-mail: ctejadat@unicartagena.edu.co; ² Ph.D. Ingeniería Química, Docente. Universidad de Cartagena, Colombia, e-mail: aherrerab2@unicartagena.edu.co; ³ Ingeniero Químico. Universidad de Cartagena, Colombia, e-mail: jrzarur@gmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 169-178, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Actualmente, la contaminación por metales pesados en cuerpos naturales de agua es un problema a resolver, por cuanto es cada vez mayor su concentración. Para tal fin, han sido usadas tecnologías, como la precipitación química, la oxidación, el intercambio iónico, entre otras; sin embargo, muchas de estas resultan poco eficientes si se desean remover contaminantes, especialmente, a bajas concentraciones. En este contexto, en el presente trabajo, se estudió la adsorción como proceso para la remoción de plomo en aguas residuales industriales, usando biomasa residual, a partir de cáscara de naranja y zuro de maíz. Se realizó una comparación entre las biomásas utilizadas, variando el tamaño de partícula y el pH, con el fin de determinar las mejores condiciones de adsorción. Se encontró que las biomásas presentaron mayor capacidad de adsorción a condiciones de tamaño de partícula de 0,5mm, para el zuro de maíz y 1mm, en la cáscara de naranja, a un pH de 6, con valores de remoción de 67,5% y 99,2%, respectivamente. Se utilizaron diferentes modelos para describir la cinética de adsorción de Pb (II), siendo el de mayor ajuste el modelo de pseudo primer orden; por otro lado, el modelo de isoterma que se ajustó mejor a los resultados obtenidos fue el propuesto por Freundlich.

Palabras clave: Adsorción, efluentes, residuos agroindustriales.

SUMMARY

Currently the heavy metal pollution in natural water bodies is a problem to be solved due to their increase in concentration. For this purpose technologies such as chemical

precipitation, oxidation, ion exchange and others have been used. Despite this, many of them are not very efficient if low pollutant concentrations has to be removed. Therefore, in this paper an alternative for adsorption of lead in industrial wastewater, using residual biomass coming from orange peel and corncob was studied. It was realized in order to add a possible value to these residues. A comparison of biomasses used varying the particle size and pH to determine best conditions of adsorption was carried out. It was found that the biomasses exhibited the highest adsorption capacity with a particle size of 0.5mm for corncob and 1mm for orange peel at pH 6, reaching adsorption values of 67.5% and 99.2%, respectively. Different models were used to describe the adsorption kinetics of Pb (II) into orange peel and corncob. The most predictive model was Pseudo First Order. On the other hand, the isotherm model that best described the results was the one proposed by Freundlich.

Key words: Adsorption, agro-industrial waste, effluent.

INTRODUCCIÓN

Hoy por hoy, el incremento de los contaminantes tóxicos, entre estos los metales pesados provenientes de efluentes industriales en los recursos hídricos, es uno de los problemas ambientales más graves. Estas sustancias tienden a persistir por un largo periodo de tiempo en el medio ambiente y son consideradas como potenciales devastadores de los ecosistemas, ya que no solo comprometen el bienestar y el equilibrio de la fauna y la flora, también perturban la salud de los habitantes de los sectores aledaños al punto de vertido, debido a su capacidad de acumulación en los distintos organismos (Farooq & Kozinski, 2010).

Elevadas concentraciones de iones metálicos pueden ocasionar diversas afecciones en la salud, como erupciones cutáneas, malestar de estómago, problemas respiratorios, debilitamiento del sistema inmune, daño en los riñones e hígado, alteración del material genético, cáncer, alteraciones neurológicas e, inclusive, la muerte (Dubey & Krishna, 2007). Las concentraciones de este tipo de sustancias, en algunos casos, sobrepasa el valor permitido por la legislación Colombiana, siendo para el plomo, un máximo 0,5mg/L, de acuerdo a la resolución número 0631 del 2015 (FENAVI, 2015).

En los últimos años, se han implementado diferentes alternativas para el tratamiento de aguas residuales industriales, entre las que se pueden mencionar, la precipitación química, la osmosis inversa, el intercambio iónico, entre otras; sin embargo, estos métodos han resultado costosos e ineficientes, pues no logran remover grandes cantidades de iones metálicos; además, generan lodos durante el proceso, siendo más problemáticos de resolver (Tejada *et al.* 2015a; Torab-Mostaedi *et al.* 2013). Ante esta situación, surge la bioadsorción, como una alternativa prometedora para la remoción de iones metálicos presentes en aguas residuales, ya que logra remover grandes porcentajes de iones metálicos, usando biomasa lignocelulósicas, como materiales adsorbentes. El proceso de adsorción, sea cual sea la naturaleza del adsorbente, se puede explicar cinéticamente en cuatro pasos: primero, una transferencia del metal desde la fase líquida hasta la película que rodea al adsorbente, mediante un proceso de difusión; luego, una transferencia, a través de la película líquida hacia el adsorbente, donde es importante tener en cuenta el coeficiente de transferencia de masa global y la resistencia ejercida por la película al fenómeno ocurrido; posteriormente, se da la difusión del metal en el adsorbente, ya sea en el líquido intraparticular o de un sitio del adsorbente a otro, para que, finalmente, se facilite el proceso de adsorción, químico o físico, donde se dan, como tal, las interacciones del metal en los sitios activos del adsorbente (Netzahuatl-Muñoz *et al.* 2010).

Entre los materiales ampliamente estudiados y con excelentes resultados para la remoción de metales pesados, se encuentran: zuro de maíz y cáscara de naranja, con plomo y níquel (Tejada *et al.* 2015a); aserrín de pino, con plomo (II) (Momčilović *et al.* 2011); bagazo de palma, con plomo (Tejada *et al.* 2015b); cáscara de yuca y limón, con mercurio (Tejada *et al.* 2015c); bagazo de caña, con plomo (II) (Hamza *et al.* 2013); cáscara de nuez, con cromo (Altun & Pehlivan, 2012), entre otras. La bioadsorción presenta muchas ventajas frente a otras técnicas convencionales, como bajo costo, alta eficiencia, minimización de productos químicos y lodos biológicos. Además, permite la regeneración de los biosorbentes y la posibilidad de recuperación de metales (Netzahuatl-Muñoz *et al.* 2010).

En años recientes, se han reportado diversos estudios referentes a la bioadsorción de metales pesados con biomasa residuales, destacándose el trabajo reportado por Zheng & Meng (2016), quienes realizaron un estudio de adsorción de Cd (II) en solución acuosa, a partir de zuro de maíz. Los resultados obtenidos mostraron que más del 90% de iones de cadmio se alcanzó a pH entre 2 y 7, mientras que la adsorción se incrementó de 73,2% a 98,0%, con el aumento de las dosis de adsorbente y una temperatura más alta favoreció la adsorción. El modelo que mejor se ajustó a las cinéticas de equilibrio fue pseudo-segundo orden y para las isothermas, el modelo de Langmuir.

Tejada *et al.* (2015a) realizaron adsorción competitiva de Ni (II) y Pb (II) sobre zuro de maíz y cáscara de naranja, encontrando que los modelos Freundlich y Langmuir ofrecen un buen ajuste de los datos experimentales. Dedujeron una capacidad máxima de adsorción de 2687 mg/g, para el plomo y 1016,9mg/g, para el níquel, utilizando la biomasa de zuro de maíz. En el caso de la biomasa de cáscara de naranja, se determinó una adsorción de 3224,07mg/g, para el plomo y 390,59 mg/g, para el níquel, mostrando que son materiales que podrían ser usados para la remoción de estos metales, aun cuando estén en solución binaria, pues se siguen obteniendo altas capacidades de sorción.

En adición, se han reportado estudios de adsorción de metales pesados usando carbones activados químicamente, entre los cuales, se encuentra el trabajo publicado por Ghasemi *et al.* (2014), quienes emplearon carbón activado químicamente con ácido fosfórico (H₃PO₄), para remoción de plomo, determinando una adsorción de 95,8%, con una concentración de adsorbente de 80,645mg/g, a un pH de 4.

El plomo es utilizado en diversas actividades industriales, como la elaboración de insecticidas, de baterías, de pinturas, de aleaciones, de tuberías de agua, de acabado de metales, de fertilizantes, de pesticidas y de contenedores de alimentos. La Agencia de Protección Ambiental (EPA), por sus siglas en idioma inglés, permite un nivel de plomo en agua potable de sólo 0,015mg/L, pero muchas de estas industrias superan los niveles de concentración del metal en sus efluentes (EPA, 2002).

En esta investigación, se realizó un estudio comparativo de la capacidad de adsorción de Pb (II) entre biomasa residual de cáscara de naranja y zuro de maíz, teniendo en cuenta que ambos biomateriales son de fácil tratamiento, alta disponibilidad, fácil consecución y bajo costo. Los ensayos de adsorción, se realizaron en sistemas batch, analizando las biomasa sin modificación y modificadas químicamente con ácido cítrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los bioadsorbentes. Las biomasas fueron recolectadas en el mejor estado posible, para evitar su pronta descomposición y garantizar la eficiencia del proceso. Ambos materiales fueron lavados con abundante agua destilada, con el fin de eliminar taninos, resinas de azúcares reductores y demás impurezas, que puedan intervenir en el proceso de adsorción. Posteriormente, fueron secadas en horno a 90°C, durante 24h; a continuación, el tamaño de las mismas fue reducido, mediante un molino de rodillo, durante 20min; la clasificación, se llevó a cabo en una tamizadora, obteniendo tamaños de 0,355mm, 0,5mm y 1mm.

Caracterización de los adsorbentes. Una vez preparados los materiales adsorbentes, se procedió a la caracterización determinando el análisis elemental de la biomasa e identificando los grupos funcionales, responsables de la adsorción de los iones de Pb (II), mediante un análisis FTIR, Espectros de Infrarrojo con Transformada de Fourier.

Modificación del zuro de maíz con ácido cítrico. Una vez pre-tratado el zuro de maíz, se procedió a realizar la modificación con ácido cítrico; para tal fin, se mezcló 13,5g de biomasa, con 33,75mL de una solución de ácido cítrico 0,6M. La mezcla fue dejada en agitación constante por 2 h, a una temperatura de 60°C; posterior a este tiempo, la biomasa se lavó con abundante agua desionizada; luego, fue secada en un horno por 24 h, a 55°C, de acuerdo a la metodología recomendada por Altun & Pehlivan (2012).

Reticulación de la cáscara de naranja con cloruro de calcio. La pectina, presente en la cáscara de naranja, se puede reticular con diferentes sustancias químicas, para mejorar su capacidad de adsorción; el cloruro de calcio (CaCl₂) es una de ellas (Hannachi *et al.* 2010). Para realizar la modificación, se tomaron 20g de biomasa tratada seca, se colocaron en 500mL de una solución de CaCl₂ 0,2M, la mezcla se mantuvo en agitación constante a 200 rpm, durante 24 h; luego del tratamiento con CaCl₂, el material bioadsorbente se lavó varias veces con agua destilada; posteriormente, fue secado a 40°C en un horno durante 3 h, de acuerdo con la metodología recomendada por Hannachi *et al.* (2010).

Preparación del agua residual sintética y ensayos de bioadsorción. Para la realización de los ensayos de adsorción, se usó un Shaking incubator IN-666, que contenía, previamente, un Erlenmeyer con 0,5g de biomasa y una solución de Pb (II), a 100 ppm, que se preparó añadiendo 0,1g de Pb (NO₃)₂ a 1L de agua desionizada; se utilizó este valor, simulando la concentración promedio de los efluentes industriales. Los ensayos de adsorción, se llevaron a cabo a una temperatura de 25°C y 150rpm, durante 2 h. Los valores de pH evaluados fueron 2, 4 y 6, los cuales, fueron controla-

dos mediante la adición de HCl y NaOH (Farooq & Kozinski, 2010).

El análisis de la concentración final, se realizó mediante espectroscopía de absorción atómica a 283,3nm. Después de estos ensayos, la capacidad de adsorción se calculó mediante la fórmula:

$$q_e (\text{mg} / \text{g}) = \frac{V(C_0 - C_f)}{M} \quad (1)$$

Donde, q_e es la capacidad de adsorción en equilibrio (mg/g); C_0 y C_f son las concentraciones iniciales y el equilibrio (mg/l) de Pb (II) en la solución; V es el volumen (L) de solución tomada y M es la masa (g) de adsorbente usado.

Cinética e isothermas de adsorción. Para determinar el tiempo de equilibrio de adsorción, se llevó a cabo la cinética, tomando una alícuota de 5 mL, cada periodo de tiempo, entre 10 y 280 min; las isothermas de adsorción, se realizaron con el propósito de describir la cantidad de plomo adsorbido en la interfase con la concentración del mismo en el seno de la fase (Hannachi *et al.* 2010); para la realización de los ensayos, se usaron diferentes concentraciones iniciales, 25, 50, 75 y 100ppm. El estudio de isothermas solo fue realizado en las biomasas sin modificar.

Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado, tomando el promedio aritmético de los datos, la consistencia de los mismos fue verificada, calculando la desviación estándar. El análisis de los datos fue hecho haciendo uso de la herramienta Solver de Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición química de las cáscaras de naranja y de zuro de maíz, se determinó a través de diversas técnicas analíticas, encontrándose que el elemento con mayor porcentaje –en ambas biomasas– fue el carbono, con un 44,43%, para la cáscara de naranja y 39,89%, para el zuro de maíz (Método Analítico AOAC 949.14). En adición, se estableció por las técnicas de digestión ácida y termogravimetría, un contenido de Pectina y Celulosa de 18,15% y 14,28% para la cáscara de naranja, mientras que el zuro de maíz presentó valores de 7,98% y 13,08%, respectivamente.

En la figura 1, se muestra el análisis FTIR de la cáscara de naranja y de zuro de maíz, para determinar los grupos funcionales presentes en la biomasa y que podrían interferir en la adsorción del metal en estudio. En el espectro de la cáscara de naranja, los picos alrededor de 3330cm⁻¹, corresponden a las vibraciones O-H, debido al estiramiento de alcoholes, de fenoles y de ácidos carboxílicos, en la pectina, en la ce-

lulosa y en la lignina; por lo tanto, se estableció la presencia de hidroxilos "libre" en la superficie adsorbente, tal como lo reporta Junxiong *et al.* (2009). Para el espectro del zuro de maíz, se puede observar una banda sólida y amplia con enlaces de hidrógeno O-H, centrada a 3405cm^{-1} ; además, una banda de estiramiento C-O apareció en el espectro a 1012cm^{-1} . Por otro lado, las bandas de absorción próximas a 1600cm^{-1} podrían estar relacionadas con las vibraciones del esqueleto aromático de la lignina; asimismo, los picos a 1374 y 1238cm^{-1} , se asocian con la hemicelulosa de las biomásas (Leyva-Ramos *et al.* 2012). Wan & Hanafiah (2008) demuestran que para la remoción de plomo usando bagazo de caña, que contenía cerca de un 50% de celulosa, 27% de poliosas y 23% de lignina, conocidos por la gran cantidad de grupos hidroxilos y fenólicos, son los responsables directos de la remoción metálica. En general, los principales componentes de la cáscara de naranja y el zuro de maíz son proteínas, pectinas, celulosas, pigmentos y lignina, por lo cual, el espectro muestra numerosos picos de absorción, indicando la naturaleza compleja del material.

Efecto del tamaño y pH en la adsorción. La influencia de los tamaños de partículas 0,355, 0,5 y 1mm evaluados, se muestran en la figura 2. Se observa que a un tamaño de partícula de 0,5 mm, para el zuro, se reporta un mayor porcentaje de remoción del metal, mientras que en la cáscara de naranja fue el tamaño 1 mm. Para el caso del zuro de maíz, la mayor adsorción se debe a que al disminuir el tamaño de las partículas, el número de centros activos por unidad de masa es mayor, como resultado del mayor área superficial que posee la partícula pequeña, pues a mayor área de la superficie

interna aumenta su cantidad de poros por unidad de masa y, por ende, aumentaría la cantidad de metal adsorbido; sin embargo, en el menor tamaño, disminuyó el porcentaje de adsorción, debido a la posible aglomeración de las partículas. En cuanto al pH, se observó que el aumento del porcentaje de adsorción sobre el zuro de maíz se dio a medida que aumenta el pH. A valores superiores de pH ($\text{pH}=6$), se incrementa la concentración de iones OH^- , induciendo cambios en la superficie del adsorbente y aumentando la adsorción de los iones metálicos; esto se debe a que la superficie del bioadsorbente podría estar protonada, lo que favorecería la captación de plomo en su forma aniónica. Estos resultados coinciden con otras investigaciones: Onwu & Ogah (2010) reportan el potencial de la cáscara de manzana blanca para la remoción de Pb (II), siendo un proceso altamente dependiente del pH, obteniendo un pH óptimo de 7, con el cual, se obtuvo una remoción máxima de $8,5\text{mg/g}$; García-Rosales & Colín-Cruz (2010) lograron la eliminación de Pb (II) con tallos de maíz, encontrando una capacidad de adsorción máxima de 80mg/g y un pH óptimo de 6.

Cinética e isoterma de adsorción. Para estudiar la cinética de adsorción, los modelos cinéticos usados fueron pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden, Elovich y difusión intraparticular. Estos modelos matemáticos de ajuste no lineal, se desarrollaron usando la herramienta Microsoft Excel Solver y el ajuste de los mismos se muestra en la figura 3.

Se encontró que todos estos modelos se ajustan a los datos experimentales de la adsorción de Pb (II), con excepción del modelo de difusión intraparticular. Para ambas biomásas,

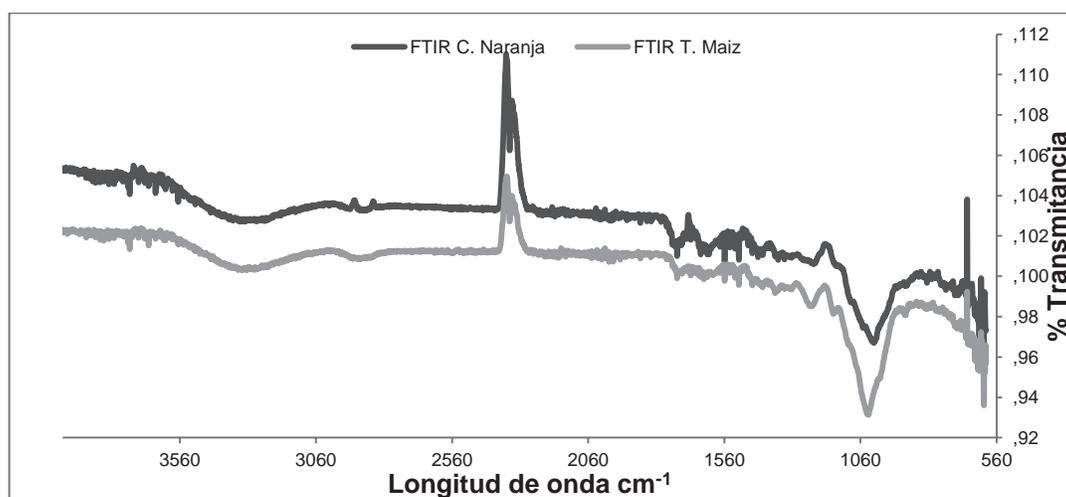


Figura 1. Espectrofotometría de infrarrojo de la cáscara de naranja y zuro de maíz, antes del proceso de adsorción de Pb (II).

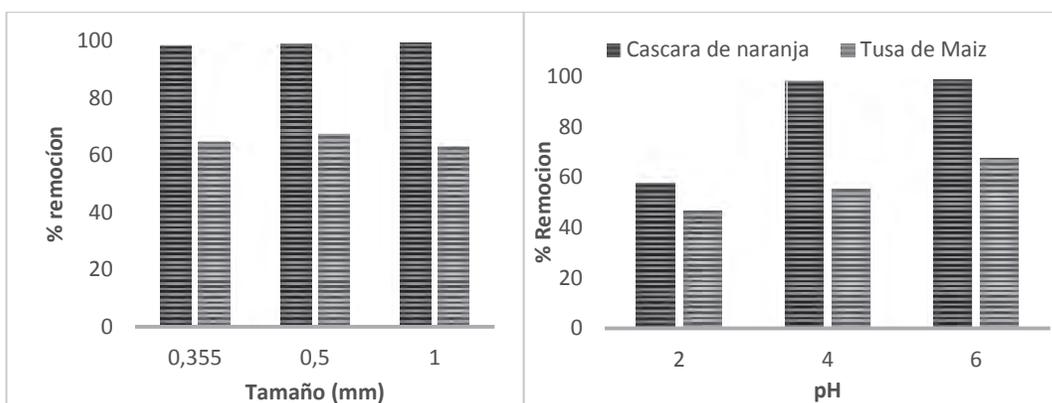


Figura 2. Efecto del tamaño de partícula (izq.) y del pH (der.), en la capacidad de adsorción del zuro de maíz y cáscara de naranja.

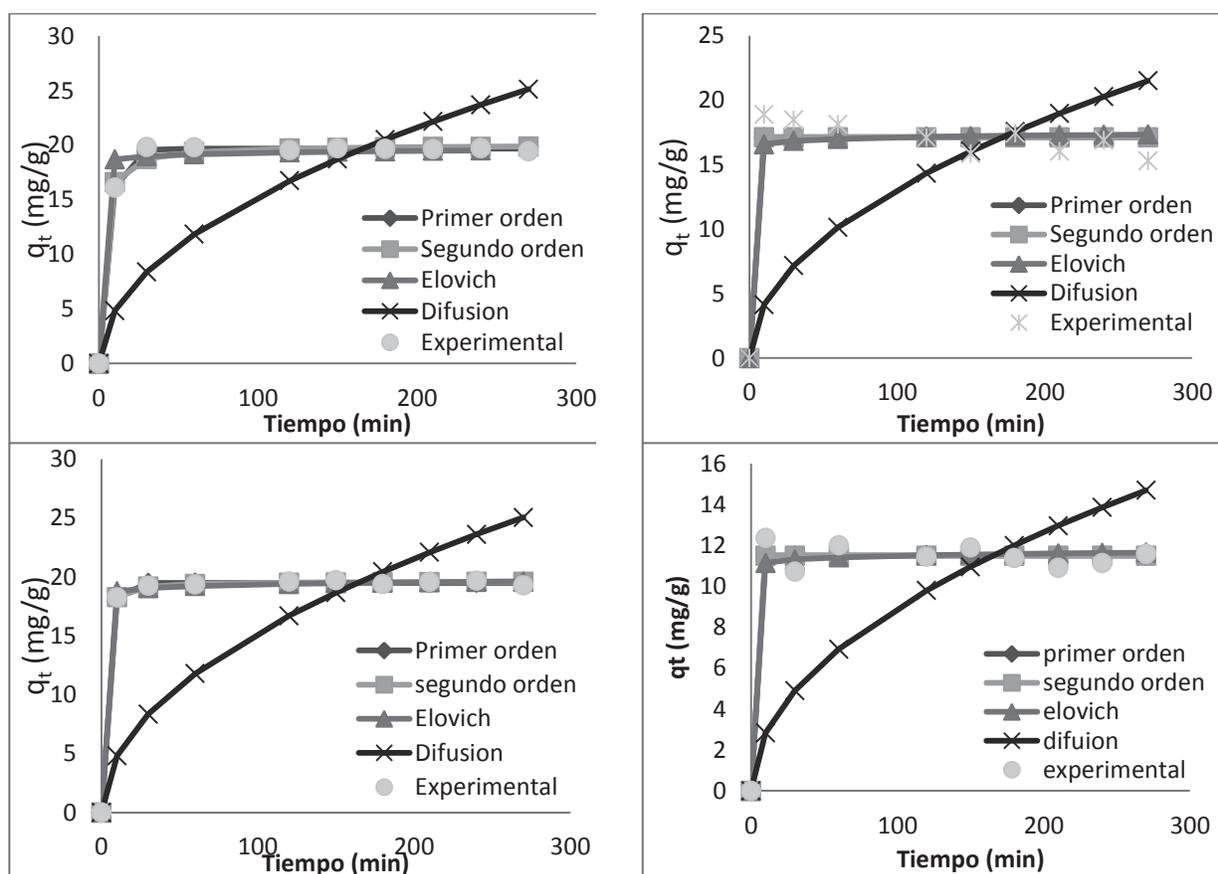


Figura 3. Ajuste de los modelos cinéticos para la adsorción de Pb (II) con cáscara de naranja sin modificar (arriba izq.), modificada (abajo izq.) y zuro de maíz sin modificar (arriba der.), modificado (abajo der.).

este modelo muestra una tendencia totalmente diferente al de los datos obtenidos en la experimentación, esto significa que la adsorción de plomo no se da al interior de los poros de las biomásas en estudio, dándose en sitios heterogéneos de las mismas, tal como lo reportan Pinzón-Bedoya & Cardona (2010) y Pérez *et al.* (2009).

El modelo cinético con mejor ajuste estadístico para las biomásas modificadas y no modificadas fue el modelo de pseudo-primer orden; de acuerdo a este modelo, los iones serán adsorbidos por un sitio activo, de acuerdo a Pérez *et al.* (2009).

En la tabla 1, se muestran los resultados del ajuste a los modelos de isoterma. Se encontró que el modelo que mejor describe la adsorción de Pb (II), para el zuro de maíz y cáscara de naranja sin modificar y modificada, es el de Freundlich,

mientras que para el zuro de maíz modificado, lo hace el de Langmuir. En general, se establece que la superficie de las biomásas es heterogénea y durante el proceso de adsorción se forman multicapas en la superficie de los biomateriales y los sitios activos que pudiesen estar de desorción son ocupados, primero, por enlaces fuertes y dicha fuerza va decreciendo, a medida que estos son ocupados por los iones de Pb (II), de acuerdo a Kwon *et al.* (2010); cabe destacar que la desorción es el fenómeno donde la partícula ya adsorbida se separa del biomaterial. De la capacidad de adsorción, se muestra que las biomásas modificadas exhiben menor capacidad y se podría deber a que la reacción de carboxilación, que se debería dar con la modificación química de la biomasa, no se dio completamente y no hubo adición de estos grupos en el biomaterial, por tanto, se sugiere realizar otras modificaciones a los biomateriales, que puedan insertar grupos carboxilos e hidroxilos, a la estructura de las mismas.

Tabla 1. Estudio de isoterma de adsorción.

Modelo Isoterma	Parámetros	Cáscara de naranja	Cáscara de naranja modificada	Zuro de maíz	Zuro de maíz modificado
Langmuir	q_{max}	495,33	49,98	152,63	14,94
	b	0,05	0,47	0,02	0,25
	Suma	3,29	9,87	4,89	11,72
Freundlich	Kf	27,00	15,77	2,41	5,56
	1/n	1,21	0,64	1,21	0,24
	Suma	0,02	5,18	0,08	21,52

FTIR para las biomásas después de la adsorción. El espectro de la cáscara de naranja y el zuro de maíz sin modificar después de la adsorción de Pb (II), se representa en la figura 4. En el caso de la cáscara de naranja, se observa un cambio en los picos de absorción, a 3745cm^{-1} , los cuales, corresponden a las vibraciones de estiramiento de los grupos O-H presentes en la celulosa, en la pectina y en la lignina del biomaterial. Además, se estableció el cambio en el grupo que aparece a 1638cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones de estiramiento de los grupos carboxílicos iónicos $-\text{COO}-$ en el infrarrojo de la biomasa del zuro de maíz. En adición, también se observó un cambio en la banda respecto al grupo de los ácidos carboxílicos, además del pico que aparece a una frecuencia de 1012cm^{-1} , asignada a la vibración de los ácidos carboxílicos y alcoholes. Así, se estableció que existen grupos carboxílicos e hidroxilos, principalmente en las biomásas nativas, y que juegan un papel importante en la adsorción de Pb (II), en el proceso de unión del ion metálico a la biomasa (Leyva-Ramos *et al.* 2012). Tan *et al.* (2010)

demonstraron que una alta concentración de grupos hidroxilo favorece la remoción de metales y sugieren la modificación de las biomásas, donde parte de los grupos hidroxilo permitan la introducción de una cantidad suficiente de grupos amida y carboxilato en el material.

En general, se comprobó que la cáscara de naranja y el zuro de maíz presentan una gran capacidad de adsorción de iones Pb (II) en agua sintética, que lograron remover porcentajes de 99,2 y 67,5%; sin embargo, una vez modificadas la capacidad de adsorción de ambas biomásas se vio ligeramente disminuida, por lo que se sugiere experimentar otro tipo de agentes modificantes.

Las mejores condiciones, en las cuales se llevó a cabo el proceso de adsorción de iones de Pb (II), se lograron usando un tamaño de partícula de 0,5mm, para el zuro de maíz y 1mm, en el caso de cáscara de naranja, se esperaría que al disminuir el tamaño de partícula de las biomásas, aumentaría la

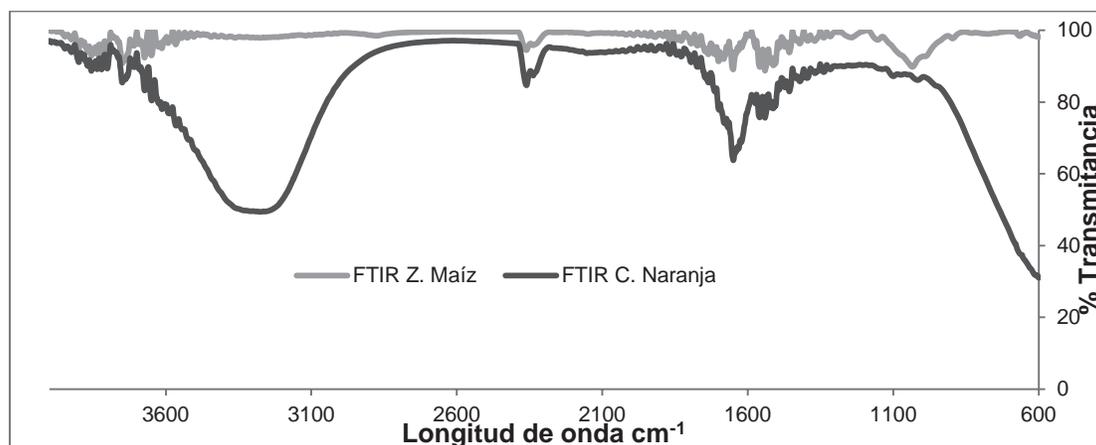


Figura 4. Espectrofotometría de infrarrojo de zuro de maíz y la cáscara de naranja, después del proceso de adsorción de Pb (II).

capacidad de adsorción de los iones metálicos, puesto que los procesos de adsorción están directamente relacionados con el área de contacto entre el material adsorbente y la fase líquida; sin embargo, a pequeños tamaños de partícula, se puede dar la aglomeración de las mismas, lo que interfiere en la adsorción metálica. Además, se estableció como pH óptimo de adsorción un valor de 6.

El ajuste de los datos experimentales obtenidos para los diferentes modelos seleccionados indican que el modelo de pseudo segundo orden es el modelo matemático que mejor describe la cinética de adsorción de Pb (II); por otro lado, el modelo de isoterma que mejor describe los resultados obtenidos fue el propuesto por Freundlich, con lo cual, se comprobó que el proceso de adsorción está controlado por reacción química, como se encuentra referenciado en la bibliografía consultada.

Comparación entre las capacidades y porcentajes de adsorción. La tabla 2 presenta una comparación entre los valores reportados en literatura y los obtenidos en el presente estudio, referentes a las capacidades y los porcentajes de adsorción para la eliminación de Pb (II), usando la cáscara de naranja y el zuro de maíz. Las dos biomásas, que se investigaron en este estudio, tienen una alta capacidad de adsorción para la eliminación de Pb (II) en comparación con investigaciones previas de residuos agroindustriales sin y con modificación. Oré *et al.* (2015) investigaron el zuro

de maíz como adsorbente para Pb (II), en solución acuosa; Petrovic *et al.* (2016), también estudiaron el zuro de maíz, para este mismo metal. Las capacidades de adsorción de estos dos estudios fueron menores en comparación con la del zuro de maíz sin modificar, del presente estudio (Tabla 2), aunque se destaca una ligera disminución en los porcentajes de remoción al modificar las biomásas, en comparación con las investigaciones presentadas. Por otro lado, para la cáscara de naranja, la capacidad de adsorción siempre fue mayor para la mayoría de los trabajos revisados en la literatura, con porcentajes de adsorción mayores o similares a sus correspondientes, en la tabla mencionada, lo que muestra una ventaja por tener mejor característica de adsorción en comparación con los trabajos investigados anteriormente. Cabe destacar que la cáscara de naranja se puede utilizar sin ninguna modificación, por ser tan buen adsorbente para la eliminación de Pb (II) en solución acuosa, lo que hace que sea de bajo costo y amigable con el medio ambiente.

Agradecimientos: Se agradece a COLCIENCIAS y a la Universidad de Cartagena, por su apoyo en la realización del presente estudio, en el marco del programa de jóvenes investigadores, convenio No 0722-2013. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

Tabla 2. Capacidades y porcentajes de adsorción de cáscara naranja y Zuro de maíz de adsorción para la eliminación de Pb (II), reportados en la literatura.

	Capacidad de adsorción (mg/g)	% Remoción	Método de preparación	Referencias
Cáscara de naranja	209,8	99,4	Modificación con NaOH y CaCl ₂	Feng & Guo (2012)
	73,53	90	Modificación con CaCl ₂	Lasheen <i>et al.</i> (2012)
	3224,07	98	Sin Modificación	Tejada <i>et al.</i> (2015a)
	1,665	99	Modificación con NaOH y CaCl ₂	Vizcaíno & Fuentes (2015)
	495,33	99,2	Sin modificar	Presente estudio
	49,98	98,6	Modificación con CaCl ₂	
Zuro de maíz	2687,74	94,5	Sin Modificación	Tejada <i>et al.</i> (2015a)
	90	--	Sin Modificación	Petrovic <i>et al.</i> (2016)
	27,10	91,2	Modificación ácida (HNO ₃)	Guyo <i>et al.</i> (2015)
	7,9	97	Sin modificación	Oré <i>et al.</i> (2015)
	152,63	67,5	Sin modificación	Presente estudio
	14,94	61,8	Modificación con ácido cítrico	

BIBLIOGRAFÍA

- ALTUN, T.; PEHLIVAN, E. 2012. Removal of Cr (VI) from aqueous solutions by modified walnut shells. *Food Chem.*132:693-700.
- DUBEY, S.P.; KRISHNA, G. 2007. Adsorption of chromium (VI) on low cost adsorbents derived from agricultural waste material: A comparative study. *J. Hazard. Mat.*145: 465-470.
- EPA. 2002. List of Drinking Water Contaminants & MCLs. Disponible desde internet en: <http://www.epa.gov/safewater/mcl.html> (con acceso 20/04/14).
- FAROOQ, U.; KOZINSKI, J. 2010. Biosorption of heavy metal ions using wheat based biosorbents—A review of the recent literature. *Bioresource Technol.* 101:5043-5053.
- FEDERACIÓN NACIONAL DE AVICULTORES DE COLOMBIA –FENAVI-. 2015. Disponible desde internet en: http://www.fenavi.org/index.php?option=com_content&view=article&id=3167:resolucion-0631-de-2015&catid=393:uso-de-recursos. Consultado el 20 noviembre de 2015.
- FENG, N.; GUO, X. 2012. Characterization of adsorptive capacity and mechanisms on adsorption of copper, lead and zinc by modified orange peel. *Transactions Nonferrous Metals.* 22(5):1224-1231.
- GARCÍA-ROSALES, G.; COLÍN-CRUZ, A. 2010. Biosorption of lead by maize (*Zea mays*) stalk sponge. *J. Environ. Manag.* 91:2079-2086.
- GHASEMI, M.; NAUSHAD, M.; GHASEMI, N.; KHOSRAVI, Y. 2014. A novel agricultural waste based adsorbent for the removal of Pb(II) from aqueous solution: ki-

- netics, equilibrium and thermodynamic studies. *J. Industr. Eng. Chem.* 20:454-461.
9. GUIYO, U.; MHONYERA, J.; MOYO, M. 2015. Pb(II) adsorption from aqueous solutions by raw and treated biomass of maize stover – A comparative study. *Process Safety Environm. Prot.* 93:192-200.
 10. HAMZA, I.A.A.; MARTINCIGH, B.S.; NGILA, J.C.; NYAMORI, V.O. 2013. Adsorption studies of aqueous Pb(II) onto a sugarcane bagasse/multi-walled carbon nanotube composite. *Phys. Chem. Earth.* 66:157-166.
 11. HANNACHI, Y.; SHAPOVALOV, N.A.; HANNACHI, A. 2010. Adsorption of nickel from aqueous solution by the use of low-cost adsorbents. *Korean J. Chem. Eng.* 27:152-158.
 12. JUNXIONG, C.; LONGZHE, C.; YANXIN, W.; CHENFU, L. 2009. Effect of functional groups on sludge for biosorption of reactive dyes. *J. Environ. Sci.* 21:534-538.
 13. KWON, J.S.; YUN, S.T.; LEE, J.H.; KIM, S.O.; JO, H.Y. 2010. Removal of divalent heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and arsenic (III) from aqueous solutions using scoria: kinetics and equilibria of sorption. *J. Hazard. Mater.* 174:307-313.
 14. LASHEEN, M.; AMMAR, N.; HANAN, I. 2012. Adsorption/desorption of Cd(II), Cu(II) and Pb(II) using chemically modified orange peel: equilibrium and kinetic studies. *Solid State Sci.* 14:202-210.
 15. LEYVA-RAMOS, R.; LANDIN-RODRIGUEZ, L.E.; LEYVA-RAMOS, S.; MEDELLIN-CASTILLO, N.A. 2012. Modification of corncob with citric acid to enhance its capacity for adsorbing cadmium (II) from water solution. *Chem. Eng. J.* 180:113-120.
 16. MOMČILOVIĆ, M.; PURENOVIĆ, M.; BOJIĆ, A.; ZARUBICA, A.; RANĐELOVIĆ, M. 2011. Removal of lead (II) ions from aqueous solutions by adsorption onto pine cone activated carbon. *Desalination.* 276:53-59.
 17. NETZAHUATL-MUÑOZ, A.; CRISTIANI-URBINA, M.; CRISTIANI-URBINA, E. 2010. Estudio cinético de la remoción de cromo hexavalente y de cromo total por la corteza del árbol de pirul. *Rev. Cub. Quím.* 22(3):3-8.
 18. ONWU, F.K.; OGAH, S.P. 2010. Studies on the effect of pH on the sorption of cadmium (II), nickel (II), lead (II) and chromium (VI) from aqueous solutions by african white star apple (*Chrysophyllum albidum*) shell. *J. Biotechn.* 9(42):7086-7093.
 19. ORÉ, J.F.; LAVADO, M.C.; BENDEZÚ, M.S. 2015. Biosorción de Pb (II) de aguas residuales de mina usando el marlo de maíz (*Zea mays*). *Rev. Soc. Quím. Perú.* 81(2):122-134.
 20. PÉREZ, A.; MESEGUER, V.; SAENZ, O.; LLORENS, M. 2009. Biosorption of chromium (III) by orange (*Citrus cinensis*) waste: Batch and continuous studies. *Chem. Eng. J.* 155:199-206.
 21. PETROVIC, M.; ŠOŠTARIC, T.; STOJANOVIC, M.; MILOJKOVIC, J.; MIHAJLOVIC, M.; STANOJEVIC, M.; STANKOVIC, S. 2016. Removal of Pb²⁺ ions by raw corn silk (*Zea mays* L.) as a novel biosorbente. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 58:407-416.
 22. PINZÓN-BEDOYA, M.; CARDONA, A. 2010. Influencia del pH en la bioadsorción de Ni (III) sobre cáscara de naranja: Determinación de las condiciones de operación en proceso discontinuo. *Rev. Facultad Ciencias Básicas.* 8(1):45-53.
 23. TAN, G.; HONGYAN, Y.; YONG, L.; DAN, X. 2010. Removal of lead from aqueous solution with native and chemically modified corncobs. *J. Hazard. Mater.* 174(1-3):740-745.
 24. TEJADA, C.; HERRERA, A.P.; NÚÑEZ, J.R. 2015a. Adsorción competitiva de Ni (II) y Pb (II) sobre materiales residuales lignocelulósicos. *Invest. Andinas.* 17(31):1355-1367.
 25. TEJADA, T.C.; RUIZ, P.E.; GALLO, J.; BOHORQUEZ, J.M. 2015b. Evaluación de la biosorción con bagazo de palma africana para la eliminación de Pb(II) en solución. *Prospect.* 13(1):59-67.
 26. TEJADA, C.; VILLABONA, O.A.; GARCES, J.L. 2015c. Kinetics of adsorption in mercury removal using cassava (*Manihot esculenta*) and lemon (*Citrus limonum*) wastes modified with citric acid. *Ingeniería y Universidad.* 19(2):37-52.
 27. TORAB-MOSTAEDI, M.; ASADOLLAHZADEH, M.; HEMMATI, A.; KHOSRAVI, A. 2013. Equilibrium, kinetic, and thermodynamic studies for biosorption of cadmium and nickel on grapefruit peel. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 44:295-302.

28. VIZCAÍNO MENDOZA, L.; FUENTES MOLINA, N. 2015. Biosorción de Cd, Pb y Zn por biomasa pretartada de algas rojas, cáscara de naranja y tuna. *Cienc. Ing. Neogranadina*. 25(1):43-60.
29. WAN, W.S.; HANAFIAH, M.A.K.M. 2008. Removal of heavy metal ions from wastewater by chemically modified plant wastes as adsorbents: A review. *Biores. Techn.* 99:3935-3948.
30. ZHENG, L.; MENG, P. 2016. Preparation, characterization of corn stalk xanthates and its feasibility for Cd (II) removal from aqueous solution. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 58:391-400.

Recibido: Junio 10 de 2015

Aceptado: Enero 25 de 2016

Cómo citar:

Tejada Tovar, C.; Herrera, A.; Núñez Zarur, J. 1916. Remoción de plomo por biomasas residuales de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) y zuro de maíz (*Zea mays*). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 169-178.

EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DEL COLORANTE AZUL BRILLANTE UTILIZANDO HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA Y SUS CONSORCIOS

EVALUATION OF BRILLIANT BLUE DYE BIODEGRADATION BY WHITE ROT FUNGI AND THEIR CONSORTIA

Julián Rojas¹, Angelina Hormaza²

¹Microbiólogo Industrial, Microbiólogo Agrícola y Veterinario, M.Sc. en Ciencias Biotecnología, Investigador del Grupo de Investigación SIRYTCOR. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, calle 59 A N 63-20, e-mail: juarojasba@unal.edu.co; ²M.Sc. en Química Orgánica, Doctora en Ciencias Químicas, Directora del Grupo de Investigación SIRYTCOR, Profesor Asociado Escuela de Química, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, calle 59 A N 63-20, e-mail: ahormaza@unal.edu.co

Rev. U.D.C.A. Act. & Div. Cient. 19(1): 179-187, Enero, Junio 2015.

RESUMEN

Los efluentes coloreados procedentes de la industria textil causan efectos adversos en los ecosistemas acuáticos, que conducen a un deterioro de su estética y a una disminución de los procesos fotosintéticos. En este trabajo, se evaluó la biodegradación del colorante textil azul brillante AB, sobre residuos de flores, empleando tres cepas fúngicas: *Pleurotus ostreatus* (Po), *Pleurotus pulmonarius* (Pp) y *Trametes versicolor* (Tv), así como algunos de sus consorcios. Las mejores condiciones, se determinaron mediante fermentación en estado sólido, con las especies fúngicas individuales y con dos de sus consorcios fúngicos: C1: Po-Tv y C2: Po-Pp, a través de un diseño factorial. Asimismo, se evaluó la cinética del proceso y se cuantificó la actividad enzimática. Se alcanzó un porcentaje de biodegradación del AB del 99,14%, con Pp, como cepa individual, bajo una relación de carbono:nitrógeno (C:N) de 20:1, con cuatro discos de biomasa y del 99,19%, para el C2, bajo una relación de C:N de 40:1, con cuatro discos de biomasa, en relación 1:1 de cada hongo seleccionado. En cuanto a la cinética, se encontró que el C2 requirió 10 días para alcanzar una degradación del 92% del AB; este mismo porcentaje fue obtenido con Pp a los 12 días. Con respecto a las enzimas involucradas, se encontró que la mayor actividad fue registrada para la lacasa, tanto en cepas individuales como en los consorcios fúngicos, con valores de 6,98 U/Lac/gss y 17,83 U/Lac/gss, respectivamente.

Palabras clave: Biorremediación, colorantes trifenilmetánicos, microorganismos fúngicos, actividad enzimática.

SUMMARY

Colored effluent from the textile industry cause adverse effects on aquatic ecosystems, leading to a deterioration of their aesthetic and a decrease in photosynthetic processes. In this study, the biodegradation of textile dye brilliant blue, BB, over flowers waste using three fungal strains *Pleurotus ostreatus* (Po), *Pleurotus pulmonarius* (Pp), *Trametes versicolor* (Tv) and some of their consortia was evaluated. The best conditions of degradation were determined by solid state fermentation with individual fungal species and two of its consortia C1: Po-Tv y C2: Po-Pp, through a factorial design. Likewise, the kinetics of the process was evaluated and the enzyme activity was quantified. A biodegradation percentage from BB of 99.14% was reached by Pp as single strain, under a ratio of C:N of 20:1, with four biomass plugs and of 99.19% for C2, under a ratio of C:N of 40:1, with four biomass plugs in 1:1 ratio of each selected fungus. As to the kinetics, it was found that C2 required a time of 10 days to reach 92% of BB decolourisation; this same percentage was obtained by Pp at 12 days. Regarding to the involved enzymes, it was found that the highest activity was recorded for the laccase by both individual strains and fungal consortia, with values of 6.98 U/LAC/gss and 17.83 U/LAC/gss respectively.

Key words: Bioremediation, triphenylmethane dyes, fungal microorganisms, enzymatic activity.

INTRODUCCIÓN

Los colorantes sintéticos son compuestos de gran interés, por su amplio uso en la industria textil (Murugesan *et al.* 2007). Su implementación en los procesos de tinción gene-

ra aguas residuales coloreadas, las cuales, son estables a la luz, a la temperatura y a ataques microbianos, confiriéndoles un carácter recalcitrante (Verma & Madamwar, 2002; Tychanowicz *et al.* 2004; Fernández *et al.* 2009). La liberación de estos colorantes en el ecosistema acuático, conlleva a un impacto negativo, reflejado, principalmente, en el deterioro visual y en el desequilibrio dinámico del sistema, como consecuencia de la menor disponibilidad de oxígeno, debida a la notable reducción del proceso fotosintético (Chander & Arora, 2007; Prigione *et al.* 2008; Saratale *et al.* 2009).

El azul brillante AB es un colorante trifenilmetánico, ampliamente utilizado en la tinción de productos textiles y de cuero, así como en la industria alimentaria en bebidas, en productos lácteos, en polvos, en gelatinas, en dulces, en helados, en jarabes, en extractos y en condimentos (Gupta *et al.* 2006). Por esta razón, su presencia es frecuente en los efluentes coloreados, vertidos por diferentes industrias, ocasionando impactos negativos.

En la actualidad, se cuentan con distintos métodos fisicoquímicos para el tratamiento de aguas coloreadas, que ofrecen resultados satisfactorios en la remoción de colorantes, pero su implementación genera elevados costos y lodos (Tychanowicz *et al.* 2004). Por lo anterior, se ha incrementado el interés en la búsqueda de métodos de tratamientos económicos y eficientes, tales como los biológicos, utilizando, en especial, hongos de la podredumbre blanca, HPB. Éstos, se caracterizan por poseer un complejo enzimático, que les permite degradar un extenso número de compuestos orgánicos recalcitrantes (Boer *et al.* 2004; Tychanowicz *et al.* 2004; Fernández *et al.* 2009). Los HPB poseen un sistema enzimático extracelular, que les permite realizar, naturalmente, la biodegradación de la lignina. Las enzimas que componen dicho sistema son de tipo oxidasas; dentro de ellas, las más destacadas son las lacasas, la ligninoperoxidasa (LiP), la manganeso peroxidasa (MnP); éstas dos últimas dependientes de peróxido de hidrógeno (Robinson *et al.* 2001; Fernández *et al.* 2009). Las enzimas producidas por estos hongos han sido obtenidas, tanto por fermentación en sumergido como por fermentación en estado sólido, FES; no obstante, la fermentación en sumergido no refleja las características naturales del hábitat de crecimiento de los HPB, mientras que la FES, recrea ese ambiente natural, dado que ellos crecen sobre materiales lignocelulosicos húmedos y en ausencia de agua libre (Gutiérrez *et al.* 1999; Tychanowicz *et al.* 2004). Esta última metodología ha ganado especial atención para el tratamiento de colorantes, por los considerables porcentajes de decoloración, así como por la producción de enzimas, tal como ha sido reportado por Robinson *et al.* (2001); Murugesan *et al.* (2007); Robinson & Nigam, (2008). Las fermentaciones en estado sólido, se pueden llevar a cabo por un organismo individual o por su consorcio, es decir, utilizando dos o más organismos en el proceso (Gutiérrez

et al. 1999; Malaviya & Rathore, 2007). El establecimiento de los consorcios fúngicos está supeditado al sinergismo de las especies participantes y a las condiciones nutricionales (Rojas & Hormaza, 2014). Al presentarse una compatibilidad positiva entre los organismos participantes en la fermentación, se puede aprovechar de forma satisfactoria el sustrato, superando las limitaciones nutricionales del soporte sólido y, a la vez, alcanzar una mayor producción enzimática (Gutiérrez *et al.* 1999; Kaushik & Malik, 2009; Kausar *et al.* 2010; Yang *et al.* 2011).

Por otro lado, en Colombia se producen, aproximadamente, 1.700 toneladas de residuos de flores al año, de acuerdo con Jaramillo *et al.* (2013), que son tratadas, usualmente, por tecnologías, como el compostaje, generando abonos orgánicos, que pueden contener microorganismos fitopatógenos, enterobacterias y virus (Gutiérrez *et al.* 2009). Como alternativa a la disposición de estos residuos de flores se han realizado estudios, los cuales, han mostrado un desempeño satisfactorio de estos residuos, como potenciales adsorbentes, en la remoción del colorante AB (Jaramillo *et al.* 2013; Echavarría & Hormaza, 2014). Por ello y debido a su amplia disponibilidad, el sistema residuo de flores-AB ha sido seleccionado como soporte sólido para la FES, del presente estudio.

Con el propósito de contribuir a la investigación relacionada con los procesos fermentativos en estado sólido y con la metodología biológica poco explorada en el país para el tratamiento de aguas coloreadas, en el presente trabajo, se evaluó la biodegradación del colorante textil AB sobre residuos de flores, empleando tres cepas fúngicas de HPB y dos de sus consorcios. Además, se determinó la cinética del proceso y se cuantificó la actividad enzimática, tanto para las especies individuales como para los consorcios, información que será utilizada para el posible escalado de este proceso de biorremediación de colorantes sintéticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas: Fueron utilizadas tres cepas de los HPB, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius* y *Trametes versicolor*, obtenidas del Laboratorio de Tejidos Vegetales de la Universidad de Antioquia, que fueron reactivadas, incubándose a 28°C, durante diez días, en agar salvado de trigo, cuya composición fue 350g, salvado de trigo/L; 5,0g, peptona /L; 10g, de glucosa/L; 2,0g, de extracto de levadura/L; 0,1g, KH₂PO₄/L; 0,05g, MgSO₄.7H₂O/L y 0,076g, MnSO₄.H₂O/L. De este medio, se tomaron discos de 10mm de diámetro del borde de crecimiento del hongo, que fueron utilizados como inóculo para las pruebas de decoloración inicial y el posterior proceso de FES.

Pruebas de decoloración inicial del AB: Se utilizaron los medios agar PDA OXOID pH = 5,5 y el medio reportado por

Radha *et al.* (2005), cuya composición es 2,0g, de glucosa/L; 0,075g, NH₄Cl/L; 2g, KH₂PO₄/L; 0,5g, MgSO₄.7H₂O/L; 0,1g, CaCl₂.2H₂O/L; 100μg, de tiamina/L; 0,5g, MnSO₄.H₂O/L; 0,1g, FeSO₄.7H₂O/L; 0,1g, ZnSO₄.7H₂O/L; 18g, de agar-agar/L y se ajustó el pH a 4,5, donde se disolvió el AB a una concentración de 100ppm. Cada uno de estos medios fue servido respectivamente en tres cajas de Petri de 9,0cm de diámetro, a las cuales, se adicionó un disco de 0,5cm de diámetro, de cada una de las cepas de estudio. Seguidamente, las cajas fueron sometidas a incubación por diez días, a 28°C.

La selección del mejor medio, se apoyó en la apreciación cualitativa de la decoloración y en el mayor crecimiento en centímetros de las tres especies fúngicas evaluadas. Adicionalmente, se llevó a cabo la prueba del cosustrato de carbono, con el fin de determinar la influencia de una fuente de carbono en la degradación de AB. Para ello, se empleó AB a 100ppm, el medio seleccionado en la prueba anterior, sin glucosa y suplementado con glucosa, utilizando los tres hongos individuales, observando el proceso de decoloración durante diez días. El criterio de selección fue la apreciación visual de decoloración mostrada por las especies fúngicas de estudio.

Preparación del soporte sólido: Los residuos de flores, RF, utilizados corresponden a los tallos de margarita, de rosa y de clavel, en relación 1:1:1. Su tratamiento incluyó lavado con agua destilada, secado a 80°C, durante 48 horas, molienda y tamizado, bajo las condiciones previamente descritas por Jaramillo *et al.* (2013). El colorante AB fue removido de una solución coloreada, simulada bajo las condiciones óptimas del proceso de adsorción en sistema discontinuo, descritas en Jaramillo *et al.* (2013).

FES con hongos individuales: Los ensayos fueron llevados a cabo en Erlenmeyer de 50mL, utilizando un diseño estadístico factorial de niveles mixtos 3x2x2, con tres réplicas por tratamiento. Los factores considerados fueron hongo, definido por las tres especies evaluadas: *P. pulmonarius*, *P. ostreatus* y *T. versicolor*, el factor biomasa, dado por los niveles de 2 y 4 discos de agar, colonizados por los hongos y el factor relación C:N, dado por los niveles 40:1 y 20:1. Se seleccionaron 4 discos de inóculo, con el fin de garantizar la colonización total de la superficie del recipiente, donde se lleva a cabo la FES. La utilización de dos discos de inóculo posibilita evaluar la influencia de la cantidad de biomasa en el proceso. Con respecto a la relación C:N, se ha reportado que influye en la producción enzimática de los HPB. Tychanowycz *et al.* (2004) encontraron una máxima producción de lacasa, con la relación 30:1, por ello se decidió utilizar las relaciones 40:1 y 20:1, valores cercanos a esta condición.

Se utilizaron 200mg de RF, a los cuales, se adicionó una solución mineral del medio Rhada, que contenía glucosa, clo-

ruo de amonio, 2g de KH₂PO₄/L, 0,5g de MgSO₄.7H₂O/L, 0,1g de CaCl₂.2H₂O/L, 100μg de tiamina/L, 0,5g de MnSO₄.H₂O/L, 0,1g de FeSO₄.7H₂O/L, 0,1g de ZnSO₄.7H₂O/L, modificándose la cantidad de glucosa y cloruro de amonio en función de la relación C:N, previamente seleccionada. La FES se evaluó durante 30 días, a 28°C.

La selección de la mejor cepa fúngica correspondió a aquella con el mayor porcentaje de degradación. Para ello, se realizó, inicialmente, un proceso de desorción, que consistió en la adición de 60mL de KOH 0,005M, con agitación de 140rpm, durante 120 minutos y a temperatura ambiente. La cantidad de colorante residual, se cuantificó a partir de la lectura de absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción del AB ($\lambda_{\text{máx}}=629\text{nm}$), determinada en un espectrofotómetro UV/Vis Lambda 35 de doble haz, marca Perkin Elmer, donde el colorante total extraído del control abiótico, sin hongo, se consideró del 100%. A partir de esta información, se calculó el porcentaje de degradación mediante la ecuación 1.

$$\% \text{Degradación} = \frac{mi-mf}{mf} * 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

mi: Masa inicial del colorante adherido, blanco o control (mg)

mf: Masa residual de colorante desorbido en la muestra (mg)

En esta investigación, se estableció que una degradación, con un porcentaje cercano al 50%, será considerada poco satisfactoria. En caso de obtenerse dicho valor, se procederá a realizar la FES, utilizando los consorcios de las tres especies fúngicas de estudio.

FES con consorcios: El porcentaje de degradación alcanzado con los consorcios, se determinó a partir de un diseño factorial 2³, donde los ensayos se llevaron a cabo por triplicado. Los factores considerados fueron factor consorcio, dado por los niveles C1: *P. ostreatus*-*P. pulmonarius*, C2: *P. ostreatus*-*T. versicolor*, factor biomasa con niveles de 2 y 4 discos de 1cm de diámetro colonizados de hongo y el factor relación C:N, con relaciones de 40:1 y 20:1. Además, se mantuvo la solución de sales del medio Radha, descrita anteriormente en la FES, para cepas individuales. Cabe señalar que la biomasa fue inoculada con discos de cada una de las especies fúngicas, que conformaban el consorcio en relación 1:1. La fermentación, igualmente, fue llevada a cabo durante 30 días, a 28°C.

Cinética de degradación de AB: Se seleccionó la mejor combinación de factores, que mostraron los mayores porcentajes de degradación de AB, tanto con las cepas individuales como con los consorcios y se repitieron los ensayos, realizando un registro diario de la cantidad del colorante residual, mediante la ecuación 1.

Actividad enzimática: La actividad de las enzimas fue medida durante la FES de la cinética de degradación, previamente descrita. Para ello, se añadieron 20mL de buffer acetato de sodio 50 μ M (pH=5,5) y se agitó durante una hora, con el fin de extraer las enzimas del RF en el buffer. El extracto líquido obtenido, se centrifugó y el sobrenadante se utilizó para la determinación de las enzimas. La actividad lacasa, se midió utilizando buffer citrato de sodio 0,1M (pH=3,0) y 10mM del ácido etilbenzothiazoline-6-sulfónico (ABTS), registrando la absorbancia a $\lambda=420\text{nm}$, con un coeficiente de extinción $\epsilon_{420}=36.000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Murugesan *et al.* 2007; Faraco *et al.* 2009). La actividad manganeso peroxidasa, MnP fue determinada por la oxidación de una solución de MnSO_4 1,0mM en buffer malonato de sodio 50mM (pH=4,5), en presencia de H_2O_2 0,1mM. Se midió la absorbancia a una $\lambda=270\text{nm}$, con un coeficiente de extinción molar $\epsilon_{270}=11.590\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Murugesan *et al.* 2007; Faraco *et al.* 2009). En cuanto a la actividad lignino-peroxidasa, LiP se utilizó alcohol veratrílico 2mM, buffer tartrato de sodio 50mM, (pH=2,5) y H_2O_2 5mM. La absorbancia, se midió a $\lambda=310\text{nm}$, con un coeficiente de extinción molar $\epsilon_{310}=9.300\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (Tychanowycz *et al.* 2004). La actividad enzimática fue reportada como unidades enzimáticas -U-, por gramo de sustrato seco -gss-, definidas como la cantidad de enzima requerida para producir 1,0 μ mol producto/min (Tychanowycz *et al.* 2004; Murugesan *et al.* 2007).

Análisis estadístico: Se realizó un análisis de varianza ANDE-VA tipo modelo lineal general, con un nivel de confianza del 95%, a partir de la información obtenida para la degradación en los diseños factoriales, tanto por las cepas individuales como por los consorcios, definiendo, como variable dependiente, el porcentaje de degradación y como variables independientes, los factores hongo, biomasa y relación C:N, utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion XV.II versión 16.1.18

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas preliminares de degradación de AB: El medio PDA fue descartado para la evaluación de la degradación del AB, dado que sólo se evidenció crecimiento de los tres hongos, más no decoloración durante el tiempo de observación (Figura 1A). En cuanto al medio Radha, se observó decoloración y crecimiento para las tres especies seleccionadas: *T. versicolor*, *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*, en los diez días de seguimiento (Figura. 1B); por lo anterior, se seleccionó el medio Radha para el posterior proceso de FES. La diferencia en los resultados puede ser atribuida a las características del medio Radha, el cual, por su alto contenido de nutrientes, en particular, hierro, manganeso y zinc, favorece la inducción y la síntesis de las enzimas ligninolíticas de los HPB (Radha *et al.* 2005).

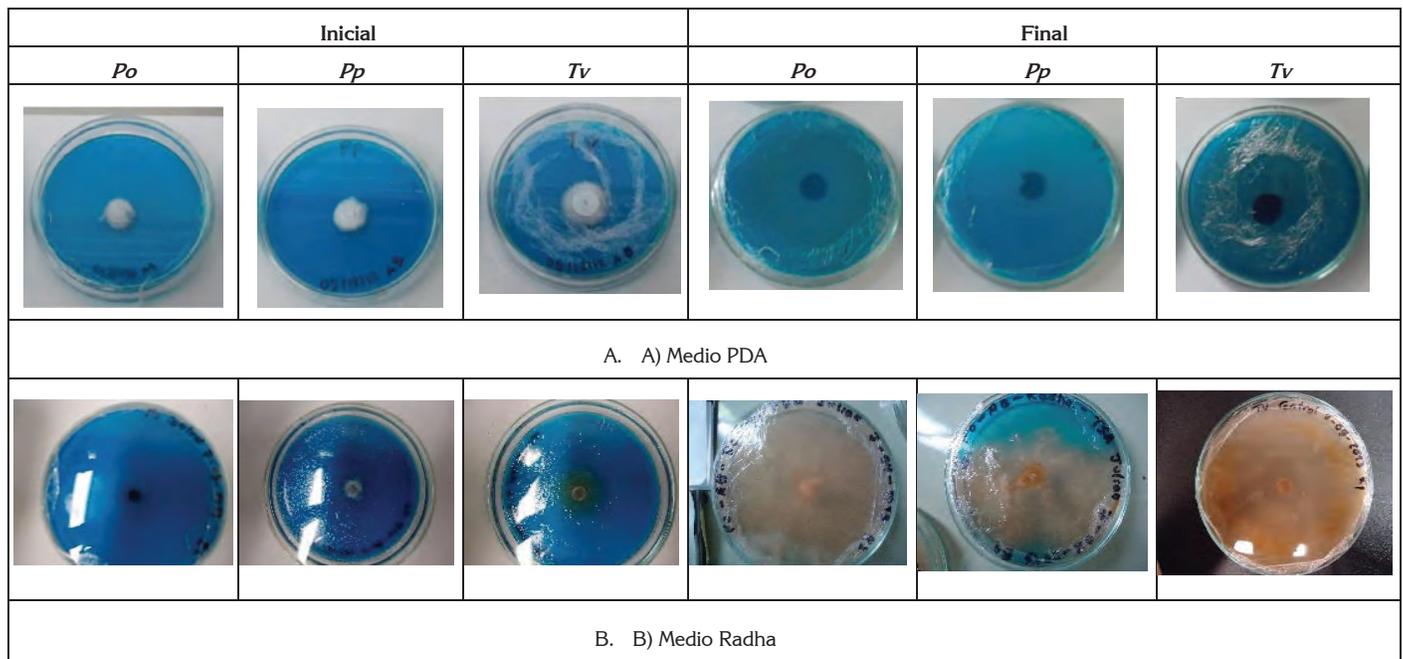


Figura 1. Registro visual de los días inicial y final en la prueba de decoloración del AB, en los dos medios: A) PDA y B) Radha. *Pleurotus ostreatus* (*Po*), *Pleurotus pulmonarius* (*Pp*), *Trametes versicolor* (*Tv*).

Con respecto a la influencia del cosustrato, se evidenció, visualmente, una desaparición total del color con las tres cepas fúngicas, que fueron suplementadas con glucosa, presentando halos de decoloración, que alcanzaron la totalidad de la caja de Petri, en diez días. En contraste con el ensayo que careció de cosustrato, se observó un crecimiento del hongo con formación de micelio muy delgado, sin percepción visual de la decoloración. Se ha reportado que los HPB mineralizan compuestos complejos, como los colorantes, lo cual, se puede ver favorecido con el aditamento de un cosustrato de carbono de fácil absorción (Radha *et al.* 2005). Cabe señalar que diferentes carbohidratos han sido probados; sin embargo, la glucosa ha sido la más utilizada, debido a su estructura fácilmente hidrolizable y asimilable (Padmavathy *et al.* 2003; Koyani *et al.* 2013).

FES con cepas individuales de HPB: El porcentaje de degradación de AB obtenido con las tres especies evaluadas, se presenta en la tabla 1.

Se observa una diferencia en los porcentajes de degradación entre los dos géneros utilizados, *Pleurotus sp.* y *Trametes sp.* De acuerdo al ANDEVA, los hongos utilizados tienen un efecto significativo en la degradación de AB, con un valor F de 152,8, dos grados de libertad y $P < 0,05$. De acuerdo a la prueba de Tukey, *T. versicolor* muestra una diferencia significativa, con un promedio del 53%, con respecto a los dos hongos del género *Pleurotus sp.*, que mantuvieron promedios semejantes y valores de decoloración superiores al 80%.

La baja eficiencia de *T. versicolor* en la FES puede ser atribuida a la dificultad del hongo para acceder al colorante, que se encuentra adherido al soporte sólido; asimismo y según Boer *et al.* (2004), se puede deber a la presencia de pigmentos naturales del sustrato, que pueden interferir en los procesos de decoloración o a que el sustrato no suministra las condiciones adecuadas para su crecimiento, tal como una transferencia insuficiente de oxígeno por tamaño de partícula, como lo sugieren Xin & Geng (2011) y Koyani *et al.* (2013). Por su parte, *P. pulmonarius* mostró un alto porcentaje de degradación del 99,14%, con una relación C:N de 20:1 e indiferente de la biomasa de hongo empleada. Estos resultados concuerdan con los reportados por Tychanowicz *et al.* (2004), quienes obtuvieron valores superiores al 80% en la degradación de varios colorantes trifenilmetánicos, utilizando el hongo *P. pulmonarius*, bajo fermentación en estado sólido, con tuza de maíz. De forma general, el contraste en los resultados obtenidos para los dos géneros evaluados puede ser atribuido a las diferencias intrínsecas en su metabolismo (Jaramillo *et al.* 2014; Rojas & Hormaza, 2014).

Con respecto al factor C:N, se alcanzó una degradación satisfactoria, del orden del 86-88% a cualquier nivel; sin embargo, el proceso de decoloración, se puede mejorar, al combinar el factor biomasa, en un nivel de 4 discos de 1cm, obteniéndose degradaciones del 96%. Resultados con una eficiencia similar han sido descritos por Keliang *et al.* (2009), para la decoloración de tres colorantes trifenilmetánicos, mediante FES, sobre cascarilla de arroz.

Tabla 1. Porcentajes de degradación para la FES con las especies fúngicas individuales.

Hongo	Condiciones		% Degradación	Medias ANDEVA por Hongo
	Biomasa (Discos)	Relación C:N		
<i>P. ostreatus</i>	2	40	88,76	94,05
	4	40	95,87	
	2	20	88,71	
	4	20	86,16	
<i>P. pulmonarius</i>	2	40	61,88	86,73
	4	40	77,64	
	2	20	96,20	
	4	20	99,14	
<i>T. versicolor</i>	2	40	57,79	58,21
	4	40	60,98	
	2	20	42,37	
	4	20	51,10	

FES con consorcios de HPB: Los consorcios utilizados en este estudio fueron seleccionados a partir de pruebas de compatibilidad en estudios previos, como los reportados por Rojas & Hormaza (2014). Los resultados mostrados en la tabla 2, muestran que el C2, *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*, logró alcanzar una biodegradación del 99,19%, con una relación de C:N de 40:1 y una biomasa de 4 discos. Esta elevada eficiencia, se explica debido a que las especies fúngicas mostraron una alta capacidad de decoloración del AB de forma individual; asimismo, a que su compatibilidad positiva condujo a una mayor acción metabólica (Chi *et al.* 2007; Albert *et al.* 2011).

Para el C1, *P. ostreatus* y *T. versicolor*, se obtuvo un valor promedio de degradación del 78%, señalando un aumento del 25%, para *T. versicolor*, con respecto al resultado obtenido en la FES, de forma individual, del 53%; lo anterior evidencia la favorabilidad del uso de este consorcio en la degradación de colorantes. Resultados similares con consorcios fúngicos han sido registrados por Verma & Madamwar (2002) y Yang *et al.* (2011), utilizando un consorcio de *Phanerochaete chrysosporium* y *P. ostreatus* y un cultivo mixto de *Trametes* sp. y *Chaetomium* sp., obteniendo porcentajes satisfactorios en la biodegradación de colorantes, los cuales, se encuentran entre el 63 y el 96%.

Tabla 2. Porcentajes de degradación para la FES con los consorcios fúngicos.

Consortio	Condiciones		% Biodegradación	Medias ANDEVA por consorcio
	Biomasa (Discos)	Relación C/N		
Consortio 1 (<i>T. versicolor</i> – <i>P. ostreatus</i>)	2	40	88,86	78,28
	4	40	98,76	
	2	20	55,31	
	4	20	96,54	
Consortio 2 (<i>P. ostreatus</i> – <i>P. pulmonarius</i>)	2	40	92,57	92,43
	4	40	99,20	
	2	20	83,04	
	4	20	98,85	

El análisis ANDEVA mostró un $P < 0,05$ para los factores evaluados, indicando significancia estadística, para cada uno de ellos, al igual que para sus interacciones, resaltando los valores de degradación más altos en una C:N, de 40:1, la cual, difiere de las investigaciones de Pointing *et al.* (2000) y Herpoël *et al.* (2000), según, las cuales, los HPB dieron lugar a mayores actividades enzimáticas, bajo condiciones limitantes de nutrientes. En cuanto a la biomasa, la más favorecida, para ambos consorcios, fue la de cuatro discos, permitiendo sugerir que una mayor cantidad de biomasa favorece la producción de enzimas, que participan en la degradación del colorante AB.

Cinética de degradación de AB: Para su análisis, se tomaron las condiciones, bajo las cuales, se obtuvieron los mejores resultados de degradación en la FES. Así, en el caso de las cepas individuales de *P. ostreatus*, una relación C:N de 40:1 y cuatro discos de hongo y para *P. pulmonarius*, una relación C:N de 20:1 e, igualmente, con cuatro discos de hongo. Para los consorcios C1 y C2, se tomó la relación C:N 40:1 y una biomasa de cuatro discos de 1cm.

En la figura 2, se presenta la cinética registrada para las dos especies fúngicas y los dos consorcios, evaluados durante 20 días. Como se observa, el consorcio 2 requirió 10 días para alcanzar una decoloración del 92% del AB (Figura 2); este mismo porcentaje satisfactorio fue alcanzado a los 12 días, por *P. pulmonarius* y a los 15 días, por el consorcio 1 y por *P. ostreatus*, mostrando claramente una mayor eficiencia por parte del consorcio 2.

De forma general, se aprecia que a medida que transcurre el tiempo de observación aumenta la degradación del colorante, siendo más marcada esta tendencia para el consorcio 2, que puede alcanzar una degradación del 99,0%, a los 16 días del proceso de FES. Su gran eficiencia, se puede argumentar, debido a la sinergia entre las dos especies fúngicas del mismo género (Albert *et al.* 2011).

Los resultados obtenidos para la cinética del presente estudio con las cepas individuales superan a los reportados por Tychanowicz *et al.* (2004) y Robinson *et al.* (2008), donde se evaluó la degradación de colorantes bajo condiciones simi-

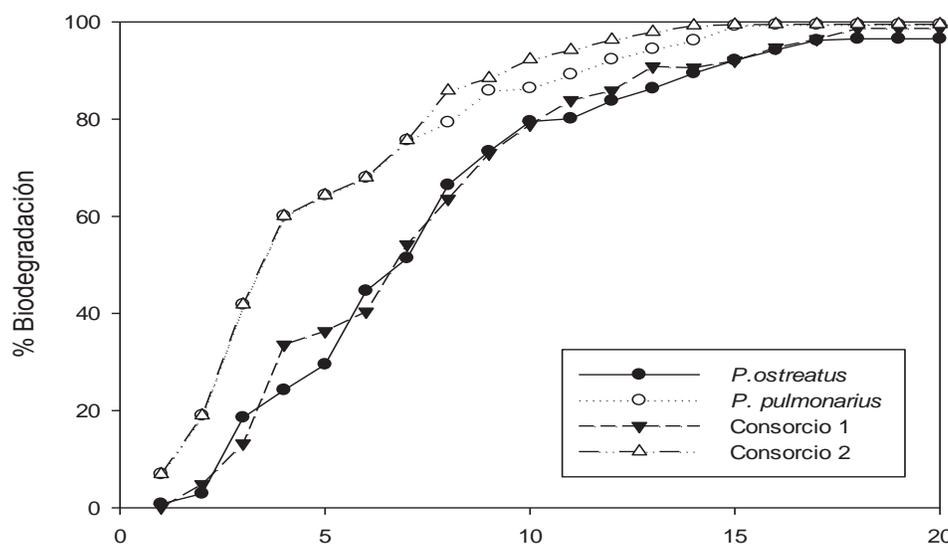


Figura 2. Cinética de degradación de AB, mediante FES.

lares de FES y utilizando los hongos *P. pulmonarius*, en tuza de maíz y *Bjerkandera adusta*, sobre cáscara de cebada, alcanzando porcentajes de decoloración del 40,0 y 53,1%, en tiempos de 8 y 21 días, respectivamente. Por otro lado, es de resaltar la alta eficiencia obtenida para los consorcios, con un valor promedio del 92%, a los 12 días.

Actividad enzimática: La medición de la actividad enzimática, se realizó a los 20 días del proceso de fermentación, tiempo necesario para la ocurrencia de la degradación. De acuerdo a la tabla 3, *P. pulmonarius*, bajo una relación C:N de 20:1 y 4 discos de hongo, registró la presencia de Lacasa, alcanzando un valor de 6,44ULac/gss, mientras que para *P. ostreatus*, bajo una relación de C/N de 40:1 y 4 discos de hongo, se determinó un valor de 7,52ULac/gss, es decir, valores prácticamente similares. Al respecto, cabe mencionar, el estudio llevado a cabo por Tychanomicz *et al.* (2004), bajo condiciones de FES, utilizando 5,0g, de tuza de maíz y una relación C:N de 30:1, reportando un valor de 30ULac/gss, con el hongo *P. pulmonarius*. Por su parte, Keliang *et al.* (2009)

obtuvieron, bajo esta metodología, mejores resultados con *P. ostreatus*, utilizando tres colorantes trifenilmetánicos, cristal violeta, azul de bromofenol y verde malaquita, con 5,0g, de cascarilla de arroz, como soporte sólido. Ellos obtuvieron una máxima producción de Lacasa, igual a 139,6ULac/gss, para el colorante azul de bromofenol.

En cuanto a los consorcios, para la enzima lacasa, se obtuvieron valores de 19,22ULac/gss, para el C1 y 16,45ULac/gss, para el C2, es decir, no se aprecia una diferencia entre los mismos. Los resultados muestran que la actividad lacasa, registrada en este estudio con los consorcios, supera a los reportados por Carabajal *et al.* (2012), donde el consorcio formado por los HPB, *P. ostreatus* y *P. citrinopileatus*, dio lugar a actividades lacasas, con valores de 3,45ULac/gss.

Los elevados porcentajes de degradación obtenidos en la presente investigación para los consorcios y las especies individuales *P. pulmonarius* y *P. ostreatus*, permiten sugerir que la FES representa una metodología biológica alternativa y

Tabla 3. Actividad enzimática en la FES de AB con especies individuales y consorcios.

	Actividad Enzimática (ULac/gss)		
	Lacasa	MnP	LiP
<i>Pp</i>	6,440	4,210	0,310
<i>Po</i>	7,525	4,081	0,291
C1	19,229	1,395	0,319
C2	16,450	12,191	0,294

eficiente para el tratamiento de colorantes trifenilmetánicos, tales como el AB.

El establecimiento de consorcios permitió evidenciar el sinergismo de las especies individuales, mediante un incremento en la producción enzimática que, finalmente, favorece el proceso de degradación del colorante de estudio. Se obtuvieron valores superiores para los consorcios con respecto a las cepas individuales, para las enzimas Lacasa y Manganeso Peroxidasa.

Agradecimientos: Los autores expresan agradecimientos a la Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín- por el apoyo- a través de la infraestructura del Laboratorio de Química Experimental. **Financiación:** Este estudio fue financiado por la Convocatoria Jóvenes Investigadores e Innovadores 617, año 2013 de Colciencias y por la Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- ALBERT, S.; CHAUHAN, D.; PANDYA, B.; PADHIAR, A. 2011. Screening of *Trichoderma* spp. as potential fungal partner in co-culturing with white rot fungi for efficient bio-pulping. Global J. Biotech. Biochem, (India). 6(3):95-101.
- BOER, C.G.; OBICI, L.; DE SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R.M. 2004. Decolorization of synthetic dyes by solid state cultures of *Lentinula (Lentinus) edodes* producing manganese peroxidase as the main ligninolytic enzyme. Bioresour. Technol. (Brazil) 94(2):107-112.
- CARABAJAL, M.; LEVIN, L.; ALBERTO, E.; LECHNER, B. 2012. Effect of co-cultivation of two *Pleurotus* species on lignocellulolytic enzyme production and mushroom fructification. Int. Biodet. Biodegr. (Argentina) 66(1):71-76.
- CHANDER, M.; ARORA, D.S. 2007. Evaluation of some white-rot fungi for their potential to decolourise industrial dyes. Dyes Pigments. (India). 72(2):192-198.
- CHI, Y.; HATAKKA, A.; MAIJALA, P. 2007. Can co-culturing of two white-rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes? Int. Biodet. Biodegr. 59(1):32-39.
- ECHAVARRIA, A.M.; HORMAZA, A. 2014. Flower wastes as a low-cost adsorbent for the removal of acid blue 9. DYNA. (Colombia). 81(185):132-138.
- FARACO, V.; PEZZELLA, C.; MIELE, A.; GIARDINA, P.; SANNIA, G. 2009. Bio-remediation of colored industrial wastewaters by the white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus ostreatus* and their enzymes. Biodegradation. (Italia). 20(2):209-220.
- FERNÁNDEZ, J.A.; HENAO, L.M.; PEDROZA RODRÍGUEZ, A.M.; QUEVEDO HIDALGO, B. 2009. Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5. Rev. Col. Biotecn. 11(1):59-72.
- GUPTA, V.K.; MITTAL, A.; KRISHNAN, L.; MITTAL, J. 2006. Adsorption treatment and recovery of the hazardous dye. Brilliant Blue FCF over bottom ash and de-oiled soya. J. Colloid Interface Sci. (India) 293(1):16-26.
- GUTIÉRREZ-CORREA, M.; PORTAL, L.; MORENO, P.; TENDERDY, R.P. 1999. Mixed culture solid substrate fermentation of *Trichoderma reesei* with *Aspergillus niger* on sugar cane bagasse. Bioresour. Technol. (Perú-Estados Unidos). 68:173-178.
- GUTIÉRREZ, M.F.; BONILLA, M. DEL P.; ESPINOSA, A.; MOSQUERA, M.; SOLANO, S.; MARTÍNEZ, M.M. 2009. Presencia de rotavirus durante un proceso de compostaje. Abonos como vectores de contaminación viral. Univers. Scient. (Colombia) 14(2-3):206-215.
- HERPOËL, I.; MOUKHA, S.; LESAGE-MEESSEN, L.; SIGOILLOT, J.; ASTHER, M. 2000. Selection of *Pycnoporus cinnabarinus* strains for laccase production. FEMS Microbiol. Lett. (Francia). 183(2):301-306.
- JARAMILLO, A.; JIMÉNEZ, S.; MERINO, A.; HORMAZA, A. 2014. Obtención de un inóculo fúngico para la degradación de un colorante azo por fermentación en estado sólido. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. (Colombia). 17(2):577-585.
- JARAMILLO, A.C.; ECHAVARRÍA, A.M.; HORMAZA, A. 2013. Diseño Box-Behnken para la optimización de la adsorción del colorante azul ácido sobre residuos de flores. Rev. Ing. Ciencia. (Colombia). 9(18):75-91.
- KAUSAR, H.; SARIAH, M.; MOHD SAUD, H.; ZAHANGIR ALAM, M.; RAZI ISMAIL, M. 2010. Development of compatible lignocellulolytic fungal consortium for rapid composting of rice straw. Int. Biodet. Biodegr. (Malasia). 64(7):594-600.

16. KAUSHIK, P.; MALIK, A. 2009. Fungal dye decolorization : Recent advances and future potential. *Environ. Int.* (India). 35(1):127-141.
17. KELIANG, Y.; WANG, H.; ZHANG, X.; YU, H. 2009. Bio-process of triphenylmethane dyes decolorization by *Pleurotus ostreatus* BP under solid-state cultivation. *J. Microbiol. Biotechnol.* (China). 19(11):1421-1430.
18. KOYANI, R.D.; SANGHVI, G.V.; SHARMA, R.K.; RAJPUT, K.S. 2013. Contribution of lignin degrading enzymes in decolorisation and degradation of reactive textile dyes. *Int. Biodet. Biodegr.* (India) 77:1-9.
19. MALAVIYA, P.; RATHORE, V.S. 2007. Bioremediation of pulp and paper mill effluent by a novel fungal consortium isolated from polluted soil. *Biores.Techn.* (India). 98(18):3647-3651.
20. MURUGESAN, K.; NAM, I.H.; KIM, Y.M.; CHANG, Y.S. 2007. Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by *Ganoderma lucidum* in solid state culture. *Enzyme Microb. Technol.* (India). 40(7):1662-1672.
21. PADMAVATHY, S.; SANDHYA, S.; SWAMINATHAN, K.; SUBRAHMANYAM, Y.; CHAKRABARTI, T; KAIL, S.N. 2003. Aerobic decolorization of reactive azo dyes in presence of various cosubstrates. *Chem. Biochem. Eng. Q.* (India). 7(2):147-151.
22. POINTING, S.B.; ROAD, P; AVENUE, T.C. 2000. Decolorization of azo and triphenylmethane dyes by *Pycnoporus sanguineus* producing laccase as the sole phenoxidase. *World J. Microbiol. Biotechn.* (China). 16:317-318.
23. PRIGIONE, V; VARESE, G.C.; CASIERI, L.; MARCHISIO, V.F. 2008. Biosorption of simulated dyed effluents by inactivated fungal biomasses. *Biores.Techn.* (Italia). 99(9):3559-3567.
24. RADHA, K.V.; REGUPATHI, I.; ARUNAGIRI, A.; MURUGESAN, T. 2005. Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics. *Process Biochem.* (India). 40(10):3337-3345.
25. ROBINSON, T.; NIGAM, P.S. 2008. Remediation of textile dye waste water using a white-rot fungus *Bjerkandera adusta* through solid-state fermentation (SSF). *Appl. Biochem. Biotechnol.* (Reino Unido) 151(2-3):618-628.
26. ROBINSON, T.; MCMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresour. Technol.* (Reino Unido). 77:247-255.
27. ROJAS, J.A.; HORMAZA, A. 2014. Evaluación del crecimiento y compatibilidad de hongos de la podredumbre blanca. *Ciencia Desarrollo.* (Colombia). 5(2):197-205.
28. SARATALE, R.G.; SARATALE, G.D.; KALYANI, D.C.; CHANG, J.S.; GOVINDWAR, S.P. 2009. Enhanced decolorization and biodegradation of textile azo dye Scarlet R by using developed microbial consortium-GR. *Biores.Techn.* (India-Taiwan) 100(9):2493-2500.
29. TYCHANOWICZ, G.; ZILLY, A.; DE SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R. 2004. Decolorisation of industrial dyes by solid-state cultures of *Pleurotus pulmonarius*. *Process Biochem.* (Brazil). 39:855-859.
30. VERMA, P; MADAMWAR, D. 2002. Production of ligninolytic enzymes for dye decolorization by cocultivation of white-rot fungi *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium* under solid-state fermentation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* (India). 102-103(1-6):109-118.
31. XIN, F; GENG, A. 2011. Utilization of horticultural waste for laccase production by *Trametes versicolor* under solid-state fermentation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* (Singapur). 163(2):235-246.
32. YANG, X.; WANG, J.; ZHAO, X.; WANG, Q.; XUE, R. 2011. Increasing manganese peroxidase production and biodecolorization of triphenylmethane dyes by novel fungal consortium. *Biores. Techn.* (China). 102(22):10535-10541.

Recibido: Agosto 2 de 2015

Aceptado: Diciembre 26 de 2015

Cómo citar:

Rojas, J.; Hormaza A. 2016. Evaluación de la biodegradación del colorante azul brillante utilizando hongos de la podredumbre blanca y sus consorcios. *Rev. U.D.C.A. Act. & Div. Cient.* 19(1): 179-187.

EFFECTOS DE *Eisenia foetida* y *Eichhornia crassipes* EN LA REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA, NUTRIENTES Y COLIFORMES EN EFLUENTES DOMÉSTICOS

EFFECTS OF *Eisenia foetida* AND *Eichhornia crassipes* IN THE REMOVAL OF ORGANIC MATTER, NUTRIENTS AND COLIFORMS IN DOMESTIC WASTEWATER

Lisette Vizcaino Mendoza¹, Natalia Fuentes Molina²

¹ Ing. Medio Ambiente. Universidad de La Guajira. Carrera 4 # 14^a -79, Riohacha-La Guajira, Colombia, e-mail: lvizcaino@uniguajira.edu.co; ² M.Sc. Ciencias Ambientales. Universidad de La Guajira. Carrera 9 N 3 Sur – 20, San Juan del Cesar, La Guajira, Colombia, e-mail: nnfuentes@uniguajira.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 189-198, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Con el objeto de conocer la capacidad depuradora de un sistema biológico potencialmente aplicable como alternativa para la reducción de la carga contaminante de efluentes residuales domésticos del municipio de San Juan del Cesar, se evaluó, a escala de laboratorio, el efecto del tratamiento con *Eisenia foetida* y *Eichhornia crassipes*, sobre la remoción de materia orgánica, de nutrientes y de patógenos. Durante un mes, se aplicaron tres tratamientos: T1: *E. foetida* (biofiltro dinámico aerobio de flujo vertical); T2: *E. crassipes* (sistema de flujo horizontal con plantas flotantes) y T3: *E. foetida* + *E. crassipes* (sistema en serie), empleando tiempos de retención hidráulica de 24 h y caudales de 0,125L/min (*E. foetida*) y 0,020L/min (*E. crassipes*). Se determinaron las concentraciones de sólidos totales (ST), sólidos suspendidos totales (SST), turbidez, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Nitrógeno Total, fosfatos, coliformes totales y *Escherichia coli*, en 30 muestras analizadas (10 para cada sistema). T1 fue más eficiente en la remoción de DQO 69,2%, T2 eliminó el 100% de SST, mientras que T3 reportó las mejores eficiencias de remoción, para la demás variables analizadas. Existen diferencias significativas $p < 0,05$ en la remoción de materia orgánica, nutrientes y coliformes, en los tratamientos aplicados. La matriz de correlación de Pearson indica que existe relación directa $p \leq 0,01$ entre la remoción de ST y la disminución de las concentraciones de DQO, coliformes totales y *E. coli*. Finalmente, la prueba de HDS Tukey confirmó que T3, excepto para DBO, resultó ser más eficiente en el tratamiento, las variables analizadas $p < 0,05$.

Palabras clave: DBO, DQO, humedales construidos, lombrifiltro, tratamiento biológico.

SUMMARY

In order to determine the purifying capacity of a potentially applicable biological system as an alternative for reducing the pollution load of domestic sewage effluent in the municipality of San Juan del Cesar, under laboratory scale the effect of treatment with *Eisenia foetida* and *Eichhornia crassipes* in the removal of organic matter, nutrients and pathogens was evaluated. During one month, three treatments were applied; T1: *E. foetida* (dynamic aerobic biofilter vertical flow), T2: *E. crassipes* (horizontal flow system with floating plants) and T3: *E. foetida* + *E. crassipes* (series system); using hydraulic retention times of 24h and flow of 0,125L/min (*E. foetida*) and 0,020L/min (*E. crassipes*). Concentration of total solids, total suspended solids (TSS), turbidity, biochemical oxygen demand (BOD₅), chemical oxygen demand (COD), total nitrogen, phosphate, total coliforms and *Escherichia coli* in 30 analyzed samples (10 for each system) were determined. T1 was more efficient in the removal of COD 69.2 %; T2 eliminated 100% of TSS, while T3 reported the best removal efficiencies for the other variables analyzed. There are significant differences $p < 0.05$ in the removal of organic matter, nutrients and coliforms by the treatments applied. The Pearson correlation matrix indicates that there is direct relationship between removal $p \leq 0.01$ ST and decreased concentrations of COD, total coliforms and *E. coli*. Finally Tukey HDS test confirmed that T3 except for BOD were the most efficient in the treatment of all the variables analyzed $p < 0.05$.

Key words: BOD, COD, constructed wetlands, earthworm-filters, biological treatment.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de las aguas constituye un problema ambiental, generado como consecuencia de la descarga directa o parcialmente tratada de efluentes residuales, producto de actividades industriales y el crecimiento poblacional (Salgado *et al.* 2012). Estos, al mezclarse con cuerpos, los receptores generan un incremento en las concentraciones de materia orgánica, nutrientes, compuestos tóxicos y microorganismos indeseables (Luna & Ramírez, 2004).

En América Latina, las diferencias marcadas en los aspectos socioeconómicos, ambientales y tecnológicos reducen el acceso a sistemas o instalaciones mínimas, adecuadas para la depuración de los efluentes residuales, especialmente, en las zonas rurales (Montoya *et al.* 2010).

En este sentido, los sistemas biológicos convencionales, como lagunas de estabilización (Correa *et al.* 2012), tanques sépticos, filtros anaerobios de flujo ascendente (Seghezzo *et al.* 1998; Madera *et al.* 2005), en los que la remoción se da principalmente por la acción de microorganismos, se presentan como las principales alternativas de tratamiento; sin embargo, en la actualidad, los sistemas basados en el uso de plantas acuáticas (Romero *et al.* 2009; Rodríguez *et al.* 2010; Correa *et al.* 2015) y de lombrices (Ramón *et al.* 2015), sobresalen como una opción viable, con bajos costos de operación y simplicidad en el manejo tecnológico.

Los sistemas con plantas flotantes utilizan una cobertura de plantas, como la *Eichhornia crassipes*, cuyas características principales son la hiperacumulación de sustancias tóxicas (Peña *et al.* 2013) y transformación de compuestos, caracterizados por parámetros, como las demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno (DQO y DBO₅), sólidos suspendidos totales (SST) y nutrientes (Martelo & Lara, 2012). Los contaminantes en los sistemas con macrófitas son removidos por una variedad compleja de procesos biológicos, físicos y químicos, incluyendo sedimentación, filtración, adsorción en el suelo, degradación microbiana, nitrificación y desnitrificación, decaimiento de patógenos y metabolismo de las plantas (Peña *et al.* 2003).

Los biofiltros dinámicos aerobios de flujo vertical basados en el uso de lombrices, como *Eisenia foetida*, tienen alta eficiencia en la remoción de materia orgánica y organismos patógenos, por sus características físicas o estructurales (Ramón *et al.* 2015). Se diseñan con funcionamiento intermitente, por lo que operan con cargas superiores que los horizontales. La aplicación intermitente del agua residual y el drenaje vertical en el lecho permiten que las reacciones aeróbicas se produzcan con rapidez, permitiendo una mayor oxigenación del líquido (Pérez *et al.* 2015).

El presente estudio buscó determinar y comparar la eficiencia de remoción de materia orgánica, nutrientes, coliformes totales y *E. coli* de la macrofitas *E. crassipes*, plantada en un sistema de flujo horizontal con plantas flotantes y la lombriz roja californiana *E. foetida*, sembrada en un biofiltro dinámico aerobio de flujo vertical, con lechos de aserrín y grava, empleando un caudal de agua residual, proveniente del pozo de inspección, ubicado a la entrada de la laguna de estabilización del municipio de San Juan del Cesar, sur del departamento de La Guajira.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, se desarrolló aplicando dos tratamientos individuales T1 y T2, empleando un biofiltro dinámico aerobio de flujo vertical, para las pruebas con *E. foetida* y un sistema de flujo horizontal con plantas flotantes, para los ensayos con *E. crassipes*. Un tercer tratamiento T3 consistió en analizar la capacidad combinada de las dos especies, convirtiendo las unidades en un sistema en serie biofiltro flujo vertical (lombrifiltro) – biofiltro flujo horizontal (sistema con plantas flotantes). En total, se analizaron 30 muestras, 10 para cada tratamiento; en la figura 1, se muestran los esquemas para cada sistema de tratamiento empleado.

El lombrifiltro, se construyó con láminas de vidrio de 1m de altura y 0,5m de ancho. El sistema, se diseñó con base en la metodología citada por Ramón *et al.* (2015), ubicando –en la parte inferior-, un lecho de soporte de 30cm, constituido por 15cm de grava gruesa ($\phi=5\text{cm}$) y 15cm de grava fina; en la parte superior, se dispuso una capa de aserrín de 20cm, mezclada con 5kg de *E. foetida*. La entrada del efluente al sistema, se hizo por la parte superior, a través de aspersión (Parra & Chiang, 2014), empleando tubería de PVC de $\frac{1}{2}$ pulgada de diámetro, perforada con orificios de 5mm de diámetro, cada 3cm. Los ensayos, se realizaron empleando un tiempo de retención hidráulica de 24h y un caudal de 0,125L/min, proveniente de un tanque de almacenamiento de 250L, el cual, actuó como un decantador primario.

El humedal artificial de flujo libre, se diseñó con una longitud de 0,9m, un diámetro de 0,60m y una profundidad de 0,40m; un caudal de alimentación de 0,020L/min y un tiempo de retención 24h, de acuerdo con lo recomendado por Rodríguez *et al.* (2010). Los ejemplares de *E. crassipes* recolectados en el tramo del Río Ranchería, que bordea las instalaciones de la Universidad de La Guajira, Sede Fonseca, se sembraron con una densidad de seis plantas por metro cuadrado, que se aclimataron durante un mes, con agua residual del sistema de alcantarillado del municipio de San Juan del Cesar, La Guajira, a temperatura promedio de 28,3°C.

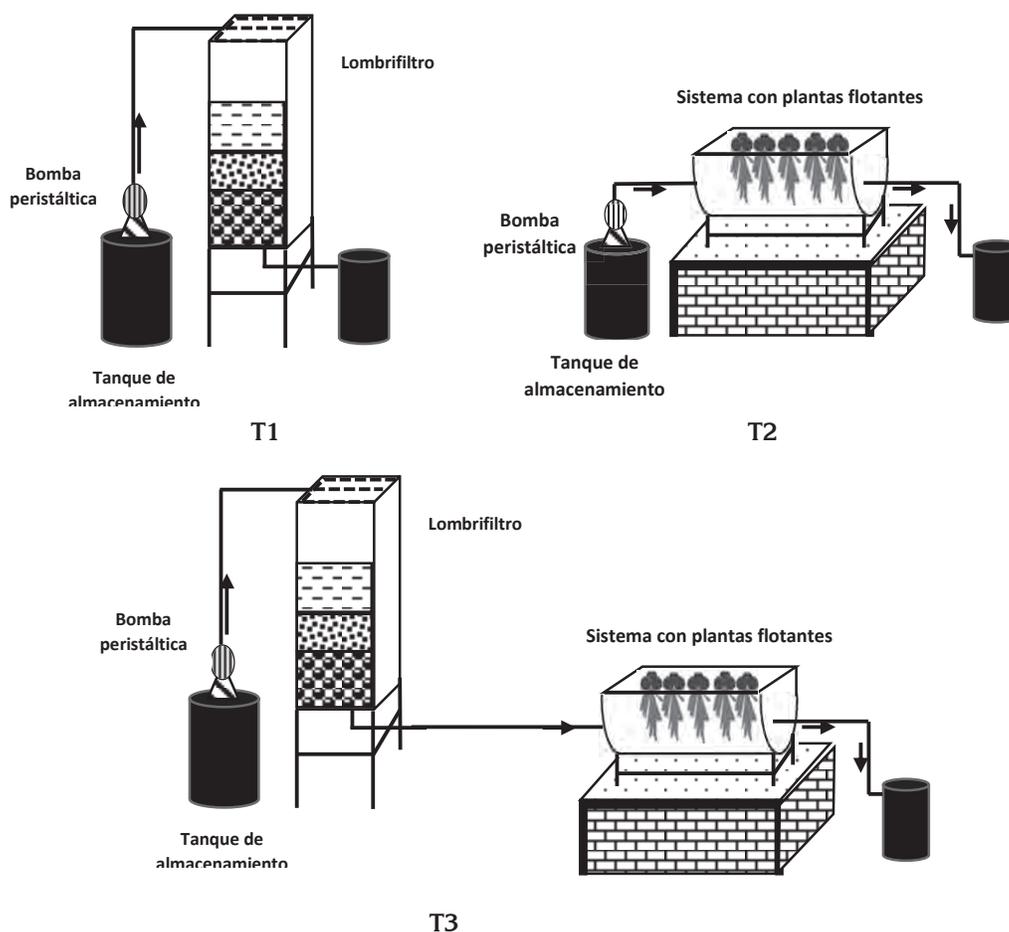


Figura 1. Sistemas de tratamiento. T1) Biofiltro dinámico aerobio de flujo vertical con lecho de *E. foetida*; T2) Sistema con plantas flotantes de flujo horizontal, para tratamiento con *E. crassipes*; T3) sistema en serie para tratamiento combinado.

Los experimentos, se realizaron durante el periodo comprendido entre el 15 de marzo al 30 de abril de 2015, tiempo en el que se analizó el efecto de cada tratamiento, sobre las variables objeto de estudio: materia orgánica, medida como Sólidos Totales (ST), Sólidos Suspendidos Totales (SST), Turbidez, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DQO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO), nutrientes expresados en términos de las concentraciones de Nitrógeno Total y Fosfatos; patógenos, medidos como coliformes totales y *E. coli*; temperatura, Oxígeno Disuelto (OD) y pH. Las variables, se analizaron de acuerdo con los métodos estándar (APHA-AWWA-WPCF, 2005). El comportamiento de las concentraciones determinadas para cada una de las muestras tratadas será analizado, empleando diagramas de cajas y bigotes.

Análisis estadístico: Empleando el programa IBM SPSS Statistics Ver. 22, se realizó un análisis de homogeneidad de las varianzas Test de Levine, una prueba de distribución normal de los residuos Test de Kolmogorov-Smirnov y un

estudio de correlación de Pearson, entre los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, para establecer posibles relaciones entre ellos, considerando un $p < 0,05$. (Un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, a fin de determinar posibles diferencias estadísticas en los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, considerando el tipo de efluente, según el tratamiento aplicado y una prueba de diferencias honestamente significativas de Tukey (Marín *et al.* 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se presentan las concentraciones promedio de materia orgánica (ST, SST, Turbidez, DBO₅ y DQO), nutrientes (NT y PT) y patógenos (coliformes totales y *E. coli*), porcentajes de remoción logrados por cada tratamiento, así como los resultados de las pruebas de homocedasticidad (Levine), normalidad (Kolmogorov - Smirnov), ANOVA y la prueba HDS de tukey.

Tabla 1. Porcentajes de remoción de materia orgánica, de nutrientes y de microorganismos patógenos y análisis estadístico.

Tratamiento	Porcentaje de remoción									
	MATERIA ORGÁNICA					OD	NUTRIENTES		PATÓGENOS	
	ST	SST	Turb.	DBO ₅	DQO		N total	Fosfatos	C. totales	<i>E. coli</i>
	mg/L	mg/L	UNT	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	NMP/100mL	NMP/100mL
T1	52,8	97,5	81,3	70,3	69,2	3,17	73,6	44,6	89,5	85,6
T2	64,2	100	81,8	83,7	63,9	2,21	66,6	20	94,5	94,1
T3	83	100	96	91	64	3,09	79	48	99	99
Concentración inicial	549	384	243	135	228	0,98	42,6	11,6	5,39x10 ⁷	3,57x10 ⁷
Kolmogorov - Smirnov										
K-S	,187	,362	,223	,132	,122	,121	,192	,148	,172	,203
p	,009	,000	,001	,189	,200	,200	,006	,092	,024	,003
Levine										
Levine	87,89		1,140	3,290	,190	2,413	3,418	2,243	7,958	6,017
p	,000	,000	,295	,080	,666	,132	,075	,145	,009	,021
ANOVA										
F	41,58	8,123	1,681	15,808	,154	2,413	1,881	,797	17,210	18,273
p	,000	,008	,205	,000	,698	,003	,181	,380	,000	,000
HDS Tukey										
Subconjunto										
1	T1	92,6	9,5			74,85		11,26	6,43	
	T2				21,95	81,33	2,21		9,29	2971000
	T3		8,3		11,79	82,08	2,46	9,02	5,99	778000
2	T1			39,28						
	T2			42,94						
p	1,000	0,917	0,931	0,284	0,934	0,684	0,599	0,08	0,086	0,22

T1: *E. foetida*; T2: *E. crassipes*; T3: *E. foetida* + *E. crassipes*. Concentraciones iniciales ST, SST, DBO₅, DBQ, N total y Fosfatos en mg/l, Turbiedad en UNT y Coliformes en NMP/100mL.

Las características iniciales del efluente doméstico sin tratamiento corresponden a un agua residual de concentración media, según lo reportado en la literatura (Metcalf & Eddy, 1995). De manera similar, se comportaron los valores de temperatura, de pH y de oxígeno disuelto del agua, en la entrada de los sistemas, reportándose valores promedio de 30,4°C (±3,04°C), pH 7,2 (±2,17 unidades) y 0,98mg O₂/L, respectivamente.

La prueba de Kolmogorov - Smirnov determinó que los valores de DBO₅ (k-s=0,132; p=0,189), DQO (k-s=0,122; p=0,200) y P (k-s=0,121; p=0,200) provienen de una distribución normal (p>0,05). Los valores críticos del estadístico de Levene, para ST (L=87,89; p= 0,000), SST (L=131,947; p= 0,000), coliformes totales (L=7,958; p=0,000), *E. coli* (L=6,017 y p=0,021) son menores que 0,05, con lo cual, se concluye

que, en los tratamientos aplicados, las varianzas de dichas variables no son iguales; para las demás variables analizadas, la diferencia de varianzas muestrales no es significativa.

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) indican que no existen diferencias estadísticas entre los tres tratamientos aplicados para la remoción de Turbiedad (p=0,205), DQO (p=0,698), NT (p=0,181) y PT (p=0,380); para el resto de las variables, se encontró una diferencia con p≤0,01.

El análisis de correlación de Pearson (Tabla 2) indica que existe relación altamente significativa entre la remoción de ST y la disminución de las concentraciones de DBO, coliformes totales y *E. coli*, así como entre los niveles de DQO y la eliminación de fosfatos y nitrógeno total.

Tabla 2. Matriz de correlación de Pearson entre las variables físicas, químicas y microbiológicas analizadas.

	TURB.	DBO	DQO	N TOTAL	FOSFATOS	C. TOTALES	<i>E. coli</i>
ST	,461*	,651**	-0,002	0,261	0,128	,626**	,642**
TURB.		,413*	-0,006	0,3	0,215	0,314	0,275
DBO			0,207	0,276	0,025	,521**	,521**
DQO				,446*	,569**	0,081	-0,027
N TOTAL					,563**	0,208	0,011
FOSFATOS						0,104	-0,108
C. TOTALES							,570**

*. Significativo ($p \leq 0,05$) (bilateral). **.Altamente significativo ($p \leq 0,01$).

Los efluentes tratados con T1 y T3 reportaron el mayor incremento de oxígeno disuelto, equivalente al 210%, mientras que con T2, se alcanzó una concentración final de 2,21mgO₂/L, lo cual, equivale a un incremento del 120%; sin embargo, existe una mayor similitud entre las medias obtenidas en los tratamientos T2 y T3, con un nivel de significancia $p=0,684$ (Tabla 1).

Los SST, se eliminaron en un 97,5%, con T1 y 100%, en T2 y T3, reportándose un comportamiento más homogéneo de los valores medios, obtenidos en T1 ($t=8,300$) y T3 (9,500), para $p=0,917$. En cuanto a los ST, que lograron ser removidos en un 83% por T3, los tratamientos no mostraron similitud entre las concentraciones medias finales obtenidas ($p=1,000$).

T1 y T2 lograron remover la turbidez del efluente residual en un 81%, mientras que T3 alcanzó una reducción promedio de 96%. Con el tratamiento en serie (T3), se alcanzó un valor máximo inferior a 20UNT, para la turbidez y ligeramente superior a 100mg/L, para los sólidos totales. Con T2, el 100% de las concentraciones de turbiedad estuvieron por debajo de 80UNT, mientras que para T1, menos del 25% de los datos, fue inferior a dicho valor. Para los sólidos totales, 100% de las concentraciones finales variaron en un rango de 200 a 300mg/L, en tratamientos con *E. foetida*, mientras que con *E. crassipes*, cerca del 75% de los datos fue inferior a este valor (Figura 2).

La DBO₅ disminuyó en un porcentaje máximo de 91%, al ser tratada en el sistema en serie (T3), seguido por T2, con 83,7%. Más del 75% de las concentraciones finales estuvieron por debajo de 20mg/L en T3, en contraste con T1; más del 75% de las concentraciones finales superaron dicho valor. Con T2, la degradación biológica de la materia orgánica reportó concentraciones por debajo de 40mg/L, en más del 75% de los casos.

En el caso de la DQO, T1, T2 y T3 reportaron concentraciones inferiores a 150mg/L, observándose una mejor agrupación de los datos con *E. crassipes*, lo cual, representa una mayor similitud entre los valores medidos. Para *E. foetida*, el 25% de los valores medidos estuvieron por debajo de 50mg/L, mientras que para los otros tratamientos, más del 50% de los valores se distribuyó en un rango de 50 a 100mg/L. Según Kadlec *et al.* (2000), la disminución en la concentración de DQO se debe, probablemente, al metabolismo de los macro y microorganismos heterótrofos aerobios y anaerobios, que utilizan los compuestos orgánicos del agua para la producción de biomasa y a las reacciones químicas de óxido reducción, a través de las cuales, se da dicho proceso.

Los resultados anteriores son corroborados por la prueba HDS de Tukey, determinando que existen grandes similitudes en la capacidad remoción de Turbiedad ($p=0,931$), entre *E. foetida* y *E. crassipes*; asimismo, se indica que las especies evaluadas, como agentes biorremediadores, tienen una capacidad aproximadamente igual, para disminuir los niveles de DQO, presentes en el efluente residual doméstico, evaluado con un p valor de 0,934 y valores promedio de concentración final de T1= 74,854mg/L, T2= 81,334mg/L y T3= 82,079mg/L.

Las eficiencias de materia orgánica medida, como DQO y DBO₅, son inferiores a las publicados por Montoya *et al.* (2010), empleando humedales con macrófitas, cuyos porcentajes medios fueron de 97,31 y 100%, con *Canna lim-bata*; 94,49 y 99,09%, con *Heliconia psittacorum*; 97,39 y 99,45%, con *Phragmites* sp, para cada parámetro, respectivamente. De la misma manera, la DBO₅ se redujo, en porcentajes similares a los obtenidos por Rodríguez *et al.* (2010), utilizando humedales artificiales con *E. crassipes*, 86% y *Lemna minor*, 58%, mientras que el tratamiento con *E. crassipes*, redujo en un menor porcentaje que *Phragmites australis* (95,7%) y *Typha dominguensis* (90,2%), las concentraciones de DQO, en el efluente residual doméstico (Romero *et al.* 2009).

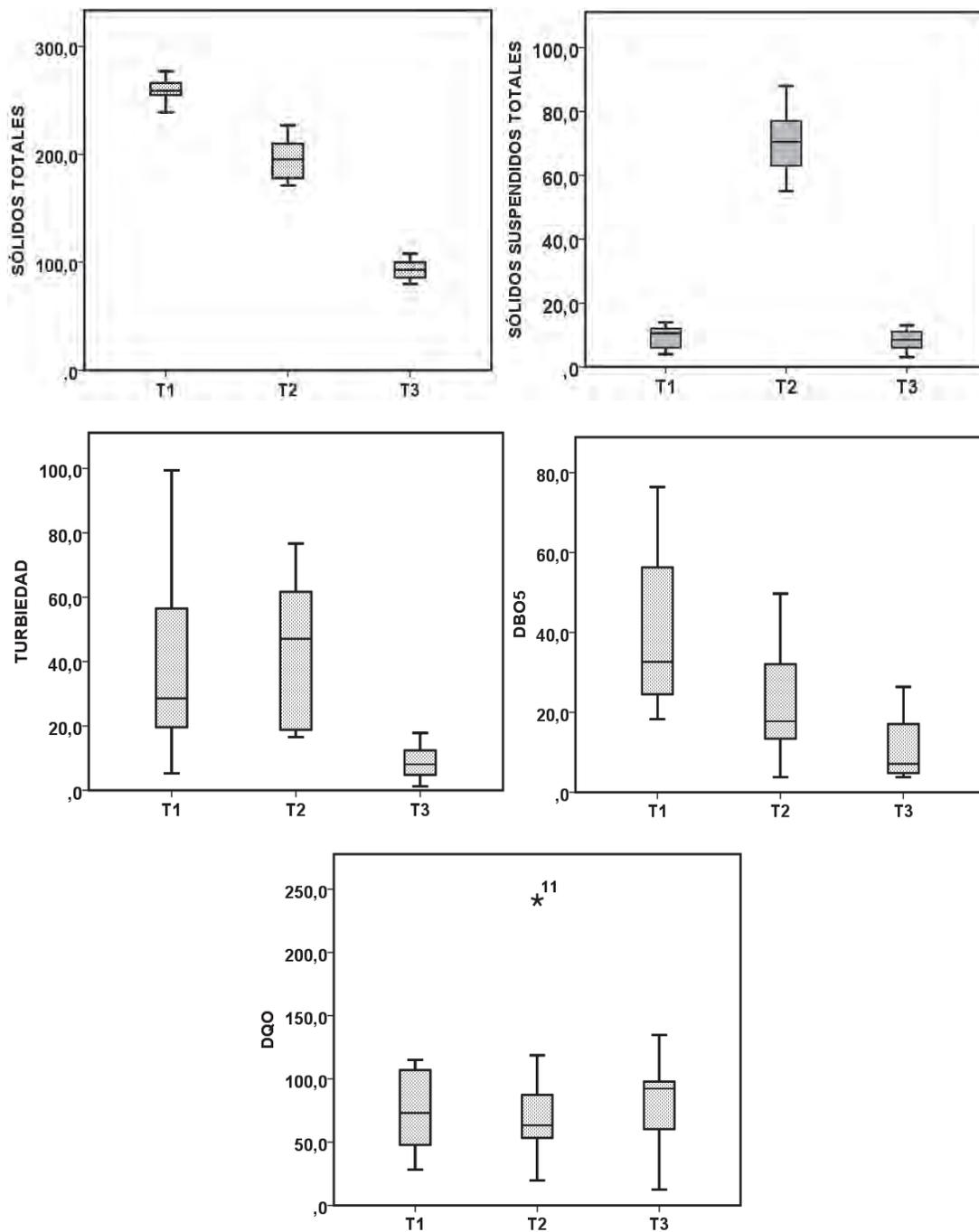


Figura 2. Concentraciones finales de Materia orgánica. Sólidos Totales, Sólidos suspendidos totales, Turbidez, DBO₅ y DQO. T1) *E. foetida*; T2) *E. crassipes*; T3) *E. foetida* + *E. crassipes*.

En cuanto al comportamiento de los tratamientos frente a las concentraciones de nutrientes (Figura 3), T3 y T1 lograron las mejores remociones de nitrógeno total, con 79 y 73,6%, respectivamente, con valores estadísticos de concentración 9,02mg/L y 11,26mg/L, con una significancia $p=0,599$. Con *E. crassipes*, la remoción de NT fue menor, lográndose una

concentración estadística promedio de 21,14mg/L, para $p=1,000$. Esta reducción, se da a través de procesos, como su utilización por los organismos (Cervantes *et al.* 2000) como nutrimentos clave para su crecimiento y síntesis de proteínas, especialmente, en forma de nitrato (Romero *et al.* 2009), amonificación y nitrificación/denitrificación (Vymazal,

2002). En el caso de T1, su eliminación en el efluente se da como consecuencia del consumo como fuente principal de alimento y su transformación en humus, por efecto de la acción enzimática del aparato digestivo de la lombriz (Díaz *et al.* 2008).

Los porcentajes de eliminación de NT logrados en los tres tratamientos aplicados son superiores a los reportados por Gutiérrez & Peña (2011), empleando un humedal artificial de flujo subsuperficial con *Heliconia psittacorum*, 56,7% y menor que lo mencionado por Sawattayothin & Polprasert

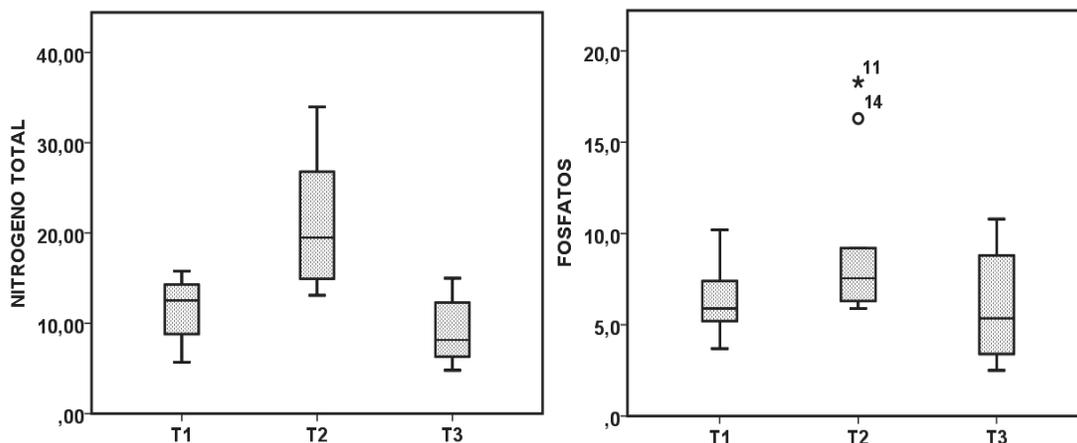


Figura 3. Concentraciones finales de Nutrientes: Nitrógeno total y fosfatos. T1) *E. foetida*; T2) *E. crassipes*; T3) *E. foetida* + *E. crassipes*.

(2007) con *Typha angustifolia*, para el mismo tipo de humedal, 96%. Para el tratamiento combinado, las remociones de DBO₅ y coliformes fecales son iguales a las de dicha planta, en el sistema en mención.

Las concentraciones de fosfatos guardan la relación T3>T1>T2, con una significancia $p=0,080$, para eficiencias de 48, 44,6 y 20%, respectivamente. Los resultados de T2, según lo citado por Brix (1987), se puede atribuir a la ausencia de un lecho de soporte, capaz de retener el fósforo, a través de mecanismos, como la precipitación y la adsorción; así como por un posible incremento en las concentraciones de fósforo inorgánico, como consecuencia de la actividad microbiana anaerobia (Hiley, 1995). Asimismo, estos resultados se pueden asociar al hecho que la eliminación de fósforo –en sistemas con plantas flotantes–, se debe a su consumo en el proceso de fotosíntesis, integrándose a su metabolismo de las macrófitas, bajo diversas formas iónicas, principalmente los fosfatos (Romero *et al.* 2009). Esta remoción es eficiente hasta que el medio se satura, lo cual, genera que los procesos sean limitados y se reduzca su asimilación (Karpiscak & Foster, 2000).

Para T3, se obtuvo una concentración estadística de 5,99mg PO₄³⁻/L, ligeramente menor a la lograda por *E. foetida*, 6,43mg PO₄³⁻/L. Esta diferencia, se puede asociar a un posible efecto sinérgico generado por las plantas y por los microorganismos asociados a sus raíces (Davies & Cottigham,

1993), así como a su consumo como nutriente secundario, por parte de la lombriz roja.

Respecto a la remoción de indicadores de contaminación fecal (Figura 4), los tratamientos mostraron una eficiencia T3>T2>T1, lo cual, se observa claramente en la tabla 1 y se corrobora con los resultados obtenidos en la prueba HDS de Tukey. Igualmente, se determinó una mayor similitud en el comportamiento de los valores medios, obtenidos para la eliminación de *E. coli*, en T3 y T2 ($p=0,220$).

Los resultados superan ligeramente las eficiencias en unidades anaerobias de tanque séptico y filtro anaerobio de flujo ascendente, referenciadas por Madera *et al.* (2005), para concentraciones iniciales de $1,8 \times 10^7$ UFC/100mL, que fluctuaron entre 74 y 96%. Con el tratamiento en serie, *E. foetida* + *E. crassipes*, para coliformes totales y fecales, se alcanzaron valores de remoción del 99%, similares a los logrados por Palacios (2006), empleando una planta de tipo convencional 99,9%.

En el tratamiento con *E. foetida*, la remoción de patógenos se asocia a procesos físicos, como la filtración generada por el lecho o la sedimentación favorecida por la baja velocidad del flujo, así como por ingestión de estos por parte de las lombrices (Parra & Chiang, 2014). En T2, la remoción se asocia a las bacterias adheridas a las raíces de la planta, las cuales, consumen como alimento o eliminan como consecuencia del

efecto causado por algunas toxinas derivadas de su actividad metabólica, así como los protozoos, flagelados y ciliados, que actúan como depredadores (Ottová *et al.* 1997) y al efecto bactericida de las plantas utilizadas (Kuschik *et al.* 2003).

Basado en los resultados obtenidos, se concluye que la *E. foetida* y la *E. crassipes* son especies con gran capacidad para la reducción de la carga orgánica presente en efluentes residuales domésticos.

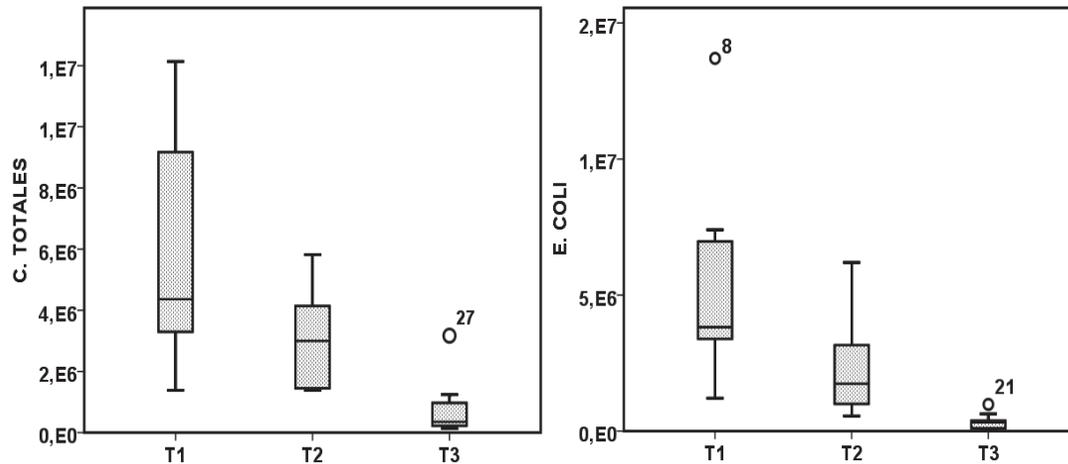


Figura 4. Concentraciones finales de Coliformes totales y *E. coli*. T1) *E. foetida*; T2) *E. crassipes*; T3) *E. foetida* + *E. crassipes*.

Al tratar el agua residual doméstica con un sistema en serie constituido por un biofiltro dinámico aerobio de flujo vertical con lechos de *E. foetida* más un sistema de flujo horizontal con *E. crassipes*, se incrementan las tasas de remoción de materia orgánica, nutrientes y patógenos, obteniéndose un efluente de mejor calidad, que el logrado al tratar el agua con cada especie por separado.

Agradecimientos: Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad de La Guajira Sede Fonseca y a los auxiliares de investigación, José Alfredo Guerra y José Alfredo Gutiérrez, por su apoyo y compromiso en las fases de campo y laboratorio. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Esta investigación fue desarrollada con los recursos financieros proporcionados por los autores y auxiliares de investigación y con recursos técnicos aportados por la Universidad de La Guajira.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA-AWWA-WPCF. 2005. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 21th Ed.
2. BRIX, H. 1987. Treatment of wastewater in the rhizosphere of wetlands plants the root zone method. Water Sci. Technol. (Inglaterra). 19:107-118.
3. CERVANTES, F.; PÉREZ, J.; GÓMEZ, J. 2000. Avances en la Eliminación Biológica del Nitrógeno de las Aguas Residuales Rev. Latinoam. Microbiología (México). 42:73-82.
4. CORREA, S.; GAMARRA, Y.; SALAZAR, A.; PITTA, N. 2015. Evaluación de la remoción de nitrógeno, fósforo y sulfuros en agua residual doméstica, utilizando *Phragmites australis* en Bioreactores. Inf. Tecnol. 26(6): 89-98.
5. CORREA, G.; CUERVO, H.; MEJÍA, R.; AGUIRRE, N. 2012. Monitoreo del sistema de lagunas de estabilización del municipio de Santa Fé de Antioquia, Colombia. Producción + Limpia (Colombia). 7(2):36-51.
6. DAVIES, T.; COTTINGHAM, P. 1993. Phosphorus removal from wastewater in a constructed wetland. En: Knight, L. (ed.) Lewis Publishers, Florida, 720p.
7. DÍAZ, D.; COVA, L.; CASTRO, A.; GARCÍA, D.; PEREA, F. 2008. Dinámica del crecimiento y producción de la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida* Sav.) en cuatro sustratos a base de estiércol bovino. Agr. Andina. (Venezuela). 15:39-55.
8. GUTIÉRREZ, H.; PEÑA, M. 2011. Eliminación de nitrógeno en un humedal construido subsuperficial,

- plantado con *Heliconia piittacorum*. *Tecnol. Cienc. Agua (México)* 2(3):49-60.
9. HILEY, P. 1995. The reality of sewage treatment using wetlands. *Water Sc. Technol.* 32:329-337.
 10. KADLEC, R.; KNIGHT, R.; VYMAZAL, J.; BRIX, H.; COOPER, P.; HABERL, R. 2000. Constructed wetlands for pollution control. Scientific and technical report No: 8. International Water Association (Londres). 156p.
 11. KARPISCAK, W.; FOSTER, A. 2000. Nutrient and heavy metal uptake and storage in constructed wetland systems in Arizona wetland systems for water pollution control. *Water Sci. Technol.* 3:1271-1278.
 12. KUSCHK, P.; WIEßNER, A.; KAPPELMEYER, U.; WEIßBRODT, E.; KÄSTNER, M.; STOTTMEISTER, U. 2003. Annual cycle of nitrogen removal in a pilot-scale subsurface horizontal flow constructed wetland in a moderate climate. *Water Research.* 37:4236-4242.
 13. LUNA, V.; RAMÍREZ, H. 2004. Medios de soporte alternativos para la remoción de fosforo en humedales artificiales. *Rev. Internal. Contam. Amb. (México)*. 20(1):31-38.
 14. MADERA, C.; SILVA, J.; PEÑA, M. 2005. Sistemas combinados para el tratamiento de aguas residuales basados en tanque séptico - filtro anaerobio y humedales subsuperficiales. *Ingen. Competitiv. (Colombia)*. 7(2):5-10.
 15. MARÍN, J.; CHINGA, C.; VELÁSQUEZ, A.; GONZÁLEZ, P.; ZAMBRANO, L. 2015. Tratamiento de aguas residuales de una industria procesadora de pescado en reactores anaeróbicos discontinuos. *Cienc. Ing. Neogranada (Colombia)*. 25(1):27-42.
 16. MARTELO, J.; LARA, J. 2012. Macrófitas flotantes en el tratamiento de aguas residuales: una revisión del estado del arte. *Ingenier. Ciencia, (Colombia)*. 8(15):221-243.
 17. METCALF & EDDY. 1995. *Ingeniería de Aguas Residuales*. 2da Ed. McGraw Hill (España). 1485p.
 18. MONTOYA, J.; CEBALLOS, L.; CASAS, J.; MORATÓ, J. 2010. Estudio comparativo de la remoción de materia orgánica en humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial usando tres especies de macrófitas. *Rev. EIA Escuela de Ingeniería de Antioquia (Colombia)*. 14:75-84.
 19. OTTOVÁ, V.; BALCAROVA, J.; VYMAZAL, J. 1997. Microbial characteristics of constructed wetlands. *Water Sc. Tech.* 35(5):117-123.
 20. PALACIOS, C. 2006. Tratamiento de aguas residuales domésticas en la estación científica Pedro Vicente Maldonado, Antártida- Verano Austral 2003- 2004. *Rev. Tecnológ. ESPOL.* 19(19):185-190.
 21. PARRA, I.; CHIANG, G. 2014. Modelo integrado de un sistema de biodepuración en origen de aguas residuales domiciliarias. Una propuesta para comunidades periurbanas del centro sur de Chile. *Gestión Ambiente (Colombia)*. 16(3):39-51.
 22. PEÑA, E.; MADERA, C.; SÁNCHEZ, J.; MEDINA, J. 2013. Bioprospección de plantas nativas para su uso en procesos de biorremediación: caso *Heliconia psittacorum* (heliconiaceae). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 27(145):469-481.
 23. PEÑA, M.; VAN GINNEKEN, M.; MADERA, C. 2003. Humedales de flujo subsuperficial: una alternativa natural para el tratamiento de aguas residuales domésticas en zonas tropicales. *Ingenier. Competitiv.* 5(1):27-35.
 24. PÉREZ, M.; DOMÍNGUEZ, E.; GONZALEZ, Y.; JIMÉNEZ, T. 2015. Diseño de un humedal subsuperficial vertical para la depuración de las aguas residuales de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. *Afinidad (España)*. 72(569):37-41.
 25. RAMÓN, J.; LEÓN, J.; CASTILLO, N. 2015. Diseño de un sistema alternativo para el tratamiento de aguas residuales urbanas por medio de la técnica de lombrifiltros utilizando la especie *Eisenia foetida*. *Mutis. (Colombia)*. 5(1):46-54.
 26. ROMERO, M.; COLÍN, A.; SÁNCHEZ, E.; ORTIZ, M. 2009. Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. *Rev. Internal Contam. Amb.* 25(3):157-167.
 27. RODRÍGUEZ, J.; GÓMEZ, E.; GARAVITO, L.; LÓEZ, F. 2010. Estudio de comparación del tratamiento de aguas residuales domésticas utilizando lentejas y buchón de agua en humedales artificiales. *Tecnol. Cienc. Agua (México)*. 1(1):59-68.
 28. SALGADO, I.; DURÁN, C.; CRUZ, M.; CARBALLO, M.; MARTÍNEZ, A. 2012. Bacterias rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia

- orgánica de aguas residuales. Rev. Internal Contam. Amb. 28(1):17-26.
29. SAWAITTAYOTHIN, V.; POLPRASERT, C. 2007. Nitrogen mass balance and microbial analysis of constructed wetlands treating municipal landfill leachate. Biores. Tech. 98(3):565-570.
30. SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J.B.; HAMELERS, H.V.M.; LETTINGA, G. 1998. A review: the an- aerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. Biores. Technol. 65(3):175-190.
31. VYMAZAL, J. 2002. The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience. Ecol. Engineer. 18:633-646.
- Recibido: Febrero 14 de 2016
Aceptado: Mayo 18 de 2016

Cómo citar:

Vizcaíno Mendoza, L.; Fuentes Molina, N. 2016. Efectos de *Eisenia foetida* y *Eichhornia crassipes* en la remoción de materia orgánica, nutrientes y coliformes en efluentes domésticos. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 189-198.

IMPLEMENTACIÓN DE ÓSMOSIS DIRECTA Y NANOADITIVOS MAGNÉTICOS PARA DESALINIZACIÓN DE AGUA

IMPLEMENTATION OF FORWARD OSMOSIS AND MAGNETIC NANOADDITIVES FOR WATER DESALINATION

Adriana Herrera¹, Laura Vela², Gustavo Morales³, Ildefonso Castro^{4*}

¹Ingeniera Química, M.Sc., Ph.D. Ingeniería Química. Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Química, Grupo de Investigación Nanomateriales Multifuncionales. Avenida El Consulado, Calle 30 No. 48-152, Cartagena, Colombia, e-mail: aherrerab2@unicartagena.edu.co; ²Ingeniera Química. Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Química. Avenida El Consulado, Calle 30 No. 48-152, Cartagena, Colombia, e-mail: lacryvepa@msn.com; ³Ingeniero Químico. Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Química. Avenida El Consulado, Calle 30 No. 48-152, Cartagena, Colombia, e-mail: gamor07@gmail.com; ⁴Químico Farmacéutico, Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental, M.Sc. Ingeniería Ambiental. Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Maestría en Ingeniería Ambiental. Avenida El Consulado, Calle 30 No. 48-152, Cartagena, Colombia, e-mail: foncas2001@yahoo.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 199-206, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Se evaluó, a escala laboratorio, la desalinización por ósmosis directa de agua de mar sintética. Este sistema utilizó un agente osmótico comercial y un agente osmótico preparado, a partir de azúcar/glucosa anhidra 50/50% p/p y nanopartículas magnéticas, modificadas con carboximetil celulosa (MNP-CMC). De acuerdo a mediciones de dispersión de luz dinámica, las nanopartículas exhibieron un tamaño hidrodinámico de 173 ± 53 nm. Un valor de flux de agua desalinizada de 1,3 LMH fue determinado al adicionar 112,5 mg/mL de MNP-CMC al agente osmótico sintético, produciéndose un aumento del 9,2%, comparado al flux obtenido sin el uso del nanoaditivo. En adición, se evaluó la remoción de las nanopartículas magnéticas, aplicando un campo electromagnético externo. A pesar que se observó una disminución en la concentración de nanopartículas presentes en el efluente, luego de ocho ciclos de separación magnética, se detectó, por espectrofotometría de absorción atómica, una concentración de 227 mg Fe/L en el agua desalinizada, lo cual, supera el valor máximo aceptable de hierro en aguas potables (0,3 mg Fe/L), reflejando así la necesidad de mejorar el proceso de separación magnética, para el empleo de nanoaditivos magnéticos, en procesos de desalinización de agua, por ósmosis directa.

Palabras clave: Magnetita, nanomateriales, celulosa, flux, desalinización.

SUMMARY

At a laboratory scale by means of a direct osmosis process the desalination of a synthetic seawater was evaluated. This system employed a commercial osmotic and a synthetic osmotic agent prepared from sugar/anhydrous glucose 50/50% w/w and magnetic nanoparticles modified with carboxymethyl cellulose (MNP-CMC). According to measurements from dynamic light scattering, nanoparticles exhibited a hydrodynamic size of 173 ± 53 nm. A desalinated water flux of 1,3 LMH was determined by the addition of 112,5 mg/mL of MNP-CMC to the synthetic osmotic agent, showing an increase of 9.2% as compared to the one obtained without the use of the nanoadditives. Additionally, the magnetic decantation of the nanoparticles by applying an external electromagnetic field was evaluated. Although a concentration decrease of nanoparticles in the water effluent after eight cycles of magnetic separation was detected; by atomic absorption spectroscopy a concentration of 227 mg Fe/L in the desalinated water was identified, which is higher than the maximum iron content allowed in drinking water (0.3 mg Fe/L), showing that more work is required in order to improve the process of magnetic separation for the application of magnetic nanoadditives in the desalination of water by direct osmosis systems.

Key words: Magnetite, nanomaterials, cellulose, flux, desalination.

INTRODUCCIÓN

La escasez de agua potable en el mundo es una consecuencia del crecimiento exagerado de la población humana. Este problema, se ha magnificado en las últimas décadas, debido a factores, como la ubicación geográfica de las grandes ciudades y el desarrollo agropecuario e industrial. La falta de este importante recurso ha afectado el bienestar de los seres humanos y el desarrollo de la biota, en general (Gohari *et al.* 2013; García *et al.* 2015).

Dentro de las tecnologías y los procesos que se han desarrollado para mitigar la escasez de agua potable, se encuentran las técnicas de desalinización, que se fundamentan en el aprovechamiento de la gran cantidad de agua salada, que existe en la mayor parte de las regiones del mundo (Zhao *et al.* 2012; Kwan *et al.* 2015). Los métodos de desalinización más empleados actualmente son la ósmosis inversa y la destilación, pero su alta demanda energética ha impulsado la exploración de métodos más económicos y viables, tales como los tratamientos por ósmosis directa (Jamil *et al.* 2015; Nguyen *et al.* 2015).

El método de ósmosis directa aprovecha la diferencia de presión osmótica que existe entre una solución concentrada, conocido como agente osmótico y un sin número de soluciones acuosas, como las aguas residuales (Achilli *et al.* 2010; Holloway *et al.* 2015). Este proceso conlleva el flujo de agua desde la solución menos concentrada (baja presión osmótica) hasta la solución más concentrada (agente osmótico), las cuales, pasan a través de una membrana semipermeable, que rechaza moléculas e iones contaminantes (Jamil *et al.* 2015).

Generalmente, los procesos de desalinización de agua por ósmosis directa involucran dos etapas: la dilución osmótica de la solución concentrada y la obtención de agua dulce a partir del agente osmótico diluido (Achilli *et al.* 2010; Zhao *et al.* 2012). Al final de la primera etapa del proceso no se obtiene agua pura sino una mezcla de agua dulce y agente osmótico; por tal motivo, se hace necesario efectuar un mecanismo de separación para remoción del agente osmótico y obtención de agua, apta para el consumo humano (Valladares Linares *et al.* 2014; Deshmukh *et al.* 2015). Recientemente, se ha investigado la aplicación de nanopartículas magnéticas modificadas con polímeros hidrofílicos, para la desalinización de agua de mar, por ósmosis directa (Ling *et al.* 2010; Qingchun *et al.* 2011); esto se debe, a las propiedades magnéticas de estas nanopartículas, que permite su separación, aplicando un campo magnético externo, una vez concluido el proceso de desalinización.

En el presente trabajo, se evaluó, a escala laboratorio, la desalinización de agua de mar sintética, por el método de

ósmosis directa. Para esto, se sintetizaron nanopartículas de magnetita modificadas con el polímero hidrofílico carboximetil celulosa (MNP-CMC). Estas nanopartículas fueron incorporadas a un agente osmótico, preparado a partir de azúcar/glucosa anhidra al 50/50% p/p. En adición, se estudió la posibilidad de remoción de las nanopartículas, usando una malla metálica, con un campo electromagnético externo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos químicos empleados para la síntesis y la modificación de las nanopartículas magnéticas fueron adquiridos como reactivos químicos de alta pureza, entre el 97 y 99%; entre estos, cloruro de hierro II, cloruro de hierro III, 3-aminopropil trietoxisilano (APS), sodio carboximetil celulosa (CMC) 90×10^3 g/mol, sulfoxido de dimetilo (DMSO), hidróxido de amonio 29 %v/v, 1-etil-3-(3-dimetil aminopropil) carbodimida (EDC) y N-hidroxisucinimida (NHS). Para el sistema de ósmosis directa, se empleó una membrana comercial de triacetato celulosa, adquirida en la empresa Hydration Technology Innovation.

Las nanopartículas de magnetita se sintetizaron, utilizando el método de coprecipitación, a partir de una solución de cloruro férrico 0,36M y cloruro ferroso 0,18M, con adición de hidróxido de amonio, a 80°C y pH 8,0 (Herrera *et al.* 2008). Una vez sintetizadas las nanopartículas, se suspendieron en DMSO, al 1,5%v/v, agregando 5mL del reactivo APS, 1,0mL de agua desionizada y 0,1mL de ácido acético. Esta mezcla reactiva, se llevó a un shaker, a temperatura ambiente, durante 72 horas.

Para lograr la modificación con CMC, se suspendieron 0,1g de las nanopartículas cubiertas con el APS, en 10mL de agua desionizada, utilizando un baño ultrasónico, por 15min. A esta suspensión, se le ajustó el pH en un valor de 4,0 y se refrigeró a 4°C. Posteriormente, se preparó una solución, disolviendo 0,1g de CMC, en 7,5mL de agua desionizada, se ajustó su pH en un valor de 4,8 y se agregaron 12,5mg de EDC y 7,5mg de NHS. Esta solución fue mezclada con la suspensión acuosa de nanopartículas preparadas a 4°C, llevándose a un shaker, a temperatura ambiente, por dos días. Finalmente, las nanopartículas magnéticas modificadas con el CMC fueron lavadas con etanol, usando una centrifuga a 5000rpm, por 15min, se secaron a temperatura ambiente y se trituraron en un mortero, de acuerdo a la metodología descrita por Herrera *et al.* (2008).

Se usó un microscopio de barrido electrónico o SEM en alto vacío, marca JEOL JSM 6490 LV, para analizar la morfología y el tamaño de las nanopartículas magnéticas, modificadas con el CMC. En adición, se determinó la composición elemental de estas nanopartículas, usando la técnica de espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X o EDX, aco-

plado al microscopio SEM. El tamaño hidrodinámico de las nanopartículas MNp-CMC fue determinado, usando un equipo de dispersión de luz dinámica DLS HORIBA LB-550. La ecuación 1, se usó para calcular el tamaño hidrodinámico promedio y desviación estándar de estas nanopartículas.

$$D_h = \frac{\sum DG_d}{\sum G_d}, \sigma = \left(\frac{\sum [G_d(D_h - D)^2]}{\sum G_d} \right)^{0.5} \quad (1)$$

Donde, D es el tamaño de la partícula, obtenido con la función de distribución de tamaño multimodal del equipo; G_d es la intensidad relativa y s es la desviación estándar de los datos (Herrera *et al.* 2008).

Se construyó una celda de ósmosis directa, compuesta por dos piezas rectangulares, con una cavidad en su interior, como se observa en la figura 1. Para el diseño de este sistema, se usaron placas de acrílico de 9cm de alto, 14cm de ancho y 10mm de espesor, de acuerdo a la metodología descrita por Ling *et al.* (2010). Se fijó un marco de caucho en el borde interior de cada una de las piezas de acrílico, para evitar fugas de agua, durante el proceso de desalinización. Una membrana semipermeable de triacetato de celulosa se ubicó entre ambas cámaras, procediendo a cerrar el sistema a presión, utilizando tornillos milimétricos. En adición, se acopló una bomba peristáltica Cole Palmer Masterflex de doble canal, con el propósito de facilitar la circulación del agente osmótico, a través de la celda, utilizando mangueras de silicona, con un diámetro interno de 2,38mm.

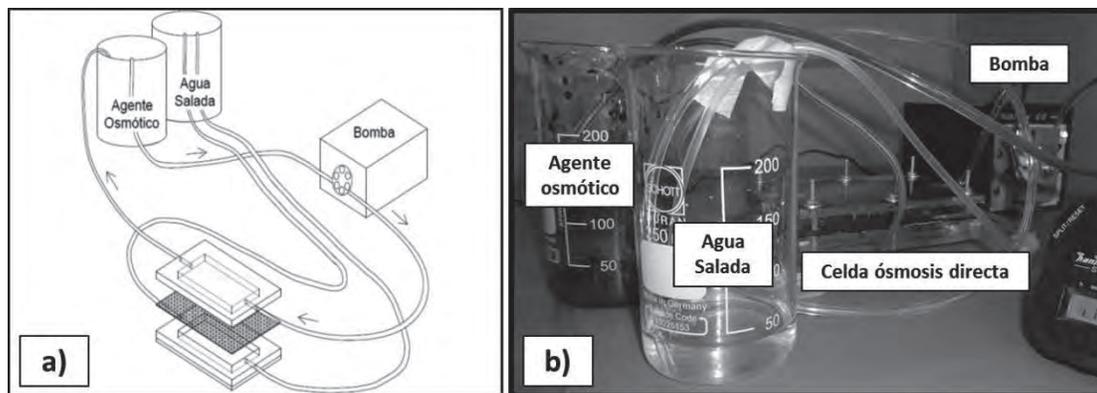


Figura 1. Sistema de ósmosis directa a escala laboratorio, empleado en la desalinización de agua. (a) Esquema del equipo y (b) set experimental.

El sistema, se probó utilizando un agente osmótico comercial (AOC), compuesto por dextrosa/fructosa y un agente osmótico sintético (AOS), preparado en el laboratorio, con una relación de azúcar/glucosa anhidra, preparada al 50/50%p/p. En ambos casos, se prepararon soluciones acuosas de los agentes osmóticos electrolíticos, con una concentración de 493,75mg/mL. La solución salina de alimentación, en este caso agua de mar sintética, se preparó al 3,65%p/v, utilizando cloruro de sodio y agua destilada. Esta solución salina, se bombeó a la cavidad inferior de la celda de ósmosis directa hasta llenarla completamente; luego, se circuló la solución del agente osmótico por la parte superior, registrando el tiempo, a partir del momento en que ingresó esta solución a la celda. El proceso de ósmosis directa, se llevó a cabo durante cinco horas. Posteriormente, ambos lados de la celda se drenaron completamente y se lavaron con agua destilada, antes de realizar la siguiente prueba.

Con el propósito de evaluar el efecto de las nanopartículas magnéticas, como aditivo de un agente osmótico, se prepa-

raron soluciones del AOS, con la adición de 112,5mg/mL y 56,25mg/mL de las nanopartículas, con las que se realizaron las pruebas de desalinización, ya descritas anteriormente. La tabla 1 ilustra el set de combinaciones que se usaron, como soluciones de arrastre, para el proceso de desalinización de agua, usando el sistema de ósmosis directa a escala laboratorio.

El flux de agua LMH y el porcentaje de rechazo de sal, se determinaron usando las ecuaciones 2 y 3 (Ling *et al.* 2010; Ling & Chung, 2011; Zhao *et al.* 2012).

$$J_w = \frac{\Delta W}{\rho \Delta t A} \quad (2)$$

$$R = \left(1 - \frac{S_p}{S_f} \right) \times 100\% \quad (3)$$

Tabla 1. Set de combinaciones de soluciones de arrastre, usados para la desalinización de agua.

Solución de arrastre	Concentración en mg/mL	
	Electrolitos	MNp-CMC
AOC	493,75	0
AOS	493,75	0
AOS+MNp-CMC (A)	493,75	112,5
AOS+MNp-CMC (B)	493,75	56,25

Donde, J_w es el flux de agua en LMH; ΔW es el cambio de peso de la solución de arrastre en gramos; Δt es el diferencial de tiempo en horas; ρ es la densidad del agua en g/L; A es el área de la membrana en m^2 ; R es el porcentaje de sales rechazadas; S_p es la salinidad del permeado en g/L y S_f es la salinidad de la alimentación en g/L. Las mediciones de salinidad se realizaron usando un analizador electroquímico Consort C-931.

Se construyó un dispositivo para remover las nanopartículas magnéticas del agua tratada, usando un campo electromagnético externo. Para ello, se empleó una jeringa plástica, alrededor de la cual, se enrollaron 600 vueltas de alambre de cobre calibre 22, suministrando una corriente alterna de 12 V, por medio de un adaptador. Aplicando la ley de Ampère, se pudo estimar, para este solenoide, un campo magnético de 4,2mT (Callister, 2003). Al interior de la jeringa, se instaló una malla metálica, usando una esponjilla de acero. Esta malla ayuda a dispersar las líneas del campo magnético, logrando la retención de las nanopartículas magnéticas, que fluyen a través de ella.

La eficiencia de la separación magnética, se evaluó recirculando en ciclos continuos la solución de nanopartículas magnéticas. Para esto, se tomaron muestras de 100 μ L del

efluente proveniente de cada ciclo y se diluyeron con 10mL de agua destilada. La concentración de nanopartículas magnéticas presentes en estas diluciones, se determinaron usando un espectrofotómetro (UV-Vis marca Labomed, Inc. UV 2650, siguiendo la absorbancia del hierro, a una longitud de onda de 307nm. La recirculación, se mantuvo hasta obtener un mínimo de nanopartículas magnéticas en el efluente. Para realizar estos análisis, se preparó primero una curva de calibración, partiendo de una concentración conocida de nanopartículas MNp-CMC de 20mM, la cual, se diluyó sucesivamente con agua destilada y se determinó su absorbancia, a una longitud de onda de 307nm. A partir de estas mediciones, se determinó que la ecuación que mejor describe este sistema es $y = 0,68x + 0,20$, con un ajuste lineal $R^2 = 0,94$, donde, y representa la absorbancia de la muestra y x la concentración de las nanopartículas MNp-CMC con unidad mM.

Para probar el dispositivo de retención magnética, se tomaron 50mL del efluente obtenido del proceso de ósmosis directa, que contiene las nanopartículas magnéticas, modificadas con el polímero hidrofílico CMC. Esta muestra, se llevó a un embudo de separación y se hizo gotear a través del dispositivo, para retención magnética. El flujo de salida del dispositivo magnético, se ajustó a 7mL/min, usando un estrangulador de catéter.

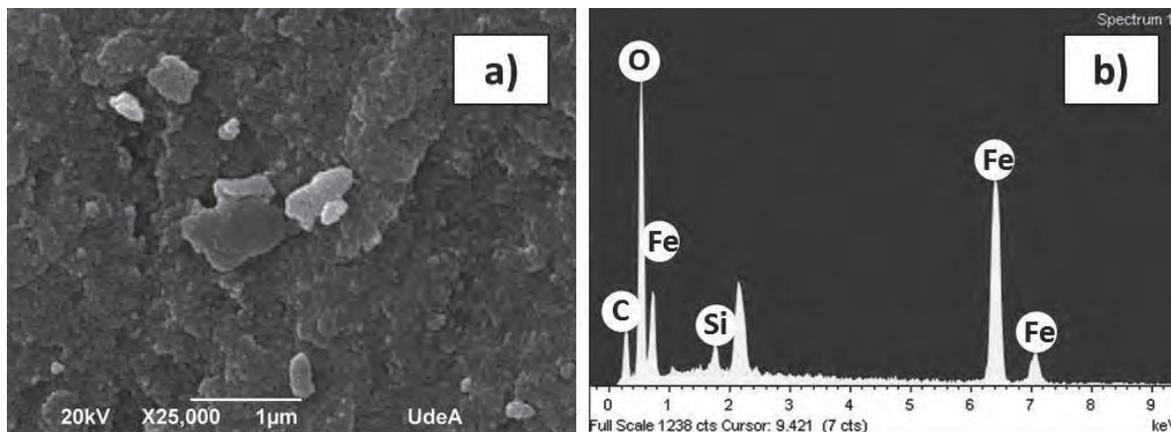


Figura 2. Resultados obtenidos con el microscopio de barrido electrónico. (a) Imagen de las nanopartículas sintetizadas MNp-CMC y (b) análisis de espectroscopía EDX.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 2 muestra las imágenes obtenidas con el microscopio de barrido electrónico SEM (Figura 2a) y espectroscopía EDX (Figura 2b). En la figura 2a, se puede observar que las partículas magnéticas modificadas con el polímero hidrofílico de carboximetil celulosa (MNP-CMC) lucen como cristales aglomerados con morfología irregular y con una amplia distribución de tamaños. Esto se puede atribuir al método de coprecipitación, empleado para sintetizar las nanopartículas de magnetita, que se caracteriza por no proveer un control en la distribución de tamaño y de forma de las mismas (Herrera *et al.* 2008).

De acuerdo al análisis de espectroscopía EDX, mostrado en la figura 2b, las nanopartículas MNP-CMC contienen átomos de hierro, de carbono, de oxígeno y de silicio. A partir de este análisis, se determinó una composición de 43,9% en peso, para el hierro presente en la magnetita; 15,4% de carbono, presente en la molécula de CMC; 39,4% de oxígeno, presente en la molécula de CMC; y 1,3% de silicio, presente en la molécula de 3-aminopropil trietoxisilano (APS), confirmando la presencia de estas moléculas orgánicas, en la superficie de las nanopartículas magnéticas.

Adicionalmente, se suspendió una muestra de las nanopartículas MNP-CMC en agua destilada (1mg/10mL), para determinar, a través de mediciones con el DLS, el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas. La tabla 2 presenta el histograma obtenido con la función de distribución de tamaño multimodal del equipo. Usando la ecuación 1, se pudo calcular, para las nanopartículas MNP-CMC, un tamaño hidrodinámico promedio de 173 ± 53 nm, a temperatura ambiente. Este valor, se puede relacionar con la extensión de las moléculas de CMC al medio acuoso. La naturaleza de este biopolímero es altamente hidrofílica y posee un peso molecular de 90×10^3 g/mol, con un número aproximado de 388 grupos carboxílicos por cadena, lo que facilita la formación de puentes de hidrógeno con la molécula de agua (Bono *et al.* 2009).

La tabla 2 presenta un registro de los resultados obtenidos al probar el equipo de ósmosis directa con los agentes osmóticos y los nanoaditivos MNP-CMC, los cuales, fueron usados para calcular el flux de agua y rechazo de sales, utilizando las ecuaciones 2 y 3. En estos experimentos, se observó que el AOS resultó ser más efectivo que el AOC, obteniéndose un incremento en el flux de agua, de aproximadamente 30%, que se puede atribuir a que el AOS se preparó fresco en el laboratorio, usando como electrolitos, una relación de azúcar y glucosa anhidrica, en 50/50 %p/p, mientras que al AOC, compuesto principalmente por dextrosa/fructosa, se le observó un contenido de humedad al momento de retirarlo del empaque e implementarlo en el sistema, lo que

pudo resultar en un menor aporte de presión osmótica a la solución y, por ende, menor arrastre de agua, a través de la membrana.

Tabla 2. Tamaño hidrodinámico de las nanopartículas MNP-CMC, suspendidas en agua destilada.

D (nm)	Intensidad relativa (G _d)
58,1	0,5
66,6	0,8
76,2	1,5
87,3	2,6
100,0	4,4
114,5	7,2
131,2	10,9
150,3	15,0
172,1	17,6
197,1	16,9
225,8	12,4
258,6	6,7
296,2	2,5
339,3	0,6

Cuando se utilizó la mayor concentración de nanoaditivos en el agente osmótico sintético, se obtuvieron los valores más altos de flux de agua, observándose un incremento del 9,2%, comparado al flux de agua conseguido con el AOS sin nanoaditivos. Este resultado indica que la presencia de las nanopartículas en la solución de arrastre logró incrementar la presión osmótica del sistema, teniendo mayor número de partículas osmóticamente activas, que arrastran más cantidad de agua, a través de la membrana.

Ling *et al.* (2010) evaluaron el uso de nanopartículas magnéticas cubiertas con polímeros hidrofílicos, como soluciones de arrastre, en procesos de ósmosis directa, usando una membrana comercial de triacetato de celulosa. A partir de estos resultados, encontraron valores de flux de agua de 10,4 a 7,7 LMH, usando nanopartículas de magnetita sintetizadas por el método de descomposición termal, con tamaño partícula, aproximadamente, de 4,0nm y modificadas con ácido poliacrílico.

En otros trabajos, Qingchun *et al.* (2011) estudiaron el uso de nanopartículas magnéticas sintetizadas por el método de descomposición termal y cubiertas por polietilenglicol diácido, para procesos de ósmosis directa, encontrado también valores de flux de agua de 10 LMH.

Es importante resaltar que los trabajos reportados por Ling *et al.* (2010) y Qingchun *et al.* (2011) sintetizaron las nanopartículas magnéticas por el método de descomposición termal, que permite tener nanopartículas monodispersas y con buen control de tamaño, pero con elevados costos de reactivos y materiales (Herrera *et al.* 2013). A pesar que en el presente estudio se obtuvieron valores más bajos de flux de agua, son relevantes, toda vez que las nanopartículas fueron obtenidas por un método sencillo y económico, como la co-precipitación y fueron implementadas como nanoaditivos, con concentraciones máximas de 112,5mg/L, lo que puede sugerir que un aumento en la concentración de estos nanomateriales puede incrementar el flux de agua, en el proceso de ósmosis directa.

En cuanto al porcentaje de rechazo de sales registrado en la tabla 3, se pudo observar que los mismos fueron todos mayores al 99%, para cada una de las soluciones de arrastre evaluadas en el sistema de ósmosis directa, lo cual, indica una buena selección de la membrana semipermeable de triacetato de celulosa, para la desalinización de agua. Entre las ventajas que se han documentado para el uso de membranas basadas en acetato de celulosa, se destaca su alta hidrofiliidad, buenas propiedades mecánicas, bajo factor de ensuciamiento o fouling y alta resistencia a degradación frente a compuestos clorados, convirtiéndose así en un material versátil, para procesos de ósmosis directa (Zhao *et al.* 2012).

Tabla 3. Valores calculados para el flux de agua y rechazo de sales, usando el sistema de ósmosis directa.

Solución de arrastre	Peso final solución salina de alimentación (g)	Salinidad final de la solución de arrastre (g/L)	Flux de agua (LMH)	Rechazo de sales (%)
AOC	61,8	0,1	0,83	99,75
AOS	52,8	0,2	1,18	99,51
AOS+MNp-CMC (A)	50,1	0,3	1,30	99,26
AOS+MNp-CMC (B)	52,1	0,3	1,21	99,26

Los resultados de la separación magnética, se presentan en la tabla 4, donde se observó una disminución en la concentración de nanopartículas presentes en el efluente, después de seis ciclos de separación magnética, demostrando así la capacidad de remoción de las nanopartículas, usando un campo electromagnético externo. El valor negativo de concentración reportado en la tabla 4, luego de ocho ciclos de separación magnética, se puede atribuir a limitaciones derivadas de la curva de calibración obtenida con el UV-Vis, donde no se consideró hacer lecturas de absorbancia para un rango de concentración de nanopartículas entre 0 y 0,1mM, dificultando así la lectura de estas muestras con el espectrofotómetro para concentraciones de MNp-CMC, por debajo de 0,2mM.

Con el propósito de determinar el contenido de hierro en partes por millón remanente en el efluente, luego de ocho ciclos de separación magnética, se llevó una muestra al equipo de absorción atómica Varian, Modelo FS220, a partir del cual, se detectó la presencia de un contenido de hierro de 227,5mg/L. Esta alta concentración de hierro supera el valor máximo aceptable de hierro de 0,3mg/L, establecido en la Resolución 2115 de 2007 del gobierno colombiano, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial 2007, para aguas potables. Esto indica, que se debe mejorar el proceso de separación magnética, aplicando campos

electromagnéticos de más alta potencia, que ayuden a eliminar, de manera más efectiva, las nanopartículas magnéticas, disminuyendo así el contenido de hierro, en el efluente de agua desalinizada.

Tabla 4. Separación magnética de las nanopartículas MNp-CMC.

Ciclo	Concentración MNp-CMC [mM]
2	0,723
4	0,38
6	0,206
8	-0,111

De la presente investigación, se concluye que las soluciones de arrastre juegan un importante papel en el proceso de ósmosis directa, facilitando el transporte de las moléculas de agua, a través de una membrana semipermeable, sin la utilización de un gradiente de presión, que genere gastos energéticos al sistema. Se espera que estos agentes osmóticos sean solubles en agua, económicos y que se preparen a partir de materiales no tóxicos. Entre estos, se destacan las nanopartículas magnéticas modificadas con polímeros

hidrofílicos, que tienen la ventaja de poder ser recuperadas, implementando un campo magnético externo.

A pesar de que se observó un incremento en el flux de agua con la adición de las nanopartículas a una solución de electrolitos, se encontró una alta concentración de hierro en el efluente de agua desalinizada, luego de ocho ciclos continuos de separación magnética. Esto lleva a pensar que, a pesar de que esta tecnología se presenta como una alternativa viable para la desalinización de agua de mar, todavía hace falta mejorar los dispositivos de recuperación magnética, para asegurar que el agua tratada cumpla con los criterios de calidad y de seguridad, para consumo humano.

Agradecimientos: Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad de Cartagena y a la Facultad de Ingeniería, por el uso del Laboratorio de Ciencia de los Materiales del programa de Ingeniería Química, para la preparación de los nanomateriales, la puesta en marcha del sistema de ósmosis directa y la caracterización de efluentes por UV-Vis. En adición, se agradece a la Corporación Autónoma Regional del Canal del Dique CARDIQUE, por su apoyo en la caracterización de muestras de agua y beca, para realización de la Maestría en Ingeniería Ambiental del Q.F. Ildelfonso Castro. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses, que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- ACHILLI, A.; CATH, T.Y.; CHILDRESS, A. E. 2010. Selection of inorganic-based draw solutions for forward osmosis applications. *J. Membr. Sci. (Netherlands)*. 364:233-241.
- BONO, A.; YING, P.; YAN, F.; MUEI, C.; SARBATLY, R.; KRISHNAIAH, D. 2009. Synthesis and characterization of carboxymethyl cellulose from palm kernel cake. *Adv. Nat. Appl. Sci. (USA)*. 3:5-11.
- CALLISTER, W. 2003. *Materials Science and Engineering. An Introduction. Third Edición. New York, USA. Editorial Jhon Wiley & Sons. p.675-677.*
- DESHMUKH, A.; YIN YIPA, N.; LINA, S.; ELIMELECHA, M. 2015. Desalination by forward osmosis: Identifying performance limiting parameters through module-scale modeling. *J. Membr. Sci. (USA)*. 491:159-167.
- GARCÍA, X.; PARGAMENT, D. 2015. Reusing wastewater to cope with water scarcity: Economic, social and environmental considerations for decision-making. *Resources, Conserv. Recyc. (Israel)*. 101:154-166.
- GOHARI, A.; ESLAMIANA, S.; MIRCHIB, A.; ABEDI-KOUPAEIA, J.; BAVANIC, A.; MADANID, K. 2013. Water transfer as a solution to water shortage: A fix that can backfire. *J. Hydrol. (Iran)*. 491:23-39.
- HERRERA, A.; BARRERA, C.; RINALDI, C. 2008. Synthesis and functionalization of magnetite nanoparticles with aminopropylsilane and carboxymethyl Dextran. *J. Mater. Chem. (UK)*. 18:3650-3654.
- HERRERA, A.; POLO-CORRALES, L.; CHAVEZ, E.; CABARCAS, J.; UWAKWEH, O.; RINALDI, C. 2013. Influence of aging time of oleate precursor on the magnetic relaxation of cobalt ferrite nanoparticles synthesized by the thermal decomposition method. *J. Magnetism Magnetic Mater. (Netherlands)*. 328:41-52.
- HOLLOWAY, R.W.; MALTOS, R.; VANNESTE, J.; CATH, T.Y. 2015. Mixed draw solutions for improved forward osmosis performance. *J. Membr. Sci.* 491:121-131.
- JAMIL, S.; LOGANATHAN, P.; KAZNER, C.; VIGNESWARAN, S. 2015. Forward osmosis treatment for volume minimisation of reverse osmosis concentrate from a water reclamation plant and removal of organic micropollutants. *Desalination (Australia)*. 372:32-38.
- KWAN, S.; BAR-ZEEV, E.; ELIMELECH, M. 2015. Biofouling in forward osmosis and reverse osmosis: Measurements and mechanisms. *J. Membr. Sci. (USA)*. 493:703-708.
- LING, M.; CHUNG, T. 2011. Desalination process using super hydrophilic nanoparticles via forward osmosis integrated with ultrafiltration regeneration. *Desalination (Australia)*. 278:194-202.
- LING, M.; WANG, K.; CHUNG, T.B. 2010. Highly water-soluble magnetic nanoparticles as novel draw solutes in forward osmosis for water reuse. *Industr. Engineer. Chem. Res. (USA)*. 49:5869-5876.
- NGUYEN, H.; NGUYEN, N.; CHEN, S.; NGO, H.; GUO, W.; LI, C. 2015. A new class of draw solutions for minimizing reverse salt flux to improve forward osmosis desalination. *Sci. Total. Environ. (Taiwan)*. 538:129-136.

15. QINGCHUN, G.; JINCAI, S.; TAI-SHUNG, C.; GARY, A. 2011. Hydrophilic superparamagnetic nanoparticles: Synthesis, characterization, and performance in forward osmosis processes. *Industr. Engineer. Chem. Res. (Singapore)*. 50:382-388.
16. VALLADARES LINARES, R.; LI, Z.; SARP, S.; BUCS, S.S.; AMY, G.; VROUWENVELDER, J.S. 2014. Forward osmosis niches in seawater desalination and wastewater reuse. *Water Res. (Netherlands)*. 66:122-139.
17. ZHAO, S.; ZOU, L.; TANG, C.; MULCAHY, D. 2012. Recent developments in forward osmosis: Opportunities and challenges. *Review. J. Membr. Sci (USA)*. 396:1-21.

Recibido: Julio 3 de 2015

Aceptado: Mayo 18 de 2016

Cómo citar:

Herrera, A.; Vela, L.; Morales, G.; Castro, I. 2016. Implementación de ósmosis directa y nanoaditivos magnéticos para desalinización de agua. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 199-206.

ENFOQUE SISTÉMICO APLICADO AL MANEJO DE PARQUES METROPOLITANOS, UNA POSICIÓN DESDE BOGOTÁ D.C. - COLOMBIA

SYSTEMIC APPROACH APPLIED TO THE MANAGEMENT OF PARKS METROPOLITAN, A POSITION FROM BOGOTA, COLOMBIA

Adriana Posada Arrubla¹, Ángela Daniela Paredes Buitrago², Geovanny Esteban Ortiz Romero²

¹Economista Agrícola, Esp. Gestión Social y Ambiental, M.Sc. Planeación Urbana y Regional, Docente-Investigadora, Facultad Ingenierías. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, calle 222 No. 55-37, Bogotá D.C., e-mail: aposada@udca.edu.co; ²Auxiliares de investigación U.D.C.A, Ingenieros Geógrafos y Ambientales. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, calle 222 No. 55-37, Bogotá D.C., e-mail: andapabu14@hotmail.com; geor0306@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 207-217, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

Los grandes parques urbanos son un distintivo fundamental del espacio público natural y construido de una ciudad; además, hacen parte de la estructura ecológica principal, que define un ambiente urbano. Aun así, su manejo ambiental no es integrado es reduccionista y enfocado al mantenimiento de las áreas recreacionales, aislándolo de otras dinámicas ambientales, que permiten su funcionamiento. Se presenta aquí, una alternativa de análisis, con base en el enfoque sistémico, que permite el planteamiento de un modelo de manejo ambiental, en este caso, para el parque metropolitano Simón Bolívar, de la capital colombiana, propuesta que implica la asociación de variables funcionales, con el fin de optimizar y de potenciar su buen uso y aprovechamiento, al considerarlo como unidad interrelacionada con sistemas de mayor jerarquía y complejidad y, a la vez, su funcionamiento depende de subsistemas, que condicionan su comportamiento interno.

Palabras clave: Parque Metropolitano Simón Bolívar, Teoría de Sistemas, Manejo Ambiental, Ambiente Urbano.

SUMMARY

Large urban parks are a banner of the built and natural public space in a city, moreover, they are part of the main ecological structure that defines an urban environment. Even so, their environmental management is not integrated, it is reductionist and focused on the maintenance of the recreational areas, isolating it from other socio-environmental dynamics that allow its operation. Presented here, is an alternative of analysis based on the systemic approach, which allows the approach

of a model of environmental management, in this case, for the Metropolitan Park Simón Bolívar in the Colombian capital. Proposal involving the association of socio-environmental variables in order to optimize and enhance their good use and exploitation, to consider it as a unit connected with higher hierarchy and complexity, systems and at the same time, its performance depends on subsystems affecting their internal behavior.

Key words: Simon Bolivar Metropolitan Park, Systems Theory, Environmental Management, Urban Environment.

INTRODUCCIÓN

La expansión de las ciudades, por el incontrolable crecimiento poblacional, trae consigo el crecimiento sectorizado de la economía, avances de infraestructura y, al mismo tiempo, una paulatina reducción de las áreas naturales, lo cual, pone en juego su sostenibilidad ambiental. Para Fernández (2002), una ciudad es un ambiente urbano, porque es la relación sociedad/naturaleza, luego de la transformación de espacios naturales, que genera un problema ambiental, por exceso de carga de demandas de consumo social, sobre el soporte territorial. Es el caso de Bogotá, donde se requiere la aplicación de medidas que equilibren cargas, que permitan la conectividad de los cuerpos naturales y, de esta manera, aporten en el mejoramiento de la calidad ambiental de la capital colombiana. Según Gómez (2005), la calidad ambiental incide en la calidad de vida urbana que, de acuerdo con Maldonado (1999), son condiciones óptimas que conjugan y determinan sensaciones de confort en lo biológico y psicosocial, vinculadas a un determinado grado de satisfacción de servicios y de percepción del espacio habitable, como sano,

seguro y grato; sin embargo, en Colombia, la política de gestión ambiental urbana (MAVDT, 2008) destaca las dificultades respecto a la calidad del hábitat de las áreas urbanas en el país, derivado de la reducción, invasión, deterioro o pérdida de los componentes del espacio público. A pesar de ello, el espacio público es estructurante de la ciudad y, al mismo tiempo, regulador de sus condiciones ambientales (AMB, 1998), puesto que, al ser un bien colectivo, en él confluyen la mayoría de las dinámicas sociales desarrolladas por la ciudadanía, por lo cual, es pertinente destacar la utilidad de las áreas que optimizan el hábitat urbano. Es el caso de los parques urbanos que, debido a su multifuncionalidad, de conservación natural, recreativa, cultural, educativa, esparcimiento y paisajística (García, 1989), se convierten en escenarios fundamentales para los ciudadanos y, en síntesis, son áreas públicas, que rompen el esquema urbanizador, cumpliendo un rol socio- ecológico (García & Guerrero, 2006).

En Bogotá, los parques urbanos, de escala metropolitana y zonal, son administrados por el Instituto Distrital de Recreación y Deporte (en adelante, I.D.R.D.), que promueve su buen uso, orientado principalmente en la recreación, el aprovechamiento del tiempo libre y la actividad física; no obstante, la gestión articulada se queda corta, pues la integralidad de variables es mínima. Para enfatizar en esta dificultad, la unidad de estudio del presente trabajo es el “Parque Metro-

politano Simón Bolívar” (en adelante, P.M.S.B), que además de ser considerado el pulmón en medio de la urbanización capitalina, es un espacio con oferta multifuncional para los habitantes de todas las localidades de la ciudad, debido a su importancia. Este parque urbano es un estandarte del espacio público y hace parte de la Estructura Ecológica Principal del Distrito, que definen el ambiente urbano (engranaje de factores sociales y entorno natural) de la capital colombiana. Aun así, este parque no cuenta con un manejo ambiental integrado, por lo que se opta por un manejo reduccionista y enfocado únicamente en el mantenimiento de las áreas naturales, aislándolo de las dinámicas sociales, que permiten el funcionamiento del parque.

Para Cardona (1996), el débil manejo de carácter ambiental impide la armonía en los elementos que componen el parque y la ejecución de medidas para satisfacer las funciones básicas. Atendiendo a esta situación, Ángel & Velásquez (s.f.) reflexionan sobre el hecho urbano en su perspectiva ambiental, ya que conduce, necesariamente, a entender la dinámica relacional de un sistema complejo. Por ello, se debe entender el parque como unidad sistémica y sus interdependencias funcionales, de manera recíproca, con sistemas de mayor jerarquía y complejidad, como lo es la Estructura Ecológica Principal bogotana.



Figura 1. Parque Metropolitano Simón Bolívar, 2014. Fuente: Portal de Mapas de Bogotá IDECA.

El objetivo de esta publicación consiste en mostrar cómo la unidad urbana “parque” se puede analizar bajo un enfoque sistémico, con la intención de aportar opciones para su manejo ambiental, teniendo en cuenta sus contribuciones funcionales al ambiente de la capital y de su entorno. Según la OMS (1965), los estudios basados en sistemas, ofrecen extraordinarias posibilidades para la organización urbana, ya que permiten asociar variables con alta complejidad. El Parque Metropolitano Simón Bolívar (Figura 1) hace parte de la red de parques administrados por el I.D.R.D., que cuenta con 370 hectáreas y está conformado por 14 sectores, cada uno de ellos con sus correspondientes escenarios (AMB, 2010). Existe, para el efecto, una motivación mundial, impulsada en Europa, para la gestión del territorio, desde las partes de la ciudad verde hacia un todo de bienestar común (CEA, 2014).

MATERIALES Y MÉTODO

Sobre el contexto de los parques, históricamente, se indagó sus administraciones, sus características generales y algunas con opción de ser especializadas, mediante el Software ArcGis, a partir de datos obtenidos de la IDECA (2015); la información secundaria, se obtuvo en libros y en revistas científicas, orientadas al componente geográfico. Para identificar aspectos puntuales, se revisaron trabajos y autores relacionados con los temas de manejo ambiental, parques urbanos, geografía sistémica y teoría general de sistemas, por medio de bases de datos, como Dialnet, Scielo y Ebsco. La recolección de información espacial, se logró en el Instituto Geográfico Agustín Codazzi y en imágenes satelitales de Google Earth, además de algunos planos proporcionados por el I.D.R.D.

Para la aplicación de la teoría general de sistemas, primero se estableció, como contexto general, el macrosistema del P.M.S.B., junto con sus componentes e interacciones; luego, se establecieron las bases para la elaboración del modelo, en donde se determinaron las propiedades y sus correspondientes conexiones e interacciones, aplicando la simbología (Odum, 1988).

Desarrollo metodológico:

Macrosistema: Para esta investigación, el sistema de mayor jerarquía es el ambiente urbano que, a su vez, está integrado por los sistemas naturales, antrópico y funcional, que son representados de la siguiente manera:

Sistema Natural: Representado en la estructura ecológica principal de Bogotá, compuesta por el sistema distrital de áreas protegidas, las áreas de especial importancia ecosistémica y los elementos conectores complementarios, de los cuales, hace parte el P.M.S.B., al integrar la red general de parques de

Bogotá, demostrando ser pieza esencial que contribuye, de manera significativa, en la regulación de condiciones ambientales y en la adaptación a la variabilidad climática.

Sistema antrópico: Está comprendido por el espacio público, lo observable en sus componentes y en los equipamientos construidos. El parque ha sido creado, con el fin de adecuarlo para satisfacer las necesidades de carácter recreativo, ambiental, educativo y paisajístico de la población.

Sistema funcional: Determinado por la conexión entre el entorno y los ciudadanos y podría hacer parte del sistema anterior y desempeñarse como sistema de menor jerarquía, pero al definir lo antrópico como “lo construido”, resulta necesario diferenciar este sistema, como aquel en el que tiene injerencia el usuario. La clasificación de las funciones recae en percepciones que dependen, muchas veces, del modo de uso y el tipo de usuario. Para este caso, se desglosa en funciones más específicas: conservación natural, deportiva, cultura, recreación pasiva y entretenimiento.

Bases generadoras del modelo: Se detallaron procesos de integración, relaciones e interacciones externas e internas del sistema en cuestión, se moldeó la base para su manejo ambiental y se definieron, a pesar de su complejidad, de manera sencilla, las dinámicas que permiten el funcionamiento del P.M.S.B., como sistema:

Delimitación del sistema: Límites geográficos en el contexto urbano, como las vías de tránsito que dividen y emplazan al complejo P.M.S.B., así: Norte: calle 63 y carrera 68; Oriente: calle 64 y carrera 36A; Sur: calle 63, transversal 59A y calle 53; Occidente: Avenida 68, límite del costado suroccidental de la Unidad Deportiva el Salitre, límite del costado sur del Jardín Botánico junto a la Universidad Libre y Avenida Rojas.

Objetivo del sistema: La multifuncionalidad del P.M.S.B. hace que su propósito como sistema, se dirija a implicaciones naturales, sociales, culturales y económicas del ambiente urbano, por lo que el objetivo del sistema se establece así: “Optimizar de manera integral las funciones del parque, con énfasis en el manejo ambiental”.

Elementos/características del sistema: Dado que ningún elemento se puede tomar de manera aislada, por lo que cada sistema interactúa constantemente con su entorno y demás sistemas, los atributos que permiten entender con mayor facilidad las interacciones existentes, entre el suprasistema y el sistema son:

Entradas: Son los insumos que recibe el complejo P.M.S.B. del ambiente urbano capitalino, para poder cumplir y mantener sus funciones; pueden ser de origen natural o artificial, como recursos naturales, humanos y financieros.

Procesos: Son las transformaciones que sufren las entradas, con el fin de conservar componentes naturales y antrópicos del sistema.

Salidas: Son resultado de los procesos efectuados dentro del sistema y al igual que las entradas, hacen que este mantenga sus funciones evitando su deterioro.

Nivel jerárquico: Según la clasificación expuesta por Boulding (1956), el sistema del P.M.S.B. pertenece al octavo nivel, es decir, al sistema social o de organizaciones sociales, que destaca el rol social, interconectado por canales de comunicación, con personas capaces de compartir cultura, historia y otros factores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Interacciones entre elementos del sistema: Los componentes e interacciones son los escenarios que, al engranarse como subsistemas, mantienen la dinámica propia del sistema. Al mismo tiempo, la variación de rangos en los sistemas empieza a tomar forma y el sistema natural y antrópico de mayor jerarquía, a la hora de definir el macrosistema, pasa a hacer parte de los componentes esenciales del límite de interés, influyendo de manera directa en los subsistemas que conforman el P.M.S.B. Son partes que unidas hacen que funcione; actúan como un sistema de menor nivel jerárquico o subsistema, para este caso, corresponden a:

Jardín Botánico y Humedal El Salitre: Este subsistema tiene como objetivo la conservación natural, a partir de la promoción de la investigación, la educación y la recreación pasiva entre los usuarios. Su aporte al sistema radica en ser el escenario con mayor diversidad de especies de flora, además de aportar –como entidad-, que pueden aumentar o disminuir, de acuerdo a decisiones tomadas, el recurso humano, para el manejo del arbolado.

Centros deportivos (Unidad Deportiva El Salitre, Parque Recreo-Deportivo El Salitre, Complejo Acuático, Cancha pública Golf, Centro de alto rendimiento): Este componente cuenta con la mayor área de infraestructura para la práctica de deporte profesional y semiprofesional de diversas disciplinas. Su principal aporte está en los equipamientos deportivos.

Parque Central Simón Bolívar y Parque el Lago: Es el escenario más frecuentado para la recreación pasiva y la función paisajística; los espacios diversificados hacen que estos escenarios aporten a la integración de las dinámicas sociales.

Plaza de los Artesanos y Palacio de los Deportes: Escenarios especializados en albergar eventos culturales, empresariales y musicales, su principal aporte es la preponderancia social

de los eventos, que atrae una buena cantidad de usuarios.

Salitre Mágico y Museo de los Niños: Son puntos de entretenimiento pago, contienen infraestructura mecánica para el disfrute de los usuarios. El aporte, se observa en la contribución a los recursos humanos y financieros internos.

Biblioteca Virgilio Barco: Se convierte en un centro cultural, brindando acceso al conocimiento; es una puerta pública a la información y los servicios, el aporte es la educación y los espacios.

Diseño del modelo: Se tuvieron en cuenta los esquemas de la modelación ODOM, que permitieron representar los elementos e interacciones integrantes del sistema. Se optó, en primera instancia, precisar en dos enfoques: uno, respecto al modelo de macrosistema ambiente urbano, que se observa en la figura 2 y otro, referido al modelo del sistema específico P.M.S.B., esquematizado en la figura 3. El primer diagrama muestra la relación entre el sistema natural y antrópico, elementos del macrosistema ambiente urbano, representados como depósitos o almacenes de biomasa (color azul), siendo simultáneamente productores de bienes y servicios (color verde), que son finalmente consumidos por los usuarios o habitantes de la ciudad (color naranja). El sistema funcional, se presenta como una interacción entre el entorno y los ciudadanos (color piel/carne) y tiene lugar cuando se requieren dos formas de energía, para simbolizar un componente diferente a los demás. Los flujos de energía inician con los recursos naturales y financieros (entradas, de color amarillo), ingresan a los depósitos y salen en forma de mejoras y energía degradada. El P.M.S.B. aparece como un productor en medio de estos dos depósitos, para destacar su emplazamiento dentro del macrosistema.

El segundo diagrama del sistema P.M.S.B. muestra los seis subsistemas que lo conforman, posicionados en forma cíclica, para ilustrar que se encuentran en el mismo nivel jerárquico; poseen el símbolo de productores y cada uno de ellos asienta depósitos de dinero, cuerpos de agua, espacios para erigir nuevas estructuras, entre otros, que pueden aumentar o disminuir, de acuerdo a las decisiones tomadas. Se representa, luego, otro tipo de productores de un nivel menor (verde oscuro), que simbolizan vegetación e infraestructura. Los usuarios, se ubican en el centro del modelo en constante relación y retroalimentación (flechas rojas) con estos componentes. Se representa también la relación creada entre los subsistemas y la avifauna como una interacción (Corredores de Avifauna, color dorado) y los flujos de dinero en líneas punteadas y ubicadas, además, en forma cíclica, al igual que el símbolo de interruptor (amarillo) que se genera, debido a la frecuencia de eventos y de conciertos que se realizan en el parque, los flujos de energía (entradas y salidas) son las mismas expuestas en el párrafo anterior. Finalmente, se dis-

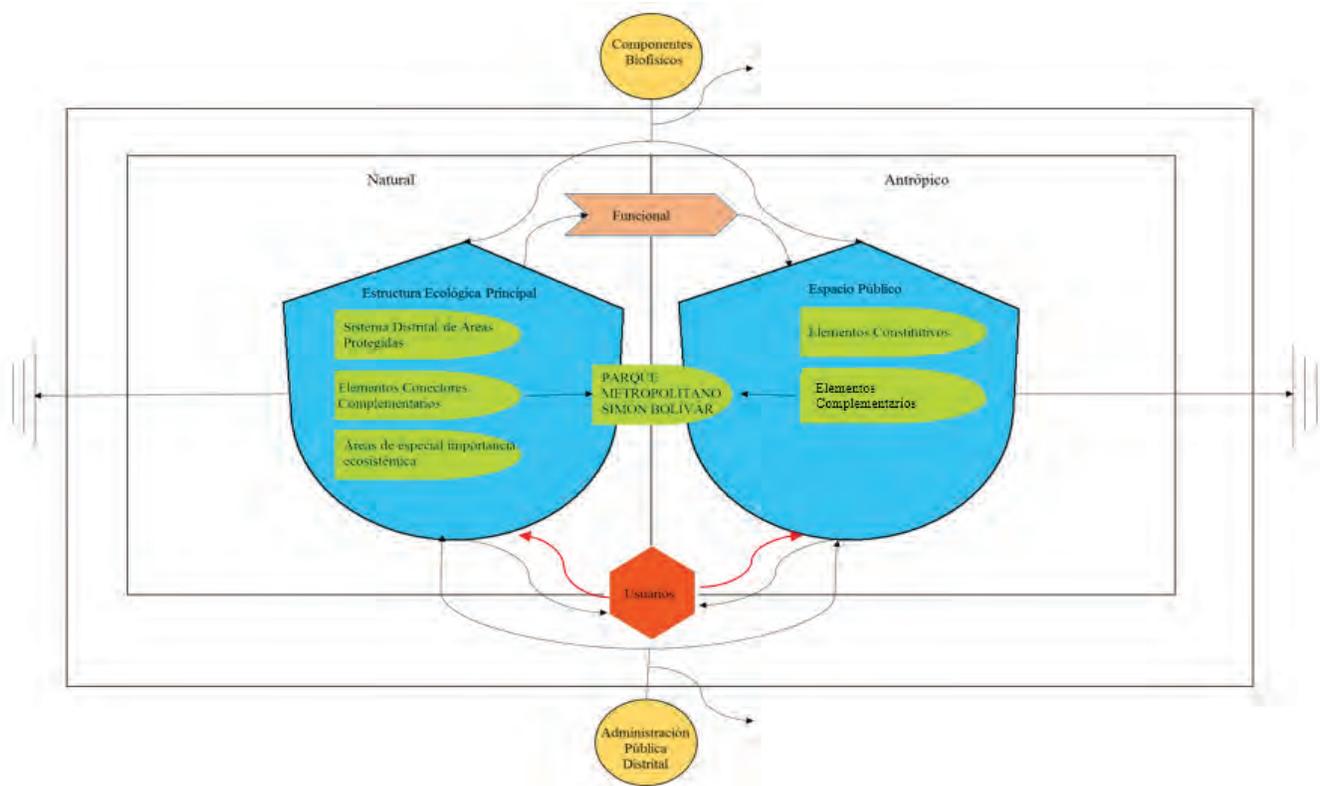


Figura 2. Modelo del macrosistema ambiente urbano. Elaborado por el segundo y el tercer autor del artículo.

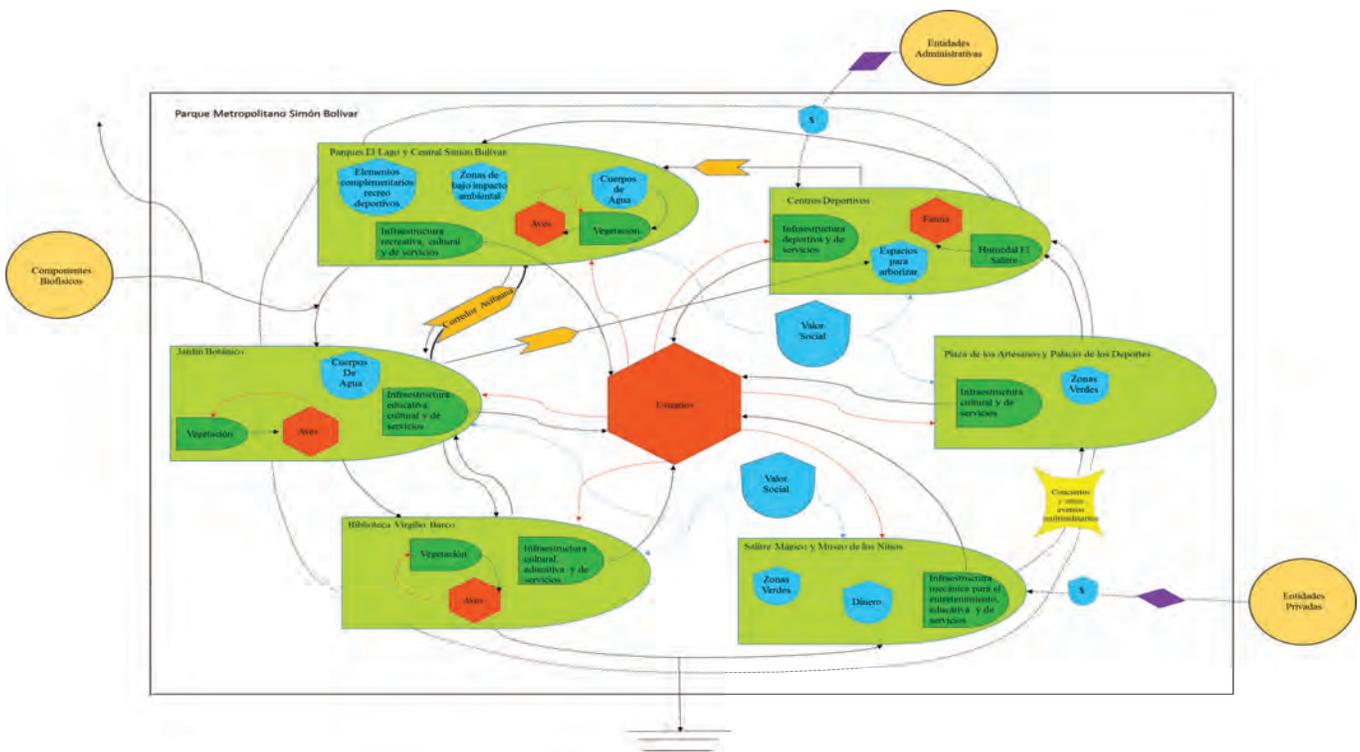


Figura 3. Modelo del sistema Parque Metropolitano Simón Bolívar. Elaborado por el segundo y el tercer autor del artículo.

tingue el depósito “valor social”, que abarca el sistema completo, como un resultado de los canales de comunicación concebidos en el modelo. También, se plasmaron las relaciones en un esquema real, expresado en la figura 4, teniendo en cuenta los siguientes lineamientos de importancia:

- El potencializar funciones, gira en torno al buen servicio para los usuarios, por ende, todos los esfuerzos van dirigidos a satisfacer sus necesidades, además la interacción es recíproca.
- La valoración social por parte del usuario hacia el parque es un aspecto prioritario para su conservación.
- La funcionalidad cultural es una oportunidad para difundir y promover el uso responsable de los escenarios.
- Los distintos escenarios pueden ser aptos para ofrecer una función diferente a la propia, dependiendo de la demanda de los usuarios.
- Los corredores ecológicos dependen no solo de conectores naturales; los artificiales pueden contribuir de igual manera. Además, se pueden aprovechar espacios para aumentar la densidad arbórea.
- Siempre se requerirá de las entradas monetarias para mejorar las propiedades del parque; las entidades administrativas deben dotar con los medios necesarios para mantener en buen estado el parque.

Es así como el análisis sistémico puede apoyar la elaboración de unas acciones estratégicas, gracias a la posibilidad de observar al P.M.S.B., como una parte de un todo, en diferentes niveles espaciales y, al mismo tiempo, como parte de un todo, que corresponde a distintos sistemas así:

- Sistema local social: la Localidad de Teusaquillo, en donde su mayor significancia está dada por corresponder a un área verde recreativa.
- Sistema urbano: la ciudad de Bogotá, en donde su mayor significancia está dada por ser el pulmón verde de la ciudad.
- Sistema municipal administrativo: el Distrito capital, en donde su mayor significancia está dada por ser parte importante del espacio público.
- Sistema regional ambiental: entre los cerros orientales y la cuenca alta del río Bogotá, en donde su mayor significancia está dada por ser parte de la subcuenca del Salitre, del entramado verde y de la red de humedales.

Entonces, en términos de escala espacial o de representatividad del área dentro de cada sistema, el P.M.S.B. tiene un mayor o menor porcentaje; por ejemplo, corresponde a un

área grande dentro del sistema social-local, pero representa un área pequeña, dentro del sistema regional ambiental; sin embargo, su mayor importancia se resalta en términos de **funcionalidad**, ya que el P.M.S.B. es una parte bastante útil para todos los sistemas: el social, el urbano, el administrativo y el ambiental. Y aunque en ninguno de estos sistemas es el elemento núcleo, en su papel de elemento nodo, cumple una importante función para entretener redes estructurantes, desde su potencial, como espacio público.

De lo anterior, se puede deducir, que las relaciones resultantes permiten entender la forma en que cada sistema constituye el elemento de un sistema más grande o jerárquicamente superior (Cadenas, 2005). Aquí, es donde se observa por qué esta teoría, aplicada al campo de la geografía, es denominada geografía sistémica, que con un enfoque integrador, ofrece la posibilidad de abordar el espacio geográfico, como un sistema con sus propiedades y características, fácil de esquematizar y de comprender (Popolizio, 1987), lo cual, se puede constatar con las interconexiones e integraciones de las funciones que presta cada escenario del sistema geográfico P.M.S.B. las que, a su vez, dependen de los aportes externos de las entidades distritales, de su entorno urbanizado, de la participación activa de los usuarios y de sus dinámicas recreativas, deportivas, culturales y de conservación natural. El macrosistema “Ambiente urbano de Bogotá”, bien podría haber sido delimitado por el espacio público o la estructura ecológica principal; sin embargo, estos dos escenarios, se complementan uno a otro, por lo que resulta más práctico y se evita la exclusión de elementos influyentes para el parque, si se describen de manera conjunta.

Por otra parte, un modelo es una construcción de la realidad, que permite identificar relaciones complejas entre los componentes de un sistema (Arnold & Osorio, 1998). El que se aplicó en este estudio, es el de diagramas de flujo, desarrollado por Odum (1988) y que concentra la importancia en los flujos de energía y retroalimentaciones (Mancera, 2003). El modelo es una representación esquemática de los elementos del sistema y las relaciones que existen entre ellos.

Desde la teoría, se evidencia que hay distintas concepciones del término manejo ambiental y en el contexto nacional, es usual que se defina como plan de manejo ambiental, entendido como las “medidas y actividades que, producto de la evaluación ambiental, están orientadas a prevenir, mitigar, corregir o compensar los impactos y efectos ambientales debidamente identificados, originados por el desarrollo de un proyecto, obra o actividad”, pero teniendo en cuenta que este trabajo fue realizado en un parque urbano, que a diferencia de los parques nacionales o regionales de conservación natural en áreas con baja influencia urbana está rodeado de una matriz artificializada, fue necesario ajustar la definición y establecer que el manejo ambiental es “la aplicación de

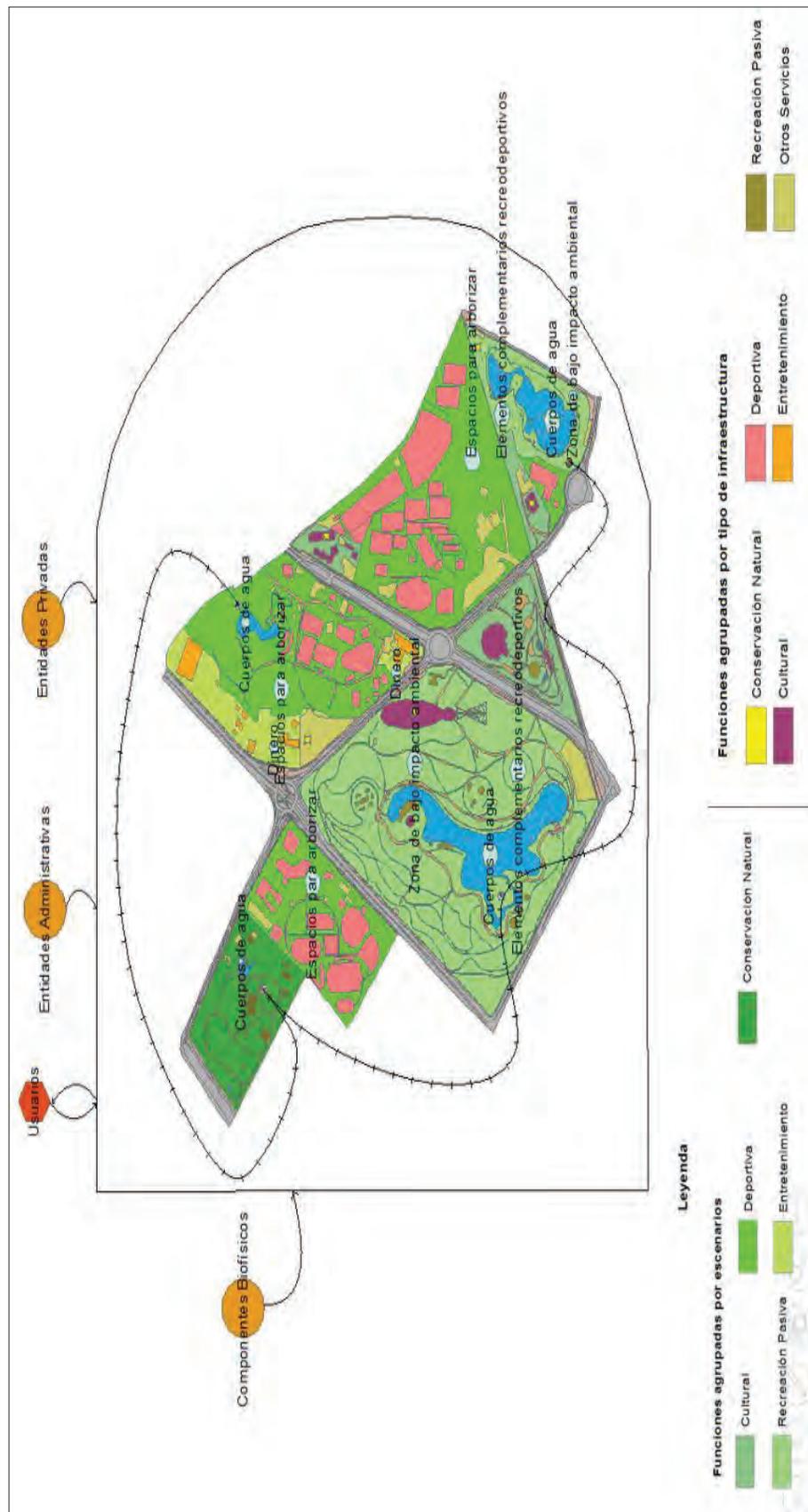


Figura 4. Modelo del sistema Parque Metropolitano Simón Bolívar en un esquema real. Elaborado por el segundo y el tercer autor del artículo.

estrategias orientadas a la calidad de vida del ser humano, mientras se mejoran y se aprovechan espacios deteriorados, integrando factores ambientales, institucionales y sociales, en donde se cualifican las funciones de los parques, para generar zonificaciones que facilitan las acciones conducentes a su manejo integral”.

En esa vía, Harnik (2010) hace un acercamiento a la planificación de sistemas verdes urbanos, combinando criterios económicos, sociales y ecológicos, para determinar su influencia, según los intereses públicos y privados de varias ciudades. Vélez (2007) considera que los parques urbanos deben ser espacios sustentables, con un mínimo impacto en los procesos de consumo energético, producción de desechos y artificialidad en su funcionamiento, con un manejo ambiental asociado a la reducción de pérdidas, cambio de hábitos de uso y consumo de recursos, optimización de procesos y reciclaje, entre otros; asimismo, estima la escala metropolitana como la más adecuada, para una óptima función de los parques.

Con la incorporación de estos conceptos y posiciones, se establece la importancia de aplicar modelos, que no subestimen las funciones de un parque metropolitano, sino por el contrario, ver este espacio natural, con ambientes artificiales, como una oportunidad para los ciudadanos, de comprender que hacen parte de un todo y si su uso no es el adecuado, se pierde la armonía del entorno, lo que, en consecuencia, redundará en el detrimento de las oportunidades, que puede ofrecer a la comunidad, para su calidad de vida. Para Rangel (s.f), las actitudes oficiales en ciudades latinoamericanas, para el tratamiento de un eje ambiental urbano integrado, generalmente, han sido contradictorias, por lo que cobra importancia el poder descubrir en la ciudad los elementos físicos y socioculturales de relevancia actual o potencial, para estructurar una red.

En Colombia, el MAVDT (2005) insta a impulsar mayor responsabilidad e interés social para que el espacio público sea revalorado como un lugar vital para el encuentro, la vida comunitaria y el mejoramiento de la calidad de vida. Específicamente en Bogotá D.C., a partir del Decreto 364, se clasificaron los parques urbanos, según su escala espacial, estando en primer lugar, los de la red general, conformados por los Parques Metropolitanos (área mayor a 10 hectáreas) y Zonales (área de 1 a 10 hectáreas); la estructura ecológica principal, se concibe como una red de espacios con alto valor ambiental, que proporcionan servicios ambientales y ecosistémicos, que buscan garantizar la sostenibilidad y la habitabilidad en la ciudad (AMB, 2013).

Según Posada (2014), la urgencia de hacer de Bogotá un territorio más armónico, se destaca no solamente por ser la capital colombiana, sino por contar con ventajas comparativas en su ubicación, en la conformación de su estructura natural, en la responsabilidad de y para más de siete millones de personas y en la administración de recursos financieros, que se deben invertir en el mejoramiento de las condiciones actuales. En particular, en la evaluación del cumplimiento de las funciones ambientales de los parques metropolitanos de Bogotá D.C, a través de indicadores definidos ecológica y culturalmente, Franco (2013) concluyó que están cerca de cumplir sus funciones, aunque el componente ecológico es el que presenta menor grado de cumplimiento, pero la integración de los usuarios al diseño ambiental específico de los proyectos urbanos, es una estrategia escasamente aplicada, que ofrece un amplio potencial de aplicación en la mejora del entorno colectivo (Puyuelo & Gual, 2009).

Para lograr la gestión ambiental urbana, Zúñiga & Pérez (2013) destacan tres aproximaciones: la conservación integrada o ecosistémica, el enfoque estratégico y un enfoque participativo. Las tres perspectivas deben ser parte de un proceso de mejora continua, que desarrolle prioridades e intereses consensuados en una visión prospectiva del desarrollo local, lo que es corroborado por Sanabria (2012), quien enfatiza en la importancia de tener en cuenta las condiciones locales, para definir las alternativas de diseño del espacio público en la ciudad y, por otra parte, corroborando lo que afirman Pinzón & Echeverri (2010), el compromiso ciudadano permite tejer relaciones de armonía y de cooperación y al recuperar elementos de gran valor y potencial ambiental, cultural y recreativo, existentes en la ciudad, como lo son los parques de gran tamaño.

Con el ejercicio anterior, se concluye sobre la necesidad de integrar un manejo ambiental en los parques urbanos y, específicamente, bajo un enfoque sistémico, que permita recomponer, de manera gradual, el entramado socioambiental. Entonces, para no limitar las acciones al mantenimiento del P.M.S.B. y poder administrarlo con énfasis en la coordinación integral de funciones, se sugiere considerar las siguientes acciones estratégicas, a desarrollar de manera gradual en el corto, mediano y largo plazo (Tabla 1).

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados y agradecemos a la U.D.C.A, la financiación de la investigación “Convergencias de la Gestión Ambiental Territorial en Bogotá”.

Tabla 1. Propuesta de acciones estratégicas graduales para el manejo ambiental del Parque Metropolitano Simón Bolívar, 2016.

SISTEMAS EXTERNOS DEL PMSB /TEMPORALIDAD DE LAS ACCIONES ESTRATÉGICAS	CORTO PLAZO	MEDIANO PLAZO	LARGO PLAZO
LOCALIDAD URBANA	Propiciar la generación de información sobre el PMSB y comunicarla. Activar la participación ciudadana en el plan de manejo ambiental.	Mejorar el conocimiento de las formas de integración urbana. Introducir, en conjunto con la comunidad, medidas de aumento de la biodiversidad.	Transformar y mejorar los elementos del sistema, con grupos voluntarios y en coordinación interinstitucional.
CIUDAD /MALLA URBANA	Integrar al PMSB a la planeación y ordenación urbana, con miras a conformar una "ciudad verde".	Involucrar a agentes económicos y universidades para aplicar soluciones y tecnologías verdes, en los anillos que rodean al PMSB.	Introducir sistemas de mejora de la co-gestión socioambiental, con inversión privada.
PERIURBANO y DISTRITO CAPITAL	Promocionar las ventajas de preservar el tejido natural del centro a la periferia y viceversa, para motivar la agricultura urbana y la relación con la agricultura rural del Distrito.	Integrar el PMSB con énfasis en el plan de manejo de la microcuenca El Salitre.	Consolidar las redes ecológicas funcionales integradas por los espacios protegidos, los humedales y las zonas de importancia ecológica de Bogotá.
ESTRUCTURA ECOLÓGICA PRINCIPAL REGIONAL	Generar, de manera interinstitucional, políticas ecourbanísticas y ecoturísticas de complementariedad donde PMSB, juegue un papel importante.	Identificar y valorar los bienes y servicios ecosistémicos, en los cuales, el PMSB, aporta su parte.	Desarrollar un programa de seguimiento, veeduría y control ciudadano, para que la conectividad ecosistémica se mantenga y mejore.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. –AMB-. 1988. Decreto 1504 de Nivel Nacional. Disponible desde internet en: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=1259>. (con acceso 25/09/2015).
2. ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. –AMB-. 2010. Decreto 360. Disponible desde internet en: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=1259>. (con acceso 25/09/2015).
3. ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. –AMB-. 2013. Decreto 364. Disponible desde internet en: <http://www.sdp.gov.co/portal/page/portal/PortalSDP/actualidad-SDP-home/Decreto-364-baja.pdf> (con acceso 28/01/2016).
4. ÁNGEL M., A.; VELÁSQUEZ B., L.S. s.f. El medio ambiente urbano acercamientos conceptuales. Disponible desde internet en: <http://www.biociudades.org/files/AUGUSTO-LUZ-8-.pdf> (con acceso 28/01/2016).
5. ARNOLD, M.; OSORIO, F. 1998. Introducción a los conceptos básicos de la Teoría General de sistemas. *Cinta moebio* 3:40-49.
6. BOULDING, K.E. 1956. La teoría general de sistemas: La estructura interna de la ciencia. N.W. Botero D. (traductor). 2007. *Politécnica*, 4:103-115.
7. CADENAS M., A. 2005. La economía ecológica como ciencia del Desarrollo Sostenible. *Encuentros Multidisciplinarios*. 7(20):32-39.
8. CARDONA A., O. 1996. Manejo ambiental y prevención de desastres: dos temas asociados. *Ciudades en*

- riesgo degradación ambiental, riesgos urbanos y desastres. Ed. USAID. Ecuador. p 59-76.
9. CENTRO DE ESTUDIOS AMBIENTALES –CEA-. 2014. La infraestructura verde urbana de Vitoria-Gasteiz. País Vasco. 94 p. Disponible desde internet en: <http://www.vitoria-gasteiz.org/wb021/http/contenidosEstaticos/adjuntos/eu/32/95/53295.pdf> (con acceso 26/02/2016).
 10. FERNÁNDEZ, R. 2002. La ciudad verde: teoría de la gestión ambiental urbana. Espacio Editorial. Argentina. 517p.
 11. FRANCO C., J. 2013. Evaluación del cumplimiento de las funciones ambientales de los parques urbanos de Bogotá D.C. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C. Disponible desde internet en: <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/12384> (con acceso 25/07/2015).
 12. GARCÍA L., M. 1989. El parque urbano como espacio multifuncional. Paralelo 37. Estudios Geográficos. España. 13:105-111.
 13. GARCÍA H., S.; GUERRERO, M. 2006. Indicadores de sustentabilidad ambiental en la gestión de espacios verdes. Parque urbano Monte Calvario, Tandil, Argentina. Rev. Geografía Norte Grande. 35:45-57.
 14. GÓMEZ L., F. 2005. Las zonas verdes como factor de calidad de vida en las ciudades. Ciudad y Territorio Estudios Territoriales. España. 144:417-436.
 15. HARNIK, P. 2010. Planificación de parques urbanos: la experiencia estadounidense. Economía, Sociedad y Territorio. México. 11(37):795-801.
 16. INFRAESTRUCTURA DE DATOS ESPACIALES PARA EL DISTRITO CAPITAL –IDECA-. 2015. Infraestructura de datos espaciales para el distrito capital. Disponible desde internet en: <http://mapas.bogota.gov.co/portalmapas/> (con acceso 25/06/2015).
 17. MALDONADO, A. 1999. La construcción de indicadores Bio-Ecológicos para medir la calidad del ambiente natural urbano. Documento de investigación del Grupo de Calidad Ambiental Urbana de la Facultad de Arquitectura y Arte de la Universidad de Los Andes. Venezuela. Disponible desde internet en: http://www.perfilciutat.net/fitxers/IVSL_A2.pdf (con acceso 25/11/2015).
 18. MANCERA P., J. 2003. Introducción a la modelación ecológica. Principios y aplicaciones. Colombia. Disponible desde internet en: <https://books.google.com.co/books?id=-AfcTs-AtvUC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>. (con acceso 25/07/2015).
 19. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL –MAVDT-. 2008. Política de Gestión Ambiental Urbana. Colombia. Disponible desde internet en: <https://www.minambiente.gov.co/index.php/component/content/article?id=2050:plantilla-asuntos-ambientales-y-sectorial-y-urbana-sin-galeria-84#documentos-relacionados> (con acceso 25/09/2015).
 20. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL –MAVDT-. 2005. Guía de Mecanismos de Recuperación del Espacio Público. Serie Espacio Público #5. Colombia. 64p.
 21. ODUM P., H. 1988. Energy, environment and public policy. A guide to the analysis of systems. Disponible desde internet en: <http://www.unep.org/regionalseas/publications/reports/RSRS/pdfs/rsrs095.pdf> (con acceso 25/07/2015).
 22. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD –OMS-. 1965. Cuestiones de higiene los medios relacionados con la ordenación urbana y la urbanización. Informe técnico #297. Ginebra. 74 p. Disponible desde internet en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37718/1/WHO_TRS_297_spa.pdf (con acceso 28/01/2016).
 23. PINZÓN B., M.V.; ECHEVERRI A., I.C. 2010. Espacio Público, cultura y calidad ambiental urbana, una propuesta metodológica para su intervención. Invest. Desarrollo. Colombia. 18(1):92-113.
 24. POPOLIZIO, E. 1987. El enfoque sistémico en la enseñanza de la Geografía. Boletín de la Sociedad Argentina de Estudios Geográficos GÆA N°106 Buenos Aires.
 25. POSADA A., A. 2014. De la planeación a la gestión ambiental colectiva: posibilidades en Bogotá-Colombia. Rev. U.D.C.A Act & Div. Cient. 17(1):257-264.
 26. PUYUELO, M.; GUAL, J. 2009. Diseño prospectivo y elementos de uso en parques urbanos a partir de la experiencia de las personas mayores. Medio Ambiente y Comportamiento Humano. 10(1y2):137-160.

27. RANGEL M., M. (s.f.). Redes de espacios públicos y ejes ambientales estructurantes. Disponible desde internet en: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/17245/1/redes_spacio.pdf (con acceso 29/01/2016).
28. SANABRIA A., T. 2012. La aplicación de la ecología del paisaje al espacio público de las ciudades Colombianas. Revista electrónica p.120-149. <http://www.uniboyaca.edu.co/facultades/FABA/designia> (con acceso 29/01/2016).
29. VÉLEZ R., A. 2007. La conservación de la naturaleza urbana un nuevo reto en la gestión ambiental de las ciudades, para el siglo XXI. Bitácora Urbano Territorial. Colombia. 11(1):20-27.
30. ZÚÑIGA, L.; PEREZ, R. 2013. Los recursos construidos de valor patrimonial en un modelo de gestión ambiental urbana. EÚRE 39(117):69-90
- Recibido: Enero 27 de 2016
Aceptado: Marzo 28 de 2016

Cómo citar:

Posada Arrubla, A.; Paredes Buitrago, A.D.; Ortiz Romero, G.E. 2016. Enfoque sistémico aplicado al manejo de parques metropolitanos, una posición desde Bogotá D.C. – Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 207-217.

ESTIMACIÓN DE LA CAPACIDAD EN RESTAURANTES DE FABRICACIÓN MASIVA

MEASURING CAPACITY IN MASSIVE PRODUCTION RESTAURANTS

Juan Pablo Orejuela¹, Marco Antonio Salcedo², Luis Eduardo Giraldo³

¹M.Sc., Profesor asociado Escuela de Ingeniería Industrial. Universidad del Valle, Colombia, calle 13 No 100-00; edificio 357 oficina: 2007-3, Cali, Valle del Cauca, Colombia, e-mail: juan.orejuela@correounivalle.edu.co; ²Ing. Industrial, Escuela de Ingeniería Industrial. Universidad del Valle, Colombia, calle 56 N No. 3 an – 46 Cali, Valle del Cauca, Colombia, e-mail: marcoasalcedo@gmail.com; ³Ing. Industrial, Escuela de Ingeniería Industrial. Universidad del Valle, Colombia. Calle 1ª No. 18-16 Cali, Valle del Cauca, e-mail: lused_903@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 219-226, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

A pesar que la identificación de la capacidad productiva es de vital importancia en los sistemas productivos y aunque existen estudios desarrollados en diversos sectores, tanto de producción como de servicio, es escasa la investigación referente a la identificación de la capacidad en restaurantes de fabricación masiva, que involucran producción y servicio al cliente, al mismo tiempo. En este artículo, se desarrolló una metodología para determinar la capacidad en estos restaurantes, asociada a un conjunto de menús denominados "menú tipo". En la metodología, se presentó –de manera esquemática-, las actividades a realizar y se validó la propuesta; para la agrupación de almuerzos, se utilizó la técnica de clustering; al final, la capacidad es determinada haciendo uso de un modelo de programación lineal. Se encontró que el tiempo de servicio en barra y el tiempo de consumo del almuerzo son los factores que más afectan la capacidad del restaurante.

Palabras clave: Capacidad de servicio, capacidad productiva, planeación de la capacidad, modelación matemática.

SUMMARY

Despite the identification of the productive capacity in productive systems is vitally important to identify the productive capacity, however, although there are several related studies in various sectors of both production and service, the research on the identification of manufacturing capacity in mass production restaurants with production and customer service simultaneously is scarce. In This article a methodology for measuring capacity in these restaurants is developed, which is associated with a set of menus called "Menu type". The activities to be carried in the methodology

are presented schematically and the proposal methodology is validated. The clustering technique was used for grouping lunch and a linear programming model determines the capacity. It is founded that the bar service time and the launch consumption time are the factors that most affect the restaurant capacity.

Key words: Service capacity, productive capacity, massive production restaurant.

INTRODUCCIÓN

En todas las organizaciones es importante conocer la capacidad del sistema de producción, ya que permite y facilita la toma de decisiones en el corto y largo plazo. Cuando una organización conoce cuáles son las variables críticas de dicho sistema, puede llegar a decidir con contundencia si realiza o no inversiones, que permitan mejoras en sus medidas de desempeño.

Por lo anterior, la capacidad se puede considerar como una variable crítica dentro del sistema de producción, puesto que una inadecuada previsión de la capacidad ocasiona excesos o subutilización de los recursos, lo que incrementa costos, como: de almacenamiento, de oportunidad, de distribución y gastos de administración, elementos que dificultarán el cumplimiento de los objetivos de las organizaciones (Domínguez *et al.* 1995).

A nivel industrial, el problema de medición de la capacidad se presenta, tanto en los sistemas productivos como en los sistemas de servicios; sin embargo, la definición de la medida de capacidad en servicios es más compleja de realizar, debido a que, normalmente, en estas compañías no se entregan productos tangibles, lo que hace que sea de gran

importancia conocer la capacidad que se tiene para prestar el servicio determinado (Wollmann *et al.* 1995).

Para la medición de la capacidad existe una amplia variedad de conceptos que se pueden emplear, cada uno entregando un resultado diferente, lo que deja ver la complejidad de esta tarea, ya que no existe una medida general o norma genérica para establecerla (Domínguez *et al.* 1995); por ejemplo, para el caso de los restaurantes de fabricación masiva, la capacidad puede ser medida a partir de las entradas (libras de arroz procesadas por día) o, a partir de las salidas (número de almuerzos por día), lo que importa es que sea una medida estable, es decir, que no requiera revisiones constantes, que puedan afectar, en cualquier caso, las disponibilidades y los planes de capacidad; debe ser representativa del factor productivo, así como de los productos que incorpora y, por último, debe ser adecuada a su objeto: permitir el cálculo de la capacidad disponible de la instalación y compararla con la carga necesaria.

Algunos trabajos de medición y de control de la capacidad en producción, se pueden ver en Martínez *et al.* (2014); Hung *et al.* (2013); Ho & Fang (2013); Kumru (2011); Wuttipornpun & Yenradee (2007); Vlachos *et al.* (2007) y Kalenatic (2001), donde el problema de la capacidad viene integrado con el problema de la planeación y el control de la producción. En la mayoría de estudios, se enfocan al sector de la manufactura, mientras que el sector de servicios ha sido poco abordado y, en menor medida, los sistemas mixtos (producción y servicios).

Algunas de las investigaciones relacionadas a los servicios abordan diversos campos, como la educación, la salud y la alimentación, pero, en este último, no se han identificado –en la revisión–, metodologías exactas, para determinar la capacidad. En una de estas investigaciones, Manyoma *et al.* (2011) proponen una metodología para medir la capacidad en un programa académico, mediante el uso de la programación lineal, con lo que se determina la capacidad que presentan los recursos y la que consumen los usuarios; al final, se relacionan ambos datos, para determinar la capacidad instalada del programa académico.

Kurz (2016) trata el problema de planeación de capacidad en sistemas job shop, más claramente, proveedores de servicio de mantenimiento, con lead times definidos. Emplean técnicas de optimización analítica e iterativa para, lo cual, el sistema es modelado como una red de colas; mediante tal estudio encuentran que la gestión colaborativa del mantenimiento y las mejoras en los tasas de servicio y gestión de la demanda repercuten positivamente en la capacidad de producción y el costo total.

Heching & Squillante (2014) desarrollaron un enfoque de solución de optimización estocástica de dos fases, aplicado al problema de colas, en sistemas de servicio, como las industrias de servicio de tecnologías de información, para que ellas usen –de manera eficiente y efectiva–, la gestión de capacidad y el proceso de planeación; mediante una gran variedad de experimentos, se sustentan los significativos beneficios del enfoque desarrollado.

Corominas *et al.* (2010) presentan las cuentas de tiempo de trabajo (WTAs), como una forma de lograr una capacidad de producción flexible, a través de la organización del tiempo de trabajo; también plantean modelos de programación lineal, para planear el tiempo de trabajo en empresas de servicio, los cuales, se prueban computacionalmente, presentando buenos tiempos de solución, para problemas de tamaño razonable.

Otra propuesta es la de Pengfei *et al.* (2010), quienes utilizan un meta-modelo paramétrico, que busca satisfacer la prestación del servicio en hospitales, dada una situación de desastre por terremoto. Esta propuesta, se centra en predecir la capacidad transitoria, de manera oportuna, en varios hospitales dentro de la zona donde haya ocurrido el desastre; otra investigación en hospitales, se puede ver en Akcali *et al.* (2006).

Lagemann & Meier (2014) tratan el problema de la planificación de recursos para sistema industriales de productos-servicios, los cuales, experimentan faltas de soporte en la decisión, en cuanto a la planificación de la capacidad se refiere, por lo que los autores emplean la simulación para la identificación de los factores más importantes del sistema, para luego determinar el mejor plan de capacidad.

Hwang *et al.* (2010) abordan el problema de gestión de la demanda y de la capacidad en un restaurante con modelos de optimización, basado en colas, con el que pueden capturar los cambios de la demanda y evaluar, empíricamente, los rendimientos relativos de las estrategias más usadas en restaurantes; con lo anterior, encontraron que un balance entre costo y calidad pueden generar máximos beneficios.

En la revisión realizada, se identificó que el problema de planeación de la capacidad en servicios juega un papel importante en el cumplimiento de los objetivos de estas organizaciones; se evidencia, que indicadores, como el costo, los benéficos, la flexibilidad, la reducción de pérdidas, la eficiencia y la efectividad, se ven afectados por la gestión de la capacidad; sin embargo, para la gestión de la capacidad es importante contar con una correcta estimación de la misma, donde los autores presentan diferentes estrategias para medir y gestionar y emplean la simulación, la optimización, la teoría de colas y los meta-meta modelos, lo que da una idea

de la complejidad del problema y de los diferentes que pueden ser estos y sus soluciones, según el sector de aplicación.

En esta investigación, se presenta una metodología para determinar la capacidad de producción en un restaurante, teniendo en cuenta que es un sistema de producción mixto, ya que se centra en la producción masiva por día y combina el servicio con la manufactura, características que lo hace un sistema particular y poco tratado en la bibliografía. La estrategia, se enfoca en la medición de la capacidad desde los recursos disponibles, basándose en un modelo de optimización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar la capacidad de producción en un restaurante de producción masiva, se proponen la siguiente estructura metodológica compuesta por cinco etapas (Figura 1).

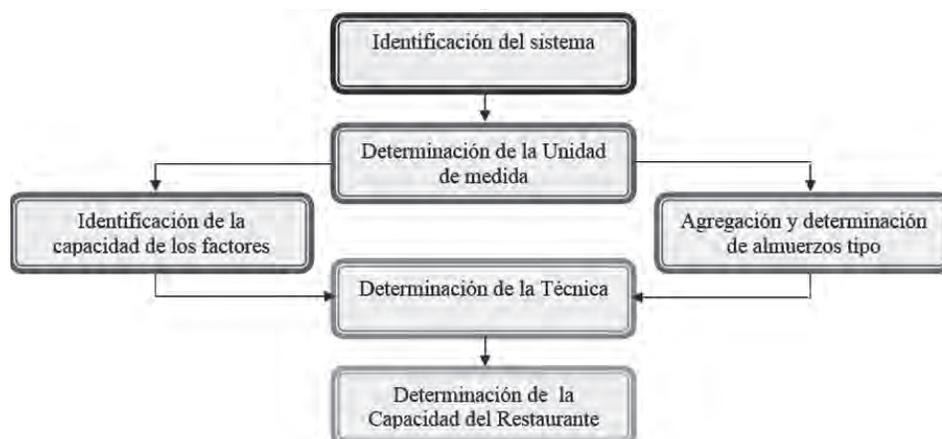


Figura 1. Estructura metodológica

como unidad de medida de la capacidad, dado que con él se pueden representar las demás unidades y permite la comparación entre los distintos factores del sistema.

Etapas 3 -Identificación de la capacidad de los factores productivos-: En esta etapa, se analiza la capacidad instalada de los recursos y la capacidad de la maquinaria cuando trabajan en conjunto, dentro del sistema. Este análisis toma en cuenta los mantenimientos preventivos, los tiempos de alistamiento, las precedencias, los turnos de trabajo y limpiezas; con esta información, se calcula la capacidad, teniendo en cuenta los factores de utilización, de eficiencia y de capacidad instalada de cada recurso.

Etapas 4 -Determinación del conjunto de almuerzos tipo y de sus necesidades de capacidad-: Debido a la cantidad de me-

Etapas 1 -Identificación del sistema y sus factores-: Esta etapa implica la definición del estado actual del sistema productivo dentro del restaurante y se debe apoyar en fuentes primarias y secundarias; se busca recolectar información sobre los factores claves en la estimación de la capacidad: demanda histórica, requerimientos de capacidad, cantidad de materias primas en almacén, tiempos de alistamiento de máquinas, tiempo de consumo, número de mesas disponibles, rutas que siguen las materias primas fundamentales del proceso, cantidad de operarios y turnos de trabajo, máquinas involucradas en el proceso productivo, cantidades de stock de materias primas, producto en proceso y producto terminado.

Etapas 2 -Determinación de la medida de capacidad-: Se toman en consideración las características de cada uno de los factores anteriores, de lo cual, se identifica que plantear la unidad de medida en función de las salidas, dificulta el proceso de medición de la capacidad, ya que este sistema tiene múltiples productos, por tanto, se propone hacerlo sobre la base los recursos. De acuerdo con ello, se plantea el tiempo

nús que se manejan en este tipo de restaurantes y si se tiene presente que la carga de capacidad del sistema se ve afectada por cada menú que se vaya a preparar, es necesario hacer una agrupación, de acuerdo a la familiaridad de características; al menú representativo de cada uno de estas agrupaciones, se denominó almuerzo tipo. Para la determinación de los almuerzos tipo, se desarrolla un análisis de agrupamientos, por el método de Conglomerados o Clústeres (Peña, 2003), debido a que por este método se pueden agrupar los elementos, de acuerdo a las características que presenten.

Después de tener las clasificaciones, se procede a determinar un menú representativo de cada clase, a través de una función de distancia, en donde el menú con la distancia más corta al centro de masa de cada clase, se establece como el menú representante de esa clase.

Etapa 5 -Optimización del sistema-: En esta etapa, se propone un modelo matemático de programación Lineal, que busca optimizar la cantidad de almuerzos que se sirven durante el tiempo de servicio. El modelo es definido para determinar la capacidad de un menú tipo, que es representativo de los menús y facilita la planeación, a ese nivel de agregación. Dentro del modelo, la magnitud del periodo de tiempo empleado es igual al tiempo promedio de consumo (TC) de un almuerzo y se supone que los utensilios que se usan vuelven a estar disponibles en el sistema en tres periodos.

Modelo propuesto para medición de capacidad

Índices:

t, periodos de tiempo, donde t {1,2,3,...,s}; c, componentes del menú, donde c {1,2,3,...,o}; r, recursos (máquinas), donde r {1,2,3,...,k}; m, para materia prima, donde m {1,2,3,...,j}; q, tiempo en que inicia servicio; lt, Lead time.

Parámetros:

NA, número de asientos en el restaurante; TS, tiempo que tarda en servirse un almuerzo; TC, tiempo de consumo de un almuerzo; MUT, cantidad de utensilio más escaso; α, factor de seguridad que encierra características del sistema bajo estudio, como la reducción en la disponibilidad de asientos, debido a las personas que después de terminar de comer se quedan reposando o esperando al compañero más lento de la mesa; HT_t, duración; D_t, demanda de almuerzos, para cada periodo de tiempo “t”; TA_r, tiempo de alistamiento del recurso “r”; TD_{rt}, tiempo disponible del recurso “r” durante un periodo de tiempo “t”; B_{rm}, tiempo de consumo de recurso “r” para procesar la porción de materia prima “m”; D_{rc}, tiempo de consumo de recurso “r” para procesar la porción del componente “c”; Z_{mc}, cantidad de materia prima “m” en kilogramos consumida, para elaborar una porción del componente “c”; DMP_m, disponibilidad de materia prima “m” en kilogramos.

Variables:

S_t, cantidad de almuerzos a servir; X_t, cantidad de almuerzos a producir; P_t, penalización por incumplir demanda, para cada periodo de tiempo “t”.

Modelo matemático:

$$Maximizar = \sum_{t=q}^T S_t \tag{1}$$

$$S_t \leq NA \times (1 - \alpha) \quad \forall t > q \tag{2}$$

$$S_t = 0 \quad \forall t < q$$

$$S_t \leq \sum_{t2=lt}^t X_{t2} - \sum_{t3=q}^{t-1} S_{t3} \quad \forall t \geq q \tag{3}$$

$$4a) \quad D_t \leq P_t + S_t \quad \forall t \geq q \tag{4}$$

$$4b) \quad \sum_{t=q}^T D_t \leq \sum_{t=q}^T S_t \quad \forall t = T$$

$$TS \times S_t \leq HT_t \quad \forall t \geq q \tag{5}$$

$$\left(\sum_{m=1}^j B_{rm} + \sum_{c=1}^o D_{rc} \right) \times X_t \leq TD_{rt} \quad \forall r, t \geq lt \tag{6}$$

$$\sum_{c=1}^o Z_{mc} \times \sum_{t=1}^T X_t \leq DMP_m \quad \forall m \tag{7}$$

$$7a) \quad S_t \leq MUT \quad \forall t = q \tag{8}$$

$$7b) \quad S_t \leq MUT - S_{t-1} - S_{t-2} \quad \forall t > q \tag{9}$$

$$X_t \geq 0, \quad S_t \geq 0, \quad P_t \geq 0 \quad \forall t$$

La función objetivo (1) busca garantizar que se sirva la máxima cantidad de almuerzos, de acuerdo con los recursos disponibles; en cuanto a restricciones, se tiene a (2), que asegura que en cada periodo t, la cantidad de almuerzos a servir no supere la cantidad NA de asientos del restaurante; (3) establecer para cada momento que la cantidad de almuerzos a servir no supere la cantidad de almuerzos disponibles para dicho periodo; 4a) garantizar para cada momento la satisfacción de la demanda y 4b) asegura que al final de la jornada, en el periodo , la totalidad de la demanda deberá haber sido satisfecha en su totalidad; (5) evita que en cada periodo t, el tiempo de servir de los almuerzos del periodo supere la duración del periodo; (6) garantiza para cada recurso en cada momento que el tiempo de consumo del recurso no supere el tiempo disponible del recurso; (7) asegura que para cada materia prima , la producción de almuerzos no exceda la disponibilidad de , o sea ; (8) asegura que en cada periodo la cantidad de almuerzo a servir no desborde la cantidad de utensilios disponibles para dicho periodo y (9) restricción de no negatividad.

Validación y caso estudio:

Como caso de estudio, se empleó un restaurante que ofrece un servicio de alimentación a una comunidad universitaria, que sirve en promedio 4.500 almuerzos diarios, lo que lo muestra como uno de los restaurantes con mayor producción diaria del país.

Menús tipo: Dos de los cinco menús –tipo generados- son Clúster 1: crema de zapallo, arroz blanco, bistec, arepa, en-

salada de repollo y zanahoria y jugo de guayaba y el Clúster 2: frijoles, arroz blanco, carne molida con guiso, arepa, ensalada de repollo y zanahoria y jugo de lulo.

Demanda (Dt): En el análisis de los datos de demanda obtenidos de mediciones del restaurante, se observó que es estable para martes y miércoles, mientras que para lunes, jueves y viernes, la demanda presenta tendencia decreciente. En cada día, la mayor concentración de la demanda se presenta en un intervalo de tiempo de 90 minutos, entre las 12:00 m. y las 1:30 p.m.

Se calculó el porcentaje de participación de la demanda de cada periodo en el día, As . Con esta información, se calculan las demandas en periodos de tiempo de los menús representativos; D_{it} , el valor de la demanda en cada periodo de tiempo, se calculó con la Ecuación (10). Esta información se observa en la tabla 1.

$$D_{it} = As_t \times DT_i \tag{10}$$

Tabla 1. Demanda para cada menú representativo en cada periodo de tiempo.

T		Menú 1	Menú 2	Menú 3	Menú 4	Menú 5
11:30	21	337	366	384	330	285
11:45	22	337	366	384	330	285
12:00	23	399	434	455	391	337
12:15	24	600	651	684	588	507
12:30	25	467	507	532	457	394
12:45	26	439	477	501	430	371
13:00	27	407	442	464	399	344
13:15	28	276	300	315	270	233
13:30	29	242	263	276	237	205
13:45	30	135	147	154	132	114
14:00	31	235	256	269	231	199
14:15	32	186	202	212	182	157
14:30	33	124	135	142	122	105
Demanda Total		4.184	4.544	4.773	4.098	3.536

Tiempo disponible del recurso r (TDrt): Está dado como la duración del periodo de tiempo “t”, HT_t multiplicado por la cantidad de recurso disponible r en ese periodo de tiempo (CR_r), (11).

$$TD_{rt} = CR_r \times HT_t \tag{11}$$

Cálculo de tiempo para servir un almuerzo (TS): La barra de atención esta ordenada como un sistema en serie, por

lo tanto, está dado por el tiempo de ciclo en la barra (TS), ecuación (12).

$$TS = \max(TSC_1, TSC_2, TSC_3, \dots, tsc_o) \tag{12}$$

Tiempo de consumo de un almuerzo (TC): El tiempo de consumo de los almuerzos del restaurante universitario, se determinó haciendo 127 mediciones, durante 2 días, del tiempo de consumo de un almuerzo, en cada uno de los comedores, para posteriormente, calcular el promedio de los tiempos de consumo de un almuerzo, determinado en 14,59 minutos, empleado la ecuación (13), donde (CA_g) es el consumo de un almuerzo para una determinada cantidad de usuarios y (TU), el total de usuarios.

$$Ttc = \frac{\sum_{g=1}^{TU} CA_g}{TU} \tag{13}$$

Tiempo de consumo de recurso r para procesar una porción de materia prima m (Brm): Se determina con la ecuación (14), donde el tiempo de proceso para n porciones de la materia prima es ($TPrm$); el total de porciones procesadas, de acuerdo a la capacidad del recurso es n y la participación de las materias primas en la mezcla es (Pm).

$$B_{rm} = \frac{TP_{rm}}{n} \times P_m \tag{14}$$

Cuando se procesa de manera individual la materia prima en un recurso r , la participación (P_m) es 100%; cuando las materias primas son procesadas en conjunto, es decir, se realiza una mezcla w (la vinagreta de la ensalada), se calcula la participación de materias primas en dicha mezcla (P_m), que es el cociente entre la cantidad de materia prima (CM_m) y el total de consumo de materias primas que se procesan en la mezcla (CM_w), ecuación (15).

$$P_m = \frac{CM_m}{\sum_w CM_w} \tag{15}$$

Tiempo de consumo de recurso r para procesar una porción de componente c (Drc): Es el cociente entre el tiempo de proceso para n porciones del componente (TP_c) sobre el total de porciones procesadas n . ecuación (16).

$$D_{rc} = \frac{TP_{rc}}{n} \tag{16}$$

Cantidad de materia prima consumida para elaborar una porción de componente (Zmc): Se calculan las cantidades de consumo para cada porción, mediante ecuación (17).

$$Z_{mc} = \frac{KG_{mc}}{g} \tag{17}$$

Disponibilidad de materia prima m (DMPm): Estos valores fueron proporcionados por la Jefe de programación y planeación de la cafetería

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al resolver el modelo con los datos recopilados del restaurante universitario, utilizando el software Lingo, se obtuvieron para el menú 2 y el menú 3, los resultados para las variables mostrados en la tabla 2, con un valor en la función objetivo de 4.680 almuerzos, servidos en ambos menús.

Tabla 2: Resultados del modelo para los menús 2 y 3.

T	Menú 2			Menú 3		
	St	Xt	Pt	St	Xt	Pt
21	360	165	6	360	199	14
22	360	165	6	360	199	14
23	360	165	74	360	199	84
24	360	165	291	360	199	307
25	360	165	147	360	199	159
26	360	165	117	360	199	128
27	360	165	82	360	199	93
28	360	165	0	360	199	0
29	360	165	0	360	199	0
30	360	165	0	360	199	0
31	360	165	0	360	199	0
32	360	165	0	360	199	0
33	360	165	0	360	199	0

En la figura 2, se observan los resultados del modelo para el menú 2, que contemplan los almuerzos servidos, la demanda, los almuerzos producidos, la penalización y el stock, para ambos menús. Debido a que la producción y el servicio funcionan en distintos periodos de tiempo, se empieza a ge-

nerar un stock y en el momento en que inicia el servicio, el stock empieza a disminuir.

Para evaluar los resultados iniciales del modelo, se realizó un análisis de sensibilidad y se varían algunos parámetros determinantes dentro del ambiente mixto del restaurante universitario, que afecta su capacidad de producción y de servicio. Este análisis, se efectuó para cada menú representativo, pero se muestran solo los resultados del menú 2, debido a que es el más restringido de los cinco trabajados, es decir, que el restaurante se encuentra con menos capacidad de servicio, en este tipo de menú.

Variación del tiempo de consumo (TC): Para el análisis de sensibilidad, se realizó una variación del (TC), desde 12 minutos, con un incremento unitario, hasta 30 minutos. El modelo arrojó solución única, hasta que (TC) tomó el valor de 24 minutos; de 25 minutos en adelante, no se podía satisfacer las restricciones, puesto que la disponibilidad de utensilios no era suficiente para satisfacer la demanda del menú.

El total de almuerzos a servir para un (TC) que varía desde los 12 minutos hasta 23 minutos, siempre toma el valor de 4.680 almuerzos (acumulado). Para un (TC) equivalente a 24 minutos, el valor total de los almuerzos servidos (S_i) es 4.560 almuerzos y se debe a que, en la situación actual, el parámetro más restrictivo es el servicio en la barra; sin embargo, para cuando el tiempo de consumo es 24 minutos, la disponibilidad de utensilios disminuye tanto, que este factor se vuelve más restrictivo que la disponibilidad del servicio en la barra.

Variación de la demanda: Para este análisis, se evaluó el comportamiento de las penalizaciones (P_i) para variaciones positivas y negativas de la demanda (D_i), del 10 y 20%. En este caso, un incremento de la demanda del 10% hace que el

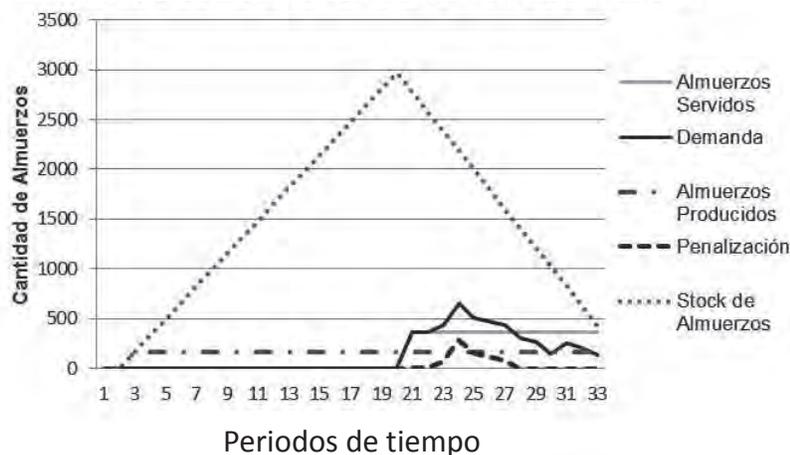


Figura 2. Comparación de variables en el tiempo, para el menú 2.

modelo no obtenga solución; este es un resultado esperado, porque la cantidad máxima de almuerzos a servir es 4.680, ajustándose por el tiempo de atención en la barra de servicio y para este menú, un incremento de la demanda esperada, equivale a 5.000 almuerzos, excediendo el valor máximo que el restaurante puede servir de este menú.

Como las penalizaciones son directamente proporcionales a la demanda, al realizar la variación negativa de (Dt), se obtuvieron valores análogos para (Pt). En el periodo de tiempo 24 (12:15 p.m.) es donde las penalizaciones alcanzan su mayor valor, debido a que la demanda aumenta de una manera significativa; luego, la cantidad de penalizaciones se reduce gradualmente.

Variación del tiempo de servir almuerzos (TS): El tiempo empleado en servir un almuerzo se convierte en el factor restrictivo, porque depende, además, del flujo de usuarios, de la disponibilidad de utensilios y de los componentes en la barra de servicio, lo que limita los almuerzos servidos, a 4.680, por cada menú.

Para evaluar la influencia directa de este tiempo en la capacidad de servicio, se establecieron distintos tiempos de servir, para analizar el comportamiento de los almuerzos, en los periodos de tiempo. Los resultados muestran que una disminución en un 20% del tiempo de servir un almuerzo, para el menú 2, puede aumentar la capacidad de servicio, en un 9,17%. Para los distintos tiempos, el comportamiento de los almuerzos servidos depende, inicialmente, del tiempo empleado para servir. Para los tiempos de 5 y 6 segundos, el restaurante no se ve limitado por servicio, así que sirve todos los almuerzos que le permite su capacidad, pero a medida que el tiempo pasa, empieza a verse limitado, por la disponibilidad de bandejas, que es el utensilio más escaso.

En el primer periodo de tiempo, se tiene una disponibilidad en el 100% de las bandejas, es decir, 2.800. Después del primer periodo de tiempo, el uso de las bandejas crea la necesidad de limpieza de las mismas que, de acuerdo al tiempo promedio de consumo de un almuerzo, el factor de disponibilidad de recursos y la capacidad de la máquina, limitan la disponibilidad de bandejas a 560, por periodo de tiempo. El factor de disponibilidad depende de muchos factores, como el consumo en grupo o el descanso después del almuerzo, que reducen la disponibilidad de asientos y de utensilios; en este caso, el factor de reducción utilizado es del 20%, es decir, hay una disponibilidad del 80% de asientos y de bandejas, en cada periodo de tiempo. De este modo, la capacidad de servicio del restaurante es de 7.600 almuerzos.

Del presente estudio, se puede concluir que la capacidad de producción del restaurante es una capacidad variable, no fija. De ningún modo está determinada por la cantidad máxi-

ma de almuerzos que se han servido de un menú en un día laboral cualquiera, pues esta información proporciona una idea de la demanda máxima, más no de la capacidad instalada. Con respecto a la capacidad de producción de almuerzos del restaurante es necesario entender que está asociada al menú, a sus tiempos de preparación, a los recursos que utiliza, a la fuerza laboral disponible y al día programado.

Los distintos tiempos de proceso de los componentes de un menú afectan directamente el nivel de servicio, puesto que genera un desbalanceo en el área de producción al no estar listas al mismo tiempo y se puede evidenciar en las distintas barras de servicio, cuando se acaban las porciones de algún componente específico, lo que genera un aumento en el tiempo de servir (TS), retrasando el flujo normal de usuarios.

El modelo de programación lineal propuesto demostró ser una herramienta muy útil, para el análisis de capacidad en ambientes de producción, como el restaurante universitario, por que combina, exitosamente, las características de los ambientes, tanto de servicio como de producción y permite realizar una valoración de los factores críticos, para facilitar la toma de decisiones.

Aunque el modelo permite hacer variaciones de los factores productivos y ver el cambio en el nivel de servicio es muy importante que la información recolectada y suministrada sea confiable, puesto que si no representa la realidad del sistema, los resultados del modelo tampoco lo serán y se puede incurrir en encontrar valores óptimos falsos; esto es importante, porque la mayoría de los tiempos del restaurante están asociados a la noción de temporalidad de los operarios y a la experiencia de trabajo, lo que no es precisamente un reflejo de la realidad y que obligó a hacer mediciones en tiempos de preparación de los componentes de los almuerzos, para tener tiempos de producción más confiables.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentado.

BIBLIOGRAFÍA

1. AKCALI, E.; MURRAY, J.C.; CHIN, L. 2006. A network flow approach to optimizing hospital bed capacity decisions. *Health Care Manage Sci.* 9(4):394-404.
2. COROMINAS, A.; OLIVELLA, J.; PASTOR, R. 2010. Capacity planning with working time accounts in services. *J. Operat. Res. Soc.* 61(2):321-331.
3. DOMÍNGUEZ, J.A.; ÁLVAREZ, M.J.; DOMÍNGUEZ, M.A.; GARCÍA, S.; RUIZ, A. 1995. Dirección de Operacio-

- nes: Aspectos Tácticos y Operativos. Ed. McGraw Hill.España. p.215-241.
4. HECHING, A.R.; SQUILLANTE, M.S. 2014. Optimal capacity management and planning in services delivery centers. *Performance Eval.* 80:63-81.
 5. HO, J.W.; FANG, C.C. 2013. Production capacity planning for multiple products under uncertain demand conditions. *Int. J. Production Economics.* 141:593-604.
 6. HUNG, Y.; HUANG, C.; YEH, Y. 2013. Real-time capacity requirement planning for make-to-order manufacturing with variable time-window orders. *Computers & Industr. Engin.* 64:641-652.
 7. HWANG, J.; GAO, L.; JANG, W. 2010. Joint demand and capacity management in a restaurant system. *Eur. J. Operat. Res.* 207(1):465-472.
 8. KALENATIC, D. 2001. Modelo Integral y Dinámico para el Análisis, Planeación, Programación y Control de las Capacidades Productivas en Empresas Manufactureras. Bogotá, Colombia. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Centro de Investigaciones y Desarrollo Científico. p.57-66.
 9. KUMRU, M. 2011. Determining the capacity and its level of utilization in make-to-order manufacturing: A simple deterministic model for single-machine multiple-product case. *J. Manufact. Syst.* 30:63-69.
 10. KURZ, J. 2016. Capacity planning for a maintenance service provider with advanced information. *Eur. J. Operat. Res.* 251(2):466-477
 11. LAGEMANN, H.; MEIER, H. 2014. Robust capacity planning for the delivery of industrial product-service systems. *Procedia CIRP.* 19:99-104.
 12. MANYOMA, P.C.; OREJUELA, J.P.; GIL, C.A. 2011. Metodología para determinar la capacidad instalada en un programa académico. *Estudios Gerenciales.* 27(121):143-158.
 13. MARTÍNEZ, C.; MACHUCA, M.; BENEDITO, E.; COROMINAS, A. 2014. A review of mathematical programming models for strategic capacity planning in manufacturing. *Int. J. Production Econ.* 153:66-85.
 14. PENGFEI, Y.; SANTHOSH, K.G.; JOMON, A.P.; LI, L. 2010. Hospital capacity planning for disaster emergency management. *Socio-Econom. Plann. Sci.* 44(3):151-160.
 15. PEÑA, D. 2003. Análisis de Datos Multivariantes. Ed. McGraw Hill. España. p.227-253.
 16. VLACHOS, D.; GEORGIADIS, P.; IAKOVOU, E. 2007. A system dynamics model for dynamic capacity planning of remanufacturing in closed-loop supply chains. *Computers & Operations Res.* 34:367-394.
 17. WOLLMANN, T.E.; BERRY, W.; CLAY WHYBARK, D. 1995. Sistemas de planificación y control de la Fabricación. IRWIN (Madrid). p.143-148.
 18. WUTTIPORNPIUN, T.; YENRADEE, P. 2007. A new Approach for a Finite Capacity Material Requirement Planning System. *Thammasat Int. J. Sci. Technol.* 12(2):28-51.

Recibido: Febrero 4 de 2015

Aceptado: Marzo 7 de 2016

Cómo citar:

Orejuela, J.P.; Salcedo, M.A.; Giraldo, L.E. 2016. Estimación de la capacidad en restaurantes de fabricación masiva. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 219-226.

MODELACIÓN MATEMÁTICA SITUADA EN UN OFICIO. EL CASO DE ARTESANOS DE LA MADERA

MATHEMATICAL MODELING LOCATED IN A JOB. STUDY CASE THE WOOD CRAFTSMEN

Armando Aroca¹

¹ Lic. Matemáticas, Magister en Educación, Estudiante del Doctorado Interinstitucional de Educación DIE-UID, con énfasis en Educación Matemática, de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Profesor Asociado. Universidad del Atlántico, calle 74 No. 38-100, Apto 901, Bloque 3, Conjunto Residencial Altos de Betania, Barranquilla, Colombia, e-mail: armandoaroca@mail.uniatlantico.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 227-235, Enero-Junio, 2016

RESUMEN

El objetivo de este artículo es presentar el análisis del proceso de modelación que se da en el tallado de objetos, hechos artesanalmente en madera. En este análisis, se hizo énfasis en tres estados, que hacen visible el modelo mental que se va representando en el estado rústico del objeto, en la pre-forma básica y en la forma establecida, llegando así a un modelo público o privado. También, se analiza el papel que juegan las herramientas en la modelación que conlleva a los objetos tallados. El problema consistió en el desconocimiento del proceso de modelación que emplean artesanos en el tallado de la madera y su potencial educativo. La metodología fue cualitativa de corte etnográfico, se emplearon entrevistas individuales y observación participante. Por último, se presentan algunas conclusiones sobre el análisis y resultados. Una de estas conclusiones consiste en que al mostrar el paso a paso de cómo son materializados los modelos ya compartidos por todos aquellos que practican la actividad artesanal, no es necesario traducir o colocar la experiencia y los modelos de los artesanos, en función de la matemática académica.

Palabras clave: Modelo mental, modelación, herramientas, diseños en madera, etnomatemática.

SUMMARY

The objective of this article is to present a research in which the wood-shaping and wood-crafts making process is analyzed. Based on this, the emphasis was placed on three states that show out the artistic idea on the artwork: the original state of the object, a pre-form of it, and a final shape of it. Also, the role of the modelling/shaping tools was studied. As well, there was a problem and it was to disregard the wood-shaping process of the artisans and their educational potential. The

methodology was qualitative with ethnographic approaches. Individual interviews and participants' observations were used. At the end, conclusions on the analysis and results were presented. One of these conclusions is about how showing the step-by-step, of the craftmodels making and how they are shared by all the participants in the activity, is not necessary to put experiences and models of the artisans based on academic mathematics.

Key words: Mental model, modeling, tools, wood designs, ethnomathematics.

INTRODUCCIÓN

Bishop (1999) presenta seis actividades que considera universales y que generan pensamiento matemático. Entre estas, están las actividades de Diseñar, que se refieren a la tecnología, a los artefactos y a los objetos manufacturados, que todas las culturas crean para su vida doméstica, para el comercio, para adornar, para la guerra, para jugar y con fines religiosos. Este investigador apunta que la esencia de diseñar es transformar una parte de la naturaleza, es decir, tomar materiales de la naturaleza, sea madera, arcilla o terreno y transformarlos en objetos. Así, diseñar implica imponer una estructura particular a la naturaleza, lo que se podría denominar un modelo mental privado que por reproducción, mediante la imitación, termina convirtiéndose en modelo mental público. Diseñar implica abstraer una forma de la realidad; el diseño de objetos, por ejemplo, ofrece la posibilidad de imaginar formas, figuras y pautas en el entorno, como argumenta dicho autor.

La actividad de diseñar está ligada a un potencial geométrico y matemático, a veces muy complejo, desde el cual, son desarrolladas ideas, formas, patrones figurales, configuraciones y hasta se pueden desarrollar en Educación Matemática,

alternativas pedagógicas. En este marco, aparecen dos tipos de investigaciones, en la amplia bibliografía desarrollada.

De un lado, se encuentra el análisis del diseño, que se representa por medio de un objeto, por ejemplo, gran parte de las investigaciones de Gerdes (2010; 2011), en África; también están las de Aroca (2008; 2013), en Colombia; Dias *et al.* (2015), en Angola y Graças & Marinho (2015), en Brasil. De este tipo de pesquisas, se deriva un enfoque centrado en mostrar la relación de las actividades de diseño con expresiones de la vida o manifestaciones de la cultura local, como en Sufiatti *et al.* (2013), en Fuentes (2012), en Gerdes (2011), entre otros. Y por otro lado, hay otro tipo de investigaciones centradas en el análisis del diseño, que luego busca una relación o aplicación con la Educación Matemática (Gerdes, 1999; Enríquez *et al.* 2012; Aroca, 2015; Catarino *et al.* 2014), entre otros.

Un segundo tema de fondo es sobre las conceptualizaciones de imagen mental, modelo mental, modelación, modelaje matemático o etnomodelaje en el Programa Etnomatemática; es prudente precisar sus relaciones y posibles intersecciones. En D'Amore (2006), se presenta la constitución de un modelo mental, entendiéndolo como una imagen inicialmente cambiante, que se va volviendo estable, a partir de estímulos y que tiende a permanecer así, ante la aparición de nuevos estímulos o imágenes sobre un objeto, situación o proceso. Así, el estímulo precede a la imagen mental y las sucesivas transformaciones de ésta, hasta estabilizarse en el modelo mental.

Villa-Ochoa *et al.* (2010b) plantean que “los términos modelo y modelación tienen en la actualidad múltiples interpretaciones las cuales emergen desde diferentes perspectivas”. Un poco más adelante, plantea que “en el campo de la Educación Matemática, el concepto de modelación por su parte, está anclado al concepto de modelo, describiéndose de modo general, como el proceso involucrado en la obtención de modelos. Entonces la modelación conlleva a la conformación de un modelo o modelos”. Madruga (2014) establece el modelo externo, cuando se hace visible y que está relacionado con diversos sub modelos que lo constituyen. Entre las cinco perspectivas sobre la modelación que se plantean en Villa-Ochoa *et al.* (2010a), están la perspectiva realista o modelación aplicada y la perspectiva socio-crítica; estas dos perspectivas son de interés para este artículo. Dichos autores, las describen de la siguiente forma: “al interior de la perspectiva realística, observamos que la noción “realidad” se encuentra cercana al estudio de los contextos en la vida cotidiana, el entorno y las demás ciencias; contextos que Villa-Ochoa *et al.* (2009), también vienen defendiendo para el trabajo en el aula de clase”. Mientras que la perspectiva socio-crítica, se plantea en los siguientes términos. “La modelación enmarcada desde una perspectiva sociocrítica

(Kaiser & Sriraman, 2006), reivindica la necesidad de promover el pensamiento crítico sobre el papel de la matemática en la sociedad, sobre la naturaleza de los modelos matemáticos y sobre la función de la modelación en la sociedad. En este mismo sentido, Araújo (2009) resalta la importancia de abordar situaciones escogidas por los mismos estudiantes, acordes con sus intereses y a sus condiciones culturales y en ese contexto”.

Continuando con el análisis sobre las conceptualizaciones de imagen mental, modelo mental, modelación, modelaje matemático o etnomodelaje, se encuentran algunos trabajos de Rosa & Orey (2010), donde presentan el concepto de “etnomodelagem” o en español, “etnomodelación”. Dichos autores, consideran que la “matemática utilizada fuera de la escuela puede ser considerada como un proceso de etnomodelaje y no como un mero proceso de manipulación de números y procedimientos”. Como se podrá notar, la etnomodelación tiene una gran afinidad con las dos perspectivas que se presentaron en Villa-Ochoa *et al.* (2010a). Rosa & Orey (2010) muestran cómo la etnomodelación se vuelve una herramienta de acción pedagógica para el Programa Etnomatemática y, de paso, para la Educación Matemática.

De lo anterior, se puede establecer algunas diferencias y encuentros, al considerar que la modelación es vista como la dinámica dialéctica entre estímulos e imágenes mentales, que conllevan a fijar temporalmente y en ciertas circunstancias atemporalmente un modelo mental, así la actividad de diseñar es una expresión de modelación. La diferencia radica en que si este proceso se da por fuera del aula de clases es denominado etnomodelación. En general, modelación sería el análisis de la exteriorización del modelo mental y es lo que se pretende mostrar en este artículo: hacer una aproximación al proceso de modelación que emplean los artesanos, al momento de tallar objetos de madera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los artesanos –protagonistas de este artículo- son Serafín [S₁] y Santiago [S₂], hombres adultos de 60 años de edad en promedio y con más de 20 años de experiencia en el oficio del tallado de la madera. Ellos residen en casas dispersas a la orilla de la carretera en Córdoba, corregimiento de Buenaventura, departamento del Valle del Cauca, Colombia.

Para elaborar los registros de este trabajo, se realizaron seis entrevistas durante el 2014. En el segundo semestre del 2015, se hicieron corroboraciones *in situ*, de algunas hipótesis planteadas en el análisis de los audios y trabajo de campo. Se empleó la investigación cualitativa, desde un enfoque etnográfico, debido a las exigencias mismas del contexto, donde se da la práctica. Esta forma de proceder estuvo relacionada con la necesidad de utilizar una amplia gama de

instrumentos, como entrevistas individuales lo que permitió cara a cara con el entrevistado; también, se hicieron grabaciones de las entrevistas y su posterior transcripción y análisis, toma de fotos digitales y notas de campo. Todos estos instrumentos o estrategias metodológicas permitieron una mejor comprensión de las prácticas y saberes de los artesanos y recrear la situación natural del proceso de modelación o exteriorización del modelo mental.

Para la recolección y el análisis de la información, se consolidó una bibliografía relacionada con estos aspectos, Vasilachis (2006), Flick (2002), Creswell (1998) y Denzin & Lincoln (1994). La forma operativa de la recolección de datos consistió en la observación científica, tomando como referencia a Bonilla & Rodríguez (2005). Las entrevistas individuales a los dos artesanos, se realizaron mientras ellos cortaban un árbol en la selva o tallaban objetos en sus respectivos lugares de trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El inicio laboral de Serafín y un primer análisis sobre la modelación matemática: A Serafín se le preguntó cómo había aprendido el oficio del tallado y cómo había empezado a organizar su trabajo. A lo que respondió:

“**S1:** Vi a un primo mío que trabaja acá arriba en esto y un día llegué, como usted llegó ahorita, estaba trabajando y yo me puse a mirarlo y sí... dije yo, yo también puedo hacer eso. Y aquí había uno que era antiguamente trabajador de la artesanía, entonces, yo me puse a conversar con él. Cómo hago yo pa’ aprender estas cosas. Y me dijo: nooo... aprendes... tené este formón (cincel) y esta azuela y te ponés a practicar. Y verdad, me fui al monte y corté mi palo y saqué la batea, mi primera bateíta, una pequeñita así y me puse a trabajarla y verdad... y salió preciso. Y la primera batea, me acuerdo que hice, me la compró una cuñada, taba yo trabajándola en mi casa, cuando llegó ella y dijo y esta cosita tan bonita, véndame una... y yo le dije ahí está, en ese tiempo se vendían sino a \$500 o \$400 y ahí me quedé; me fui aprendiendo y la batea redonda no tenía idea pues, y un día le dije a unos muchachos que sabían... vamos pal monte a sacá unas bateas que yo necesito y nos fuimos y sí, tumbamos el palo, el árbol grande y ya empezaron a trabajar y yo mirando, si sacamos batea, sacaron a mí y trajimos pa’ la casa y ya llegué al otro día y dejamos el palo tumbao y yo sí así es... yo mañana me voy con mi hacha y saco batea y me fui!! (risas), verdad!!!, y pin pin, ime traje tres!, cuando vieron los muchachos las tré bateas que traía, me dijo ¿ivos que no sabía pues!? ¡Pues yo lo vi ayer como hacían!”.

De la descripción anterior, más lo observado en las entrevistas, se puede inferir que hay algunas imágenes mentales, que no necesariamente tendrán el mismo orden, que rigen

un determinado proceso de modelación que conlleva a un objeto tallado: 1) Observación como proceso de aprendizaje; 2) Ensayo, error y perseverancia, como sumario de optimización de los procesos, la etapa más crítica en cuanto al desarrollo y empleo de herramientas y, por ende, incorporación de la abstracción y mayor empleo de pensamiento matemático; 3) Lenguaje de explicación de la actividad que no es necesariamente verbal y más aún ágrafo, en su mayoría es gestual o de acción de trabajo, por lo general, se enseña haciendo y cuando este lenguaje de enseñanza es verbal, a base de instrucciones es porque hacen parte de la experiencia de vida. Estas conclusiones, se repiten en otras prácticas sociales, además que no necesariamente son de estricta secuencia, lo que se puede notar, por ejemplo, en Gerdes (2011) y Aroca (2009). Cuando en algunos casos, muy concretos, un artesano le pide explicación a otro más experimentado para tallar cierto objeto, esto sería un nuevo proceso de modelación para la elaboración de dicho objeto, que no está en los objetivos de este artículo.

Desde el árbol, troncos sin formas, hasta el modelo mental exteriorizado por medio del tallado: Serafín va al monte a buscar el árbol sea de Caimo o Caimito, Sande o Anime. Solo lleva el hacha, lo tumba y, si es el caso, se trae troncos o moldes (el estado rústico de la forma) y poco a poco, por cada día, se va trayendo el árbol completo; estos troncos cortados son los que anteceden la preforma. La preforma tiene dos parámetros básicos y únicos, asignados por el artesano, que son esenciales para todos los objetos que se deseen tallar, el diámetro y el largo. En realidad tienen tres dimensiones, son objetos cilíndricos, pero el artesano, por cuestiones prácticas, contempla estas dos. En consecuencia, da la sensación de que existiesen tres estados, que se podrían determinar cómo lo rústico, la preforma y la forma: en el estado rústico, solo hay un madero cilíndrico, que tiene aproximadamente la longitud del objeto mental que se piensa tallar y al momento de ser tallado, el artesano puede cambiar su decisión sobre este objeto, mientras que en la preforma, ya fueron determinadas las dos dimensiones, lo que implica que el objeto mental ha comenzado a tomar forma, en este momento, una imagen mental más consolidada; la decisión ha sido tomada y conduce inexorablemente al modelo mental que se hace visible, por medio del tallado. La forma es el objeto tallado. El siguiente diálogo precisa lo anterior.

“**Entrevistador [E]:** ¿Cuándo usted ve el tronco, usted sabe de inmediato qué se puede sacar de ahí?

S2: Ah, sí, ya se sabe. Si sale un mecedor, si sale un molinillo, una batea...

E: ¿Y cómo sabe usted eso?

S2: Se sabe por la forma en que está el tronco.

E: ¿Cómo así? ¿Es por el tronco o por lo que usted ya sabe antes de llegar al árbol?

S₂: Por ejemplo, de un tronquito pequeño hacemos un molinillo; un tronquito más grandecito, podemos rajarlo y hacer una cuchara y un mecedor; si el tronco es más grueso podemos sacar una tabla batea; si es más grueso sacamos una batea larguita y si es grueso-grueso, sacamos una batea redonda, según el grande.

E: ¿Usted ve al monte, usted lleva en su mente lo que quiere ir a buscar o es cuando llega al árbol y dependiendo, entonces, del ancho del tronco y las ramas, éstas le dicen a usted es mejor sacar esto y esto otro?

S₂: Uno tiene que llevar a que va, pongamos, yo necesito aquí en el puesto tres bateas redondas, por decí algo, yo cojo mi hacha (pega una palmada), me voy a la montaña, busco el palo especial, porque un palo debe ser grueso”.

Por lo menos, en el modelo mental de Santiago hay cinco clasificaciones de las formas que desea tallar, a partir de la longitud y del grueso del tronco: 1) Aquellas que se pueden sacar de un tronquito pequeño; 2) Aquellas que se pueden sacar de un tronquito más grandecito; 3) Aquellas que se pueden sacar de un tronco más grueso; 4) Aquellas que se pueden sacar de un tronco más grueso que el anterior y 5) Aquellas que se pueden sacar de un tronco grueso-grueso. Estas clasificaciones subjetivas del artesano, serían:

- Tronquito pequeño {1}
- Tronquito más grandecito {2}
- Tronco más grueso {3}
- Tronco más grueso (que el anterior) {4}
- Tronco grueso-grueso {5}

En {1} y {2} no se puede tallar en ellos objetos que sirvan como recipientes o que, por lo menos, tengan algún tipo de concavidad, excepto la cuchara. La diferencia que existe entre estas dos primeras clasificaciones es de escala, más grande o más pequeño, más ancho o más delgado, más plano o más grueso. Estos objetos son tallados para una aplicabilidad sobre otra cosa, por ejemplo, menear la sopa, raspar un dulce de coco, voltear un pedazo de carne que se asa. {3}, {4} y {5} son clasificaciones de objetos que tienen capacidad y su diferencia con {1} y {2} está justamente en esta característica, o sea, se les puede verter o depositar algo o pueden contener algo.

El segundo nivel de la preforma, puede ser obtenido por medio de la referencia de un objeto representante de la misma preforma (Figura 1).

Oswalt (1976) acuñó la expresión “plantilla mental”, que es equivalente a lo que Bishop denominó forma, figura y estructura. Bishop (1999) considera que esta “platilla mental” está representada por el objeto diseñado y es interesante observar que un objeto sirve para representar el diseño, por medio del cual, se pueden construir otros objetos. En particular, sabemos que la imitación y la copia son las principales maneras de conservar formas diseñadas”.

Cuando no existe el objeto a la mano que sirva como referente, entonces, se hace por estimación, al ojo. Cuando existe el objeto de referencia, hay una especie de círculo de



Figura 1. Cortes del tronco para obtener moldes de bateitas. Marcación adversa, tomando como referencia la longitud esencial de la forma.

elaboración, pues el objeto acabado es el que conlleva al segundo nivel de la preforma. Después de marcado el tronco en la parte superior, Serafín lo voltea y hace el mismo procedimiento. Es aquí cuando se puede entender el por qué es necesario abrir el tronco a la mitad, pues se necesita que una parte quede convexa y la otra plana para que sus partes o cortes vayan tomando la forma de la batea; luego, donde hizo las marcas de la longitud de la bateita, procede a ahondar más el corte, usando el machete; la función del machete, en este momento, es abrir una ranura, donde la parte afilada del hacha pueda entrar y cortar hasta el otro extremo. A este proceso, Serafín lo llama sacar la tapa. De aquí en adelante, se procede con el uso de otras herramientas, para cortes más precisos, lo que implica hacer visible una nueva fase del modelo mental; sin duda, en este caso, el proceso de modelación toma un nivel más complejo, cuando se emplean herramientas. Este proceso no es lineal, como se podría pensar, pues en un momento determinado el artesano puede cambiar pequeñas características del modelo que se considera público, es decir, que la forma se da por compartida en los artesanos de la región, a partir de los mismos estímulos que le brinden la forma del tronco o los cortes que va apareciendo o los mismos errores que cometió. De esta manera, se generan formas subjetivas y se puede comprender mejor, cuando se dice que tal artesano las hace de cierta forma.

En el caso de Santiago, cuando ha obtenido en el monte, según él, una batea amoldada, es decir, que tiene como referente la forma que se podría interpretar como el modelo mental y que es equivalente a un estado rústico, la coloca en la mesa de trabajo o sobre sus piernas y hace centro con un compás grande de hierro y traza una circunferencia a lo que ellos mismos denominan cuadro. Este cuadro es la circunferencia de referencia que le permitirá comenzar a cavar –con un machete–, la cavidad semi redonda de la batea. Después de cavar cierta parte con el machete, se toma un tercer instrumento, la azuela, que permitirá dar mejor textura a la madera y poder realizar cortes, que con el machete no es posible.

Cada herramienta se turna en el desarrollo de elementos característicos de la forma; para redondearla, por ejemplo, se toma la azuela. Por último, se usa la lija, para dar mejor textura y color homogéneo a la forma del objeto tallado. Se exterioriza estéticamente el modelo mental.

En este proceso son evidentes algunos niveles de abstracción, que van desde la observación del tamaño del tronco cortado hasta los posibles objetos que se pueden tallar. Estos niveles, se podrían pensar de la siguiente forma: el primero, que se desarrolla en la selva, cuando ante los ojos hay un tronco o pedazo de rama, principal o secundaria; el artesano estima qué objetos puede sacar de él, que no siempre son los mismos; procede a hacer cortes empleando el hacha y cortando trozos cilíndricos o tubulares de la rama o el tronco;

luego, los parte por la mitad, encontrando así varias *tapas* o bateas amoldadas. De esta manera establece, por medio de cortes, elementos que son propiedades únicas de una forma y, en consecuencia, no podrá sacar –de esa preforma–, otros objetos que también construye, por ejemplo, no será posible elaborar una cuchara.

Para complemento de lo anterior, se presenta el siguiente diálogo que se sostuvo con Serafín, a medida que iba tallando una batea, así como también la pregunta sobre la construcción de otros objetos tallados, en particular un pilón pequeño o piloncito.

E: ¿Cómo hace usted para que le quede pareja esta parte con aquella? (Se señala el centro de la batea, mostrándole un punto de referencia que está en el fondo de la madera).

S1: Porque uno ya se fija y ya cuando uno aprende las cosas, asimismo va trabajando.

E: ¿Cómo así que se fija, se fija en dónde?

S1: Se fija aquí, tiene que tener la medida de toa la mitad, a toa la mitad, eso es... (Muestra la longitud con respecto a dicho punto, empleando el dedo índice).

E: ¿Y usted lo hace a ojo o midiendo?

S1: A ojo, a ojo, aquí se sabe (señala una referencia en el objeto)

E: ¿Y cómo sabe aquí en esta parte, cómo llegar y comenzar a abrir esto? (Se muestra la concavidad de otra batea ya elaborada).

S1: Aquí midamos... y hacemos, pongamos aquí cogemos, esta, esta esta...esta... raaan, rajamos aquí y acá también hacemos la misma cosa. (Emplea la estimación a ojo y lo que estima es el borde superior del hueco de la batea).

E: ¿O sea, usted primero hace uno o los va haciendo a los dos al mismo tiempo?

S1: Primero hacemos una y con la una ahora sí cuadra la otra, de acuerdo a lo que tiene acá tiene que tené acá.

E: ¿Y a veces se ha pasado?

S1: No, y si uno se pasa un milímetro menos entonces hay que volver rectificar pa' que quede completamente en toda la mitacita.

E: ¿Cómo hace para que este hueco le quede bien hecho?

S1: Aquí sí tenemos que utilizá el compás, aquí ponemos el compás, lo utilizamos en dos partes.

E: ¿En dónde?

S1: Pa' hacer... esta dos... este bordito de aquí, utilizamos el de acá afuera y el de acá, ponemos el compás y le damos vuelta y entonces, por ese... por ese... ¿esa línea que hacemos?, que trazamos, por ahí nos vamos, sin pasanos, porque si nos pasamos, se ve que está... tiene un defeto.

E: ¿Y cómo hace para que se vaya metiendo, vaya apareciendo el hueco?

S1: Asimismo hace... pone el formón... un momentico... (busca el formón), con esto se trabaja esto, el formón tiene que ponerse tendido.

E: ¿Cómo sabe usted que tiene que llegar hasta este pedacito? (Se señala el centro).

S1: A lo que llega allí, uno va bajando, le va dando, le va dando, le va dando y cuando uno topa al duro, entonces ya... uno merma.

E: ¿Cómo así que topa el duro?

S1: Porque aquí, nosotros vamos bajando aquí... ¿cierto?, pero aquí ya sabemos... el hondo que lleva.

E: ¿Por qué lo sabe?

S1: Porque aquí, aquí vamos mirando”.

Cuando se trata del tallado de la parte de abajo, es decir, la parte semicilíndrica de la batea amoldada o tapa, el proceso de abstracción es todo lo contrario a lo que hace del otro lado, mientras en éste pensaba en ir hacia un punto o línea a medida que iba cavando, lo que generaba la concavidad, ahora le toca pensar en un soporte y luego en una convexidad parcial; el soporte donde se sostendrá la batea y

después se hace la convexidad parcial, pero si es una batea de concavidad circular, piensa en una noción de punto, en ir al centro.

Estas referencias de puntos o líneas son las abstracciones que se hacen de características internas que adquieren los troncos o tronquitos cuando se toma la decisión de no enunciarlo y darle una correspondencia simbólica de algún objeto en particular. Justo en esta abstracción hay un momento diferencial de la modelación y el modelo mental, pues en el modelo mental, no está presente ir al centro o ir a la línea, son niveles de abstracción no preestablecidos en el modelo mental, son propios de la modelación, porque su variabilidad depende del tronco o la preforma (Figura 2).

Cuando se revela la definición del contorno superior de la concavidad de la batea, por medio del tallado, tiene dos implicaciones: en primer lugar, si la tapa tiende a ser más rec-



Figura 2. Otros niveles de abstracción de la batea y obtención de tres formas. Direcciones de cortes hacia dentro. Ir al centro o ir a la línea.

tangular, entonces, se trata de cierta manera de inscribir dos figuras, una elipse o un rectángulo; si la batea es cuadrada o alargada, estarán las dos en la superficie plana del semi tronco (mitad del tronco o tronco destapado). En segundo lugar, si la superficie tiende a ser cuadrada, por lo tanto, se trata, en cierta manera, de inscribir una circunferencia.

El siguiente nivel de abstracción es imaginarse el hueco de la batea, que se debe ir cavando hacia el centro, lo que implica una construcción rústica de la convexidad, característica de este objeto. Esta convexidad rústica es obtenida empleando un machete y depende de tres tipos de concavidades: 1) Una concavidad de contorno rectangular: en este tipo de hueco, se tiene como referencia mental una línea central, dentro de la madera, es decir, hacia ella apunta el machete a medida que va cavando; 2) Una concavidad de contorno elíptico: en este tipo de hueco, se tiene como referencia mental una especie de canal central y 3) Una concavidad de contorno plenamente circular: en este caso la referencia mental es una noción de punto central, hacia donde apuntan los cortes del machete. Dado este nivel de la forma, se procede a delimitar pequeñas partes de este elemento característico de la estructura, empleando una azuela, lo que conlleva que la superficie cóncava adquiera una mejor regularidad superficial, hacia al centro lineal o puntual.

El papel de las herramientas en modelación conducen- te a las formas: Un buen número de las prácticas sociales u oficios desarrollan herramientas, como consecuencia del empleo de la abstracción o del pensamiento matemático. Para este caso, en el proceso de modelación matemático sujeto a un oficio, las herramientas son necesarias para hacer visible a cada momento el modelo mental. Cuando un artesano toma la decisión de tallar un objeto tiene diferentes etapas y, en cada una, intervienen diversas herramientas: algunas, en solo etapas muy concretas y, otras, en varias de ellas y el propósito de estas intervenciones es precisamente ir visualizando el modelo mental, que se va tallando en la madera. Los detalles que genera el empleo de herramientas no están presentes en el modelo mental, por ejemplo, la textura de la superficie que solo se puede desarrollar en la dialéctica tacto-herramienta. Otros aspectos relacionados del empleo de herramientas son factores asociados, como el ahorro de fuerzas, el desarrollo estético, la construcción de un orden. En el caso de los dos artesanos que fueron entrevistados, ellos emplean alrededor de doce herramientas esenciales, para hacer visible el modelo mental, que se podrían clasificar en tres grupos: unas, que optimizan la funcionalidad de otras herramientas y, por lo tanto, actúan de manera indirecta en hacer visible la forma, como la lima; un segundo grupo que actúa de manera indirecta sobre la madera para la obtención de la forma, como por ejemplo, la cinta métrica, el lápiz, el compás, son indirectos, porque con ellos solo se puede marcar, más no transformar la madera. Estas herramientas pue-

den incidir sobre el modelo mental, porque al hacer visible una marca lo pueden alterar; se demostró que el artesano de la madera tiene un modelo mental que pretende ser fijo y que quiere hacerlo visible por medio del tallado, pero puede ser alterado por un nuevo estímulo, producto del empleo errado de una herramienta, lo que conlleva a una corrección o transformación radical del modelo mental para no perder el trabajo, ejecutado hasta ese momento.

Un tercer grupo es el que transforma la madera. El caso de la lija tiene un papel leve sobre el cambio de la madera, pero el muñequin (Bastrén), no. La lija no actúa sobre la forma en sí, sino sobre la belleza de la misma, al pretender obtener una mejor textura de la superficie. Los límites de la funcionalidad de la lija implica que con ella solo se pueda cortar o rebanar cierta capa muy delgada de la madera, mientras que el muñequín, que también rebana, lo hace a otra escala; en consecuencia, puede transformar la forma, incluso destruirla; un simple error irreparable altera de inmediato el modelo mental y vuelve inservible el tallado. Los errores conllevan a dos posibles caminos: otro modelo mental, que puede conllevar a una forma acabada subjetiva, convirtiéndose así el primer modelo mental en uno dinámico o la anulación de dicho modelo mental inicial. En general, este tercer grupo de herramientas, se subdivide en dos: un grupo que tiene funcionalidad para el desarrollo del estado rústico, instrumentos que cortan o rebanan la madera en pedazos toscos, cuyas dimensiones están en un rango aún no estéticos y un segundo grupo, que le da a la madera la forma, un nivel límite, porque los cortes son de mucho cuidado, precisos.

Para concluir, los modelos mentales y sus procesos asociados de modelación y de niveles de abstracción son una rica fuente de análisis, que se pueden asociar con procesos de pensamiento matemático en cuanto a estimación, medición, conteo o diseño; esta es una ventana abierta que queda como posibilidad de seguir ampliando estos análisis. El Programa Etnomatemática, además de procurar relaciones como las anteriores, también fija su atención en el entendimiento, comprensión y desarrollo de técnicas y habilidades matemáticas, que están presentes en el hacer matemático de los miembros de comunidades de práctica diferentes (Rosa & Orey, 2013).

Según Rosa & Orey (2005), el Programa Etnomatemática brinda a estudiantes y se puede agregar a profesores, pertenecientes a una minoría, una nueva motivación para percibir la matemática como herramienta cultural, importante para la enseñanza y el aprendizaje de las matemáticas. Así, el análisis y los resultados presentados en este artículo sobre el hacer visibles –por medio de la modelación– los ricos modelos mentales de dos artesanos de la madera, pueden permitir construir actividades matemáticas, a través de situaciones problemáticas, que enriquezcan la diversidad cultural

de las aplicaciones matemáticas en el salón de clases. No se trata solamente de enfocar las actividades matemáticas en el salón de clases con lo que hay en el entorno próximo, como lo sugiere la perspectiva realista de la modelación que se describió en Villa-Ochoa *et al.* (2010a), pues la apuesta didáctica del Programa Etnomatemática está en la enseñanza paralela y comparativa, que se mueve en la tensión que se da entre la matemática académica, perteneciente a una cultura globalizante y una etnomatemática, perteneciente a una cultura local (Aroca, 2016).

Agradecimientos: Al profesor Carlos Eduardo Vasco, por revisar este texto, por sus observaciones y recomendaciones. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado por el autor, quien declara ser el único autor y que no existe conflicto de intereses, que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARAÚJO, J. 2009. Uma Abordagem Sócio-Crítica da Modelagem Matemática: a perspectiva da educação matemática crítica. ALEXANDRIA Rev. Educação Ciência Tecnol. (Brasil). 2(2):55-68.
2. AROCA, A. 2008. Análisis a una Figura Tradicional de las Mochilas Arhuacas: Comunidad Indígena Arhuaca. Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. Rev. Bolema: Bol. Ed. Matemática. (Brasil). 21(30):150-166.
3. AROCA, A. 2009. Geometría en las Mochilas Arhuacas. Por una enseñanza de las matemáticas desde una perspectiva cultural. Ed. Universidad del Valle (Colombia). 234p.
4. AROCA, A. 2013. Análisis de los diseños en los hipogeos del parque arqueológico de Tierradentro, Cauca, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(2):525-534.
5. AROCA, A. 2015. Diseños Prehispánicos, Movimientos y Transformaciones en el Círculo y Formación Inicial de Profesores. Rev. Bolema: Bol. Ed. Matemática. 29(52):528-548.
6. AROCA, A. 2016. Twelve callings to the world's ethnomathematicians. Artículo en evaluación.
7. BISHOP, A. 1999. Enculturación matemática, la educación matemática desde una perspectiva cultural. Edi. Paidós Ibérica S.A. (Barcelona). 239p.
8. BONILLA, E.; RODRÍGUEZ, P. 2005. Más allá del dilema de los métodos. La investigación en ciencias sociales. Grupo Editorial Normal. Universidad de los Andes. (Bogotá). 334p.
9. CATARINO, P.; COSTA, C.; NASCIMENTO, M. 2014. Etnomatemática de um artefacto de latoaria do nordeste transmontano português: a almotolia. Rev. Latinoam. Etnomat. (Colombia). 7(1):126-154.
10. CRESWELL, J.W. 1998. Qualitative Inquiry and Research Design. Choosing among Five Traditions. Sage (Thousand Oaks, California). 472p.
11. D'AMORE, B. (2006). Didáctica de la matemática. Editorial Magisterio (Bogotá). 470p.
12. DENZIN, N.K.; LINCOLN, Y.S. 1994. Introduction: entering the field of qualitative research. In: Denzin, N.K.; Lincoln, Y.S. (eds.). Handbook of Qualitative Research. Sage. (Thousand Oaks, California). p.1-17.
13. DIAS, D.; COSTA, C.; PALHARES, P. 2015. Sobre as casas tradicionais de pau-a-pique do grupo étnico Nyaneka-nkhumbi do Sudoeste de Angola. Rev. Latinoam. Etnomat. 8(1):10-28.
14. ENRÍQUEZ, W.; ORTEGA, B.; AROCA, A. 2012. Análisis a los diseños de los sombreros de iraca Elaborados en colón - Génova, Nariño. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 15(1):227-237.
15. FLICK, U. 2002. Qualitative research – State of the art. Social Sci. Inform. 41(1):5-24.
16. FUENTES, C. 2012. La Etnomatemática como mediadora en los procesos de la reconstrucción de la historia de los pueblos, el caso de los artesanos del municipio de Guacamayas en Boyacá, Colombia. Rev. Latinoam. Etnomat. 5(2):66-79.
17. GERDES, P. 1999. Geometry from Africa: Mathematical and Educational Explorations. The Mathematical Association of America (Washington DC). 210p.
18. GERDES, P. 2010. Tihlèlò, Interweaving Art and Mathematics: Colourful Circular Basket Trays from the South of Mozambique. Centro de Investigação Etnomatemática, Maputo & Lulu. (Morrisville NC). 132p.
19. GERDES, P. 2011. Geometria dos Trançados Bora na Amazônia Peruana. Livraria da Física (São Paulo). 190p.

20. GRAÇAS, A.D.; MARINHO, J.C. 2015. Explorando a matemática na construção de casas de alvenarias. *Rev. Latinoam. Etnomat.* 8(1):29-49.
21. KAISER, G.; SRIRAMAN, B. 2006. A global survey of international perspectives on modelling in mathematics education. *ZDM.* 38(3): 302-310.
22. MADRUGA, Z.E de F. 2014. Etnomatemática e modelagem matemática: Um estudo comparativo com os processos de criação de alegorias de carnaval. *Rev. Latinoam. Etnomat.* 7(1):74-95.
23. OSWALT, W.H. 1976. *An anthropological analysis of Food-getting Technology.* Wiley (Nueva York). 328p.
24. ROSA, M.; OREY, D. 2005. Tendências atuais da etnomatemática como um programa: rumo à ação pedagógica. *Zetetiké: Rev. Educação Matemática.* (Brasil). 13(23):121-136.
25. ROSA, M.; OREY, D. 2010. Etnomodeling as a Pedagogical Tool for the Ethnomathematics Program. *Rev. Latinoam. Etnomat.* 3(2):14-23.
26. ROSA, M.; OREY, D. C. 2013. Etnomatemática e modelagem: a análise de um problema retórico babilônio. *Rev. Latinoam. Etnomat.* 6(3):80-103.
27. SUFIATTI, T.; DOS SANTOS, L.; GLAVAM, C. 2013. Cestaria e a história de vida dos artesãos indígenas da Terra Indígena Xapecó. *Rev. Latinoam. Etnomat.* 6(1):67-98.
28. VASILACHIS, I. 2006. *Estrategias de Investigación Cualitativa.* Editorial Gedisa, S.A. (España). 277p.
29. VILLA-OCHOA, J.A.; BUSTAMANTE, C.A.; BERRIO, M.; OSORIO, J.A.; OCAMPO, D.A. 2009. Sentido de realidad y modelación matemática. El caso de Alberto. *Alexandria. Rev. Educação, Ciência e Tecnologia (Brasil).* 2(2):159-180.
30. VILLA-OCHOA, J.A.; ROJAS, C.; CUARTAS, C. 2010a. ¿Realidad en las matemáticas escolares?: reflexiones acerca de la "realidad" en modelación en educación matemática. *Rev. Virtual U. Católica Norte (Colombia).* 29:49-65.
31. VILLA-OCHOA, J.A.; BUSTAMANTE, C.A.; ARBOLEDA, M.B. 2010b. Sentido de realidad en la modelación matemática. *Acta Latinoam. Matem. Educ. (México).* 23:1087-1096.

Recibido: Enero 29 de 2016

Aceptado: Marzo 15 de 2016

Cómo citar:

Aroca, A. 2016. Modelación matemática situada en un oficio. El caso de artesanos de la madera. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 227-235.

USOS POTENCIALES DEL EFLUENTE DEL HUMEDAL-CONSTRUIDO EN LA PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA BOGOTÁ

POTENTIAL USES OF THE PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA CONSTRUCTED WETLAND EFFLUENT

Carolina Ardila-Quintero¹, Ricardo León-Ramírez², Sandra Galarza-Molina³, Andrés Torres⁴

¹ Estudiante Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería. Pontificia Universidad Javeriana, e-mail: ardila.carolina@javeriana.edu.co; ² Estudiante Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería. Pontificia Universidad Javeriana, e-mail: r.leon@javeriana.edu.co; ³ Ingeniera Civil, M.Sc. Hidrosistemas y Estudiante Ph.D. Ingeniería, e-mail: sgalarza@javeriana.edu.co; ⁴ Ingeniero Civil, Especialista Sistemas Gerenciales de Ingeniería, M.Sc. Ingeniería Civil y Ph.D. Ingeniería Civil con énfasis en Hidrología Urbana. Grupo de investigación Ciencia e Ingeniería del Agua y el Ambiente, Facultad de Ingeniería. Pontificia Universidad Javeriana, carrera 7 No. 40-62, edificio J.G. Maldonado, S.J., Bogotá, D.C., Colombia, e-mail: andres.torres@javeriana.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 237-242, Enero-Junio, 2016

INTRODUCCIÓN

El uso de humedales construidos (HC) como sistemas de aprovechamiento de aguas lluvias (AALL), se ha incrementado en los últimos años, en comparación con otros sistemas convencionales, debido a su fácil operación y mantenimiento y, además, el bajo costo de estos sistemas, promueve su uso en comunidades pequeñas y en países en desarrollo (Kivaisi, 2001; Choi *et al.* 2012; Zhang *et al.* 2012). Resultados muestran que la mayor parte del agua lluvia es recolectada en los techos de las casas, implementando sistemas que almacenan agua durante eventos de lluvia (Fletcher *et al.* 2008; Abdulla & Shareef, 2009); sin embargo, es primordial la realización de estudios de calidad de aguas para permitir su uso, porque pueden contener contaminantes microbiológicos y químicos (Huston *et al.* 2009; Moon *et al.* 2012; Comino *et al.* 2013; Herrmann, 2012).

Se observa que existen investigaciones en el contexto internacional y nacional sobre el AALL (Torres *et al.* 2012; Kazemi & Hill, 2015; Nnadi *et al.* 2015); no obstante, son escasas las experiencias reportadas en la literatura sobre HC utilizados como elementos de AALL de escorrentía urbana y, la mayoría de investigaciones, no incluye la calidad requerida para usos de agua no potable. De igual forma, se encuentran pocos casos reportados en la literatura sobre HC en campus universitarios (Mitsch *et al.* 2008).

Actualmente, en Colombia, el AALL se concentra en experiencias tradicionales de captación y el agua recolectada de los tejados, se emplea para usos no potables (Torres *et al.*

2012). Respecto a los HC, en Bogotá, han sido empleados para el control de la contaminación proveniente de las aguas de escorrentía de primer lavado, mas no para el AALL (Lara-Borrero, 2010). Durante el 2012 y 2013, la Pontificia Universidad Javeriana Bogotá (PUJB) decidió construir un sistema para el AALL; la tecnología escogida, humedal-construido/tanque-regulador (HCTR), recoge la escorrentía de un edificio de parqueaderos de la universidad (3.776m²), de la cancha de fútbol y de las áreas alrededor del sistema (14.816m²) (Galarza *et al.* 2015). Este trabajo buscó determinar los posibles usos del agua lluvia que entra y sale del sistema HCTR, por medio de la caracterización del líquido, durante tres eventos de lluvia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la calidad del agua de escorrentía que entra y sale del HCTR de la PUJB, se revisaron estándares de calidad, a nivel nacional e internacional. Se consultaron documentos emitidos por parte del Ministerio de Salud y de Agricultura de Colombia (Colombia, 1984), la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA, 2004), el Ministerio de Tierras, Infraestructura y Transporte de Japón (MLIT) (Japón, 2005) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (Pescod, 1992). En estos documentos, se identificaron los límites de los usos proyectados en el campus de la PUJB: riego no agrícola, riego agrícola superficial, lavado de pisos y fachadas, sanitarios, duchas y paisajístico (Tabla 1).

Tabla 1. Límites recomendados de parámetros de calidad del agua, para determinados usos.

Usos / Parámetros	Sanitarios y Duchas	Riego agrícola superficial y no Agrícola	Lavado de pisos y fachadas	Uso paisajístico
pH	6,0 – 9,0 ¹ 5,8 – 8,6 (Sanitarios ²) 5,0 – 9,0 ³	6,0 – 9,0 ¹ <7 ⁴	5,8 – 8,6 ²	6,0 – 9,0 ¹ 5,0 – 9,0 ³
DBO₅	<= 10 mg/L ¹	<= 10 mg/L (Riego no Agrícola ¹) <= 30 mg/L ¹		<= 10 mg/L ¹
SST	<= 5 mg/L ¹	<= 5 mg/L (Riego no Agrícola ¹) <= 30 mg/L ¹		<= 30 mg/L ¹
STD		< 500 mg/L ⁴		
T	<= 5 NTU (Sanitarios ¹) <= 2 NTU ^{1y2}	<= 5 NTU (Riego no Agrícola ¹)	<= 2 NTU ²	
E. coli	ND ^{1y3} < 500 cfu/100 mL (Duchas ⁵)	ND (Riego no Agrícola ¹) < 500 cfu/100 mL (Riego no Agrícola ⁴)		
ColiTot	ND (Sanitarios ²) < 1000 microorganismos/100mL ³		ND ²	< 5000 microorganismos/100mL ³
Población Bacteriológica		< 10000 individuos/L (Riego no Agrícola ⁴)		
Cl₂*	>= 1 mg/L ¹	>= 1 mg/L ¹		>= 1 mg/L ¹
Manganeso (Mn)		< 0,1 mg/L (Riego no Agrícola ⁴)		
Hierro (Fe)		< 0,1 mg/L (Riego no Agrícola ⁴)		

¹ Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA).

² Manual de la calidad del agua para la reutilización de las aguas residuales municipales tratadas (MLIT).

³ Decreto 1594 de 1984 “usos del agua y residuos líquidos” (Colombia).

⁴ Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).

⁵ Estándares de calidad del agua para usos en duchas de la Unión Europea (EU).

* Se debe cumplir este valor de Cloro total residual, después de un contacto mínimo de 30 minutos.

El proyecto de AALL de la PUJB es el resultado de un proceso de investigación desarrollado desde el 2007, por el grupo de investigación Ciencia e Ingeniería del Agua y el Ambiente, con el apoyo de Oficina de Recursos Físicos de la Universidad. El HCTR, se encuentra en el costado norte de la cancha de fútbol del campus de la PUJB, diseñado para mejorar la calidad del agua de escorrentía del edificio de parqueaderos. El sistema recibe caudales entre 0.04-50.6 L/s, puede retener hasta el 75% del volumen total de entrada y el tiempo

de retención en promedio es superior a 20 minutos. El HC es un sistema que posee flujo horizontal sub-superficial; la cama de material granular –con una altura en promedio de 60 cm-, se dividió en tres zonas con diferentes tamaños de grava, para reducir, al mínimo, su obstrucción. El tamaño de la grava varía de forma descendente, empezando en la primera tercera parte, con 1”, luego con ¾” y termina con ½”. El HCTR tiene dos sedimentadores: uno antes del HC y el otro que reciben la escorrentía de la cancha de fútbol (Galarza *et al.* 2015).

Se realizaron tres campañas de muestreo durante tres eventos de lluvia del 2013: 13 de agosto, 17 de septiembre y primero de octubre. Las muestras fueron tomadas en cuatro puntos estratégicos, para evaluar las entradas al HCTR y la salida del sistema: punto 1, entrada al HC, proveniente del edificio de parqueaderos; punto 2, salida del HC; punto 3, entrada al sedimentador de la cancha de fútbol y punto 4, salida del sistema HCTR. En los tres primeros puntos, se tomaron seis muestras en cada uno, para ver los cambios de las concentraciones durante cada evento lluvioso. Para el punto 4, se tomó una muestra, debido a que el agua tratada por el HCTR se utiliza varias horas o, incluso, días después de cada evento.

Durante cada evento, la recolección de muestras se realizó con un intervalo de tres minutos; posteriormente, se realizaron los respectivos ensayos de calidad, pH, turbiedad, sólidos totales –ST–, sólidos suspendidos totales –SST–, sólidos disueltos totales –SDT–, cloruros y demanda bioquímica de oxígeno –DBO₅– siguiendo los protocolos establecidos por el Standard Methods capítulo 1000 edición 22 (Rice *et al.* 2012); estos ensayos fueron analizados en el laboratorio del Departamento de Ingeniería Civil de la PUJB. Adicionalmente, las muestras del punto 1 y del punto 4, se sometieron al análisis del número más probable (NMP) de *Escherichia coli* y coliformes totales y conteo total de población bacteriológica; estos ensayos, se realizaron en la empresa Asebiol LTDA. Cabe resaltar que para el uso de riego no agrícola, las normas de calidad de agua exigen límites de presencia de metales pesados; en este estudio, no se realizaron análisis para dichos metales, por falta de presupuesto.

Para realizar una comparación entre los puntos de muestreo respecto a los indicadores de calidad de agua de los tres eventos, se empleó la prueba estadística t-test.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2, se presentan los resultados de calidad en cada punto para los tres eventos lluviosos. En el caso del pH, el punto 1 presentó el mayor valor de pH en los tres eventos y, el punto 2, el de menores valores. En el segundo evento se observa, a diferencia del primer y tercer evento, que el punto 4 presentó valores más altos de pH que el punto 3. La EPA exige pH entre 6 y 9 (Tabla 1) para uso en sanitarios, en duchas, en riego agrícola superficial y no agrícola y paisajístico, todos los puntos cumplieron este parámetro; sin embargo, según la FAO, que exige pH menor a 7, en los tres eventos ningún punto cumplió para riego agrícola superficial y riego no agrícola. Finalmente, para el uso lavado, de acuerdo al MLIT (Tabla 1), la mayoría de puntos cumplieron, excepto el punto 1 del primer evento.

Respecto al parámetro turbiedad en los tres eventos, el punto 1 de muestreo presentó los mayores valores y el punto 4,

los menores. Solo el punto 4, en el segundo y tercer evento, respecto a este parámetro, cumple con uso en sanitarios y riego no agrícola, según lo estipulado por la EPA (Tabla 1). El resto de los puntos no cumplen con este parámetro de calidad, para alguno de los otros usos. De acuerdo a los resultados para SST, el punto 1 del primer evento presentó los valores más altos de SST en los tres eventos lluviosos. La concentración de SST en los puntos 2 y 4 presentaron los valores más bajos. Para usos en sanitarios, duchas y riego no agrícola ninguno de los puntos, en los tres eventos lluviosos, cumplió con las normas. Los puntos de muestreo 2 y 3 en los tres eventos, según la EPA, cumplieron para riego agrícola superficial y paisajístico (Tabla 1).

Todos los puntos de muestreo en los tres eventos lluviosos cumplieron con la concentración de STD para riego no agrícola y riego agrícola superficial, según la FAO (Tabla 1). En el primer y tercer evento, los puntos 1 y 2 no presentaron mayor diferencia numérica para STD respecto a los demás indicadores de calidad de agua y los puntos 3 y 4 muestran los máximos valores; sin embargo, en el segundo evento, los puntos 1 y 4 presentaron los mayores valores y, los puntos 2 y 3, los menores.

Respecto a los resultados de DBO₅, en el primer evento, el punto 1 tiene los valores máximos durante los tres eventos. En el segundo punto de muestreo, las concentraciones de DBO₅ se mantienen dentro del mismo rango e inferiores a 6,5 mg/L, en los tres eventos. De acuerdo a la EPA, todos los puntos, excepto el punto 1 y 3 del primer evento, cumplen para riego agrícola superficial. El punto 4 del primer evento, los puntos 2 y 4 del segundo evento y todos los puntos del tercer evento, cumplen para uso paisajístico, riego no agrícola, sanitario y ducha, de acuerdo a la EPA, con DBO₅ (Tabla 1). Finalmente, para la mayoría de los usos en el segundo y tercer evento, el agua no cumplió con *E. coli* y coliformes totales.

De acuerdo a los resultados de la prueba t-test, se observó que los valores de turbiedad en el punto 1 del segundo y tercer evento, no presenta diferencias significativas (p -value >0,05), lo mismo sucede con los STD del primer y tercer evento. El segundo punto de muestro, en los tres eventos, es significativamente diferente respecto a turbiedad, SST y cloruros; no obstante, en STD y DBO₅ no se presentan diferencias estadísticas (p -value >0,05). En el punto 3, todas las concentraciones de los indicadores son significativamente diferentes en los tres eventos; sin embargo, se observa que los resultados de DBO₅ del segundo y tercer evento, no presentan diferencias. Para el caso del punto 4, las concentraciones de los parámetros de calidad de agua del primer evento lluvioso son significativamente diferentes del segundo y tercer evento, excepto en SDT, del segundo evento. No se pudo hacer la comparación en cuanto a DBO₅ en el punto 4

Tabla 2. Valores mínimos y máximos de calidad para cada punto y evento.

Punto-Evento	pH	Turbiedad (NTU)	SST (mg/L)	SDT (mg/L)	Cloruros (mg/L)	DBO ₅ (mg/L)	Col T (NMP)	<i>E. coli</i>
1-1	8,1-8,9	119-163	896-392	20-120	0,3-1,5	29-88	1400	16 (UFC/100mL)
2-1	6,4-6,8	21-25	0-15	10-100	0,3-1,8	0-4,5		
3-1	7,5-7,8	23-150	134-394	160-190	4,0-6,5	8-31		
4-1	7,4-7,5	7,5-7,6	7-10	140-150	1,8-2,5	9-10	<1	<1 (UFC/100mL)
1-2	7,2-8,0	8,4-67	7-109	116-160	1,5-3,0	4-7,5	23	<3 (NMP)
2-2	6,8-7,1	11,9-13,5	1-14	52-84	2,0-2,5	0-6,5		
3-2	7,4-7,5	8,15-8,90	5-36	85-105	3,3-4,4	0-12		
4-2	7,8-7,9	3,4-3,5	15,5	124	1,9-2,0	3-4,5	15	<3(NMP)
1-3	8,2-8,5	36-50	128-180	63-92	1,5-3,5	14-27	3.6	<3(NMP)
2-3	6,8-7,3	9,4-15,9	16-24	72-86	2,0-3,5	3-4		
3-3	7,4-7,6	21,4-25,5	28-68	111-136	2,5-3,5	3,5-4,5		
4-3	7,0-7,3	4,2-4,3	12	141-144	4,0-4,3	0	<3	<3(NMP)

del tercer evento respecto al primero y al segundo, ya que no se obtuvieron resultados de laboratorio.

Durante este trabajo, se observó que el agua efluente del sistema HCTR cumplió con todas las normas consultadas para uso paisajístico, por ejemplo, el uso en fuentes. Por lo cual, este resultado sugiere que el agua captada, tratada y almacenada por el sistema HCTR puede ser utilizada para este uso, sin ningún tratamiento suplementario. Adicionalmente, se observó que el agua proveniente del campo de fútbol (punto 3) presenta altas concentraciones. La mezcla del agua del punto antes mencionado, con el agua de la salida del HC (punto 2), afecta la calidad del agua efluente del sistema HCTR (punto 4), limitando los usos potenciales. Si se mejora el proceso de sedimentación en el punto 3, el agua sería adecuada para otros usos.

El punto de muestreo en el sistema HCTR influye significativamente en los resultados de la concentración de algunos indicadores de calidad de agua. Adicionalmente, el agua a la salida del HC es de mejor calidad que el agua de la salida del sistema HCTR. Por lo tanto, el agua a la salida del HC, sin ingresar al tanque de retención, puede ser utilizada para uso paisajístico, sin ningún tratamiento secundario.

Los resultados muestran altos índices de turbiedad y de SST en el agua efluente del sistema HCTR, por lo cual, el agua no cumple para la mayoría de los usos analizados. Respecto a los parámetros microbiológicos, de los tres eventos, en uno se no se halló *E. coli* y coliformes totales y, en los otros, se

detectaron alrededor de 15 NMP/100mL de estos parámetros, por lo que el uso en duchas y en sanitarios no es posible, pero para riego y uso paisajístico, sí cumple. Finalmente, para los tres eventos lluviosos, se observó que las concentraciones de cloruros y SDT se mantienen constantes en la salida del HC, punto 2 y aumentan al salir del sistema HCTR, punto 4. Este resultado sugiere que el proceso que realiza el agua al pasar por el sistema HCTR no determina cambios, en cuanto a concentraciones de cloruros y de SDT.

Para disminuir turbiedad y SST se recomienda implementar sistemas de tratamiento adicionales: aumento del tiempo de retención en el tanque y adición de algún tipo de coagulante (e.g. sulfato de aluminio). Respecto a la disminución de *E. coli* y coliformes totales, se recomienda implementar sistemas de tratamiento alternativos, que permitan disminuir, específicamente, la contaminación microbiana. La DBO₅ no es un buen indicador para la contaminación microbiana, porque tiene en cuenta la contaminación orgánica y no es específica para microorganismos patógenos. La aplicación de cloro y el uso de nuevas tecnologías, como la fotocatalisis heterogénea, se podrían utilizar para este fin. Por último, cabe resaltar que para el uso en riego no agrícola, las normas de calidad de agua exigen límites de presencia de metales pesados, tales como hierro, zinc y cobre.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABDULLA, F.; SHAREEF, A. 2009. Roof rainwater harvesting systems for household water supply in Jordan. *Desalination (UK)*. 243(1-3):195-207.
2. CHOI, J.; MANIQUIZ, M.; GERONIMO, F.; LEE, S.; LEE, B.; KIM, L. 2012. Development of a horizontal subsurface flow modular constructed wetland for urban runoff treatment. *Water Sci. Techn. (UK)*. 66(9):1950-1957.
3. COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD Y MINISTERIO DE AGRICULTURA. 1984. Decreto 1594 de 1984: usos del agua y residuos líquidos. Diario Oficial 36700 de julio 26 de 1984. Bogotá. Disponible desde Internet en: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=18617> (con acceso 11/08/2013).
4. COMINO, E.; RIGGIO, V.; ROSSO, M. 2013. Grey water treated by an hybrid constructed wetland pilot plant under several stress conditions. *Ecol. Engineering. (USA)*. 53:120-125.
5. FLETCHER, D.; DELETIC, A.; MITCHELL, V.; HATT, B. 2008. Reuse of urban runoff in Australia: A review of recent advances and remaining challenges. *J. Environ. Qual. (USA)*. 37:S-116-S-127.
6. GALARZA-MOLINA, S.; TORRES, A.; LARA-BORRERO, J.; MÉNDEZ-FAJARDO, S.; SOLARTE, L.; GONZALES, L. 2015. Towards a constructed wetland/reservoir-tank system for rainwater harvesting in an experimental catchment in Colombia. *Rev. Ing. Univ. (Colombia)*. 19(2):169-185.
7. HERRMANN, J. 2012. Chemical and biological benefits in a stormwater wetland in Kalmar, SE Sweden. *Limnologica. (Germany)*. 42(4):299-309.
8. HUSTON, R.; CHAN, Y.; GARDNER, T.; SHAW, G.; CHAMPAN, H. 2009. Characterization of atmospheric deposition as a source of contaminants in urban rainwater tanks. *Water research. (Netherlands)*. 43(6):1630-1640.
9. JAPÓN. MLIT –MINISTRY OF LAND, INFRASTRUCTURE, AND TRANSPORTATION-. 2005. Manual on water quality for reuse of treated municipal wastewater, Tokyo.
10. KAZEMI, F.; HILL, K. 2015. Effect of permeable pavement base course aggregates on stormwater quality for irrigation reuse. *Ecol. Engineering*. 77:189-195.
11. KIVAISI, A. 2001. The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries: a review. *Ecol. Engineering*. 16(4):545-560.
12. LARA-BORRERO, J. 2010. Humedales construidos para el control de la contaminación proveniente de la esorrentía urbana. *Rev. Acodal*. 226(1):19-27
13. MITSCH, W.; TEJADA, J.; NAHLIK, A.; KOHLMANN, B.; BERNAL, B.; HERNANDEZ, C. 2008. Tropical wetlands for climate change research, water quality management and conservation education on a university campus in Costa Rica. *Ecol. Engineering*. 34(4):276-288.
14. MOON, S.; LEE, J.; LEE, B.; PARK, K.; JO, Y. 2012. Quality of harvested rainwater in artificial recharge site on Jeju volcanic Island, Korea. *J. Hydrology. (Germany)*. 414-415:268-277.
15. NNADI, E.O.; NEWMAN, A.P.; COUPE, S. J.; MBANASO, F.U. 2015. Stormwater harvesting for irrigation purposes: An investigation of chemical quality of water recycled in pervious pavement system. *J. Environ. Manag. (Belgium)*. 147:246-256.
16. PESCOD, M. 1992. Wastewater treatment and use in agriculture: Irrigation with wastewater. Roma, Italy: FAO. Disponible desde Internet en: <http://www.fao.org/docrep/t0551e/t0551e00.HTM> (con acceso 12/08/13).
17. RICE, E.W.; BRIDGEWATER, L.; AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION. 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. Ed. APHA-AWWA-WEF (Washington D.C.). 1496p.
18. TORRES, A.; MENDEZ, S.; LARA, J.; ESTUPIÑAN, J.; ZAPATA, H.; TORRES, O. 2012. Hacia equipamientos urbanos sostenibles: aprovechamiento de aguas lluvias en el campus de la Pontificia Universidad Javeriana en Bogotá. *Cuadernos de Vivienda y Urbanismo. (Colombia)*. 5(9):124-141.
19. US-EPA –United States Environmental Protection Agency-. 2004. Guidelines for water reuse. Washington.

Disponible desde Internet en: Agosto 11 de 2013:
<http://water.epa.gov/aboutow/owm/upload/Water-Reuse-Guidelines-625r04108.pdf> (con acceso 11/08/2013).

tion control in China during 1990–2010. *Ecological Engineering. (USA)*. 47:89-197.

20. ZHANG, T.; XU, D.; HE, F.; ZHANG, Y.; WU, Z. 2012. Application of constructed wetland for water pollu-

Recibido: Diciembre 17 de 2015
Aceptado: Abril 25 de 2016

Cómo citar:

Ardila-Quintero, C.; León-Ramírez, R.; Galarza-Molina, S.; Torres, A. 2016. Usos potenciales del efluente del humedal-construido en la Pontificia Universidad Javeriana Bogotá. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 237-242.

RABIA EN UN GATO DOMÉSTICO (*Felis silvestris catus*) EN EL MUNICIPIO DE YUMBO, VALLE DEL CAUCA, COLOMBIA

FELINE RABIES IN A DOMESTIC CAT (*Felis silvestris catus*), YUMBO, VALLE DEL CAUCA, COLOMBIA

Fernando Favian Castro Castro¹, Maria Patricia Mateus Rodríguez².

¹M.V. Ph.D., Profesional Independiente, Rúa Pedro Delmanto 939 Botucatu Sao Paulo Brasil, e-mail: fernandomorcegos@gmail.com; ²T.R. Especialista Administración en Salud, Profesional Independiente, carrera 10 No. 131ª-92, casa 32, Bogotá, Colombia, e-mail: mmateusrodriguez@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19(1): 243-246, Enero-Junio 2016

INTRODUCCIÓN

La rabia es una enfermedad mortal que ataca a todas las especies de sangre caliente, incluido el hombre, producida por un virus que, generalmente, se disemina por la saliva de los animales infectados. Da origen a una alteración del sistema nervioso central, causando la muerte (Brass, 1995).

De acuerdo con el comportamiento epidemiológico, se pueden identificar dos ciclos predominantes de la enfermedad: el ciclo urbano, donde el virus es transmitido por perros y gatos y el ciclo silvestre, donde los transmisores son animales silvestres, como marsupiales, zorros, zarigüeyas, mapaches y murciélagos. En América Latina, el murciélago hematófago es el principal transmisor de la enfermedad, seguido por los cánidos domésticos y otros carnívoros, como zorros, lobos, coyotes, chacales y mapaches, implicados en el ciclo epidemiológico de la enfermedad, tanto en América del Norte como Europa y Asia (Flores, 1978; OPS, 2003; Nadin-Davis, 2007; Bofill *et al.* 1988).

El agente que produce la enfermedad es un virus que pertenece a la Familia Rabdoviridae género *Lysavirus*, cuya forma es de bala. Se destruye fácilmente con los agentes físicos más conocidos, como el calor y la luz de los rayos ultravioleta, que tienen acción anti microbiana y agentes químicos, como la cal, la lejía, detergentes, como jabones y los halógenos, como el cloro y el yodo (Bleck, 2006).

El virus ingresa al cuerpo por pérdida de integridad de la piel o por aerosoles, busca un nervio periférico trasladándose a la médula espinal y de allí al cerebro. Posteriormente, se disemina a todos los órganos del cuerpo, incluso las glándulas salivares, donde se elimina constantemente (Brass, 1995). Existen varios métodos de transmisión: uno de los principales es por la saliva, que se propaga a las víctimas, como es

el caso de la rabia silvestre, que ocurre por mordeduras de zorros, de murciélagos y de ardillas; por medio de aerosoles procedentes de saliva, de orina y de materia fecal de animales infectados, al ingresar sin protección a refugios, como cuevas, árboles huecos y casas abandonadas (Dietzschold *et al.* 2008); a través de contacto y manipulación sin protección adecuada de animales enfermos, que eliminan virus (Best *et al.* 2004) que, según Brass (1995), está en la saliva dos días antes de presentar sintomatología nerviosa evidente.

El periodo de incubación: Es el tiempo desde que el organismo es expuesto al virus hasta que manifiesta los primeros síntomas. Este tiempo es variable y presenta, dentro de la misma especie, fluctuaciones, a veces muy grandes, que tienen que ver, principalmente, con el sitio de inoculación (mayor periodo de incubación, mientras más lejos del cerebro quede el sitio de entrada del virus), la cantidad de virus que haya podido inocular y la vía por la que logró ingresar (Brass, 1995). En los bovinos, se presenta entre 25 y 150 días, de acuerdo al sitio de ingreso del agente (ICA, 2008); en equinos es más corto, de 20 a 85 días; en ovinos y caprinos es de 20 a 65 días y en gatos, de 9 días hasta un año, generalmente, en la mayoría de casos, aparecen los síntomas 4 semanas después del contagio (Paho, 2007).

Los principales síntomas: Presenta letargia y parálisis de los músculos de la deglución, razón por la cual, se produce abundante salivación y pueden tener dificultad para beber, algunas veces se puede confundir con obstrucción de esófago, por elementos extraños. En ocasiones, se observan lagrimeo y secreción nasal, siendo el síntoma principal la parálisis progresiva del tren posterior, que lleva a la postración, coma y muerte (ICA, 2008). El periodo de tiempo desde que aparecen los síntomas evidentes hasta la muerte es de 3 a 5 días, en perros y en gatos (Minsalud, 2010).

En el municipio de Yumbo, departamento del Valle del Cauca, en junio de 2014, se presentó un foco de rabia silvestre, en la vereda el Chocho. La zona afectada es de topografía montañosa, ubicada en la zona rural 15km de la cabecera municipal, donde existen casas de descanso para fin de semana y un número reducido de explotaciones pecuarias y pequeñas especies.

El animal que enfermó era un gato doméstico (*Felis silvestris catus*), de raza criollo, género macho, estado lactante de 58 días de edad. Tenían dos hermanos de camada, cuya madre, con el esquema de vacuna contra la rabia completo, última inmunización día 5 noviembre del 2013, no presentó sintomatología de la enfermedad durante la observación de la cuarentena. El gato enfermo presentó síntomas nerviosos y cambios de comportamiento, manifestando ataques de furia a otros animales, como gallinas, que convivían en el predio. Posterior al ataque a gallinas, se les realizó vigilancia epidemiológica y no presentaron síntomas de la enfermedad, ya que las aves no tienen receptores específicos para el virus de la rabia. El gato atacó objetos inanimados, como escobas, palos e, incluso, agredió físicamente a personas, como fue un niño menor de doce años, mordido en la mano y su padre en la pantorrilla, quienes notificaron a las autoridades de salud el accidente rábico y encerraron al gato, que murió con sintomatología nerviosa, para luego ser recogido por las entidades de salud. Los dos hermanos del gato afectado no fueron encontrados en un rastreo realizado en la zona boscosa.

El caso fue diagnosticado como rabia, mediante la prueba de IFD inmunofluorescencia directa, en el Instituto Nacional de Salud en Bogotá Colombia, cuya variante antigénica fue la número tres. El origen del virus fue el murciélago hematófago *Desmodus rotundus*, se desconoce cómo se transmitió el virus del murciélago al gato; la gata acostumbraba

a llevarse las crías a una zona boscosa amplia durante las noches, a 50m de distancia de la casa, una zona geográfica que tiene reportes de ataques de murciélagos hematófagos en bovinos. Las formas más frecuentes de transmisión entre vampiros son las heridas, principalmente, por mordeduras causadas al presentarse peleas entre individuos de la colonia (Villa, 1976; Gomes & Uieda, 2004).

La rabia es una enfermedad zoonótica de carácter mortal. La letalidad de la rabia es del 100%, aunque han sido registrados casos de cura en humanos, mediante coma inducido y terapia de soporte o cura espontánea, en casos de infección experimental, en modelos animales, que dejaron importantes secuelas motrices (CDC, 2011).

La rabia silvestre en felinos en Colombia se ha venido presentando frecuentemente. De acuerdo a reportes del Ministerio de Salud y Protección Social (2014), en el periodo del 2004 al 2014, se presentaron en Colombia 10 casos. En el Valle del Cauca se han manifestado cuatro casos, en los municipios El Dovio, en el 2000; Ginebra, en el 2009; Roldanillo, en el 2012 y Yumbo, en el 2014. De acuerdo a la variante antigénica, tres de los murciélagos hematófagos, han sido los transmisores, en un 75% de la casuística, en el departamento y un 25%, una variante antigénica, cuatro perteneciente a una especie de murciélagos no hematófagos *Tadarida brasiliensis*.

La rabia en gatos ha llevado a desenlaces fatales en humanos, en Colombia, como son los casos del municipio de Santander de Quilichao, en el Departamento del Cauca, municipio de Moniquirá, en el Departamento de Boyacá y en el municipio de Roldanillo, en el Departamento del Valle, por la cercanía de estos pequeños felinos al hombre y sus hábitos alimenticios variados, que incluyen murciélagos (Fotografía 1a y b).



Fotografía 1. a) Gato (*Felis silvestris catus*); b) Murciélago hematófago *Desmodus rotundus*, tomado por Fernando Castro y Pablo Arboleda. Departamento del Valle del Cauca, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Atención de la notificación por autoridades de salud del municipio de Yumbo de las mordeduras de gato a dos habitantes, realizándose la visita al lugar para efectuar la valoración de las personas y ser remitidas al hospital local, para su tratamiento post exposición contra la rabia; observación y colecta del animal muerto, sospechoso de rabia; toma de muestras de cerebro y envío al laboratorio de diagnóstico del Instituto Nacional de Salud en Bogotá, donde se confirma rabia, con la prueba IFD inmunofluorescencia directa para rabia y, posteriormente, la variante antigénica tres de murciélago hematófago *D. rotundus*.

El comité de zoonosis departamental, liderado por la Secretaría de Salud de la gobernación del Valle del Cauca, Secretaría de Salud del Municipio de Yumbo y el Instituto Colombiano Agropecuario seccional Valle del Cauca, convocan para la atención de la situación, donde se prioriza la vacunación de los humanos expuestos, la vacunación focal y peri focal de mascotas, de bovinos y de equinos, en la zona afectada, con radio de 7km.

Se hace un rastreo epidemiológico en veinte predios pecuarios de la zona, visitando y revisando animales de producción. Del total de las fincas visitadas, dos predios tenían ataques esporádicos de murciélagos hematófagos. Se realizó las capturas en abrigos, donde los propietarios informan su presencia. Se utilizaron mallas de niebla, GPS, guantes de sujeción, halotano, bolsa de tela, jaulas y pinzas de sujeción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontraron veinte predios pecuarios con una población de 208 bovinos, 17 equinos, 13 ovinos, dos predios con ataques ocasionales de murciélagos, donde los bovinos afectados no presentaron mordeduras frescas en el momento de la visita. Se recomendó utilizar pasta vampiricida en un futuro ataque y la vacunación inmediata, contra la rabia de los animales.

Después del rastreo epidemiológico, no se observaron casos nuevos de rabia en la zona. Las personas de la vereda denuncian la presencia de murciélagos. Se visitan los refugios y no se encuentran murciélagos hematófagos; se colectan ejemplares no hematófagos, en cuatro predios, para medir la actividad viral de la zona, incluida la escuela rural, que está ubicada a 100m del foco, donde permanecen murciélagos en el local, con un total de 27 ejemplares capturados: se colectaron 22 de la subfamilia *Carolliae* y 5 de la subfamilia *Stenodermatinae*; fueron enviados al laboratorio de zoonosis del ICA en Bogotá, resultando negativos a IFD inmunofluorescencia directa para rabia (Tabla 1).

La forma de contagio del virus de la rabia variante antigénica tres de murciélago hematófago al gato, se pudo dar por contacto directo en la zona boscosa, donde pernoctaba el felino y su estado de indefensión.

Los gatos permanecen, en su mayoría, en estado silvestre dentro y fuera del perímetro urbano, por lo que no es fácil llevar a cabo buen control de natalidad con las campañas de esterilización y la vacunación antirrábica en esta especie, así como la realización de un censo total de la población.

Las últimas coberturas vacunales en gatos, de acuerdo al Ministerio de Salud y Protección Social muestran, del 2010 al 2013, que son del 59, 70, 76 y 65, teniendo en cuenta que no existe un censo definido para esta especie, en la mayoría de los departamentos.

Agradecimientos: Andrés Osejo Barona, Epidemiólogo ICA –Valle y Cauca-; Pablo Arboleda Simmons, Médico Veterinario ICA –Valle-; Carlos Javier López, Médico Veterinario ICA –Valle-; Ángel Tabares, Técnico ICA –Valle- y Miembros del Comité de Zoonosis Gobernación del Valle del Cauca. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

Tabla 1. Captura de murciélagos en el municipio de Yumbo, Valle del Cauca.

Predio	Latitud	Longitud	Altitud msnm	Especie Murciélago	Resultado Rabia	Capturas
Germania	3°37'56.3514"	76°31'51.24"	1637	<i>Sturnia erythromos</i>	negativo	5
Escuela Chocho	3°37'23.5914"	76°31'2.999 4"	1616	<i>Carollia perspicillata</i>	negativo	7
Bodega Tolima	3°37'29.4594"	76°31'18.84"	1566	<i>C. perspicillata</i>	negativo	7
La Marranera	3°37'19.9914"	76°31'54.12"	1534	<i>C. perspicillata</i>	negativo	8
TOTAL						27

BIBLIOGRAFÍA

1. BEST, M.; GRAHAM, M.L.; LEITNER, R.; OUELLETTE, M.; UGWU, K. 2004. (Eds.). Laboratory Biosafety Guidelines (3rd ed). Canada: Public Health Agency of Canada. Disponible desde Internet en: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/rab-eng.php> (con acceso 17/10/2015).
2. BLECK, T.P. 2006. Rabies. In: Guerrant, R.L.; Walker, D.H.; Weller, P.F. (Eds.). Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens, and Practice (2nd ed.). Philadelphia, PA: Elsevier Churchill Livingstone. p.839-851.
3. BRASS, D.A. 1995. Rabies in bats: natural history and public health implications. *Epidemiol. Infect.* 114(3):522. Disponible desde Internet en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2271301/?page=1> (con acceso 16/08/2015).
4. BOFILL, P.; RAMIREZ, J.; MONTAÑEZ, A.; MARTINEZ, Q.; GONZALEZ, L.; FUSTES, E. 1988. Manual de enfermedades Infecciosas. Tomo I. La Habana: Ministerio de Educación Superior, Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. p.139-187.
5. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC-. 2011. Recovery of a patient from clinical rabies California. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2011, pp. 61-55. Disponible desde Internet en: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/wk/mm6104.pdf> (con acceso 22/09/2015).
6. DIETZSCHOLD, B.; LI, J.; FABER, M.; SCHNELL, M. 2008. Concepts in the pathogenesis of rabies. *Futur. Virol.* 3(5):481-490.
7. FLORES, C.R. 1978. La rabia, los murciélagos y el control de los hematófagos. *Ciencia Veterinaria.* 2:67. Disponible desde Internet en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol2/CVv2c2.pdf> (con acceso 10/04/2015).
8. GOMES, M.N.; UIEDA, W. 2004. Abrigos diurnos, composição de colônias, dimorfismo sexual e reprodução do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Bras. Zoologia* 21(3):629-638.
9. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO –ICA-. 2008. Rabia silvestre: grave y mortal enfermedad. 1^a. Ed. Bogotá: Produmedios. 32p.
10. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. 2014. Colombia completa siete años sin casos de rabia humana transmitida por perro. Disponible desde Internet en: <http://www.minsalud.gov.co/Paginas/Colombia-completa-siete-a%C3%B1os-sin-casos-de-rabia-humana-transmitida-por-perro.aspx> (con acceso 14/07/2015).
11. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL. 2010. Protocolo de vigilancia de rabia, Instituto Nacional de Salud. Disponible desde Internet en: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/Protocolo%20Rabia.pdf> (con acceso 14/010/2015).
12. NADIN-DAVIS, S.A. 2007. Molecular epidemiology. In: Jackson, A.C.; Wunner, W.H. (eds). Rabies. 2nd ed. San Diego: Elsevier. p.69-122.
13. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD –OPS-. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol II, Clamidas, Rickettsiosis y Virosis. 3^a. Ed. Washington D. C: OPS. 3 vol. Publicación Científica y Técnica No. 580. Disponible desde Internet en: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/710/9275319928.pdf?sequence=2> (con acceso 20/07/2015).
14. PAHO. 2007. Manual de normas y procedimientos para la vigilancia, prevención y el control de la rabia silvestre. Buenos Aires. Disponible desde Internet en: <http://www.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/cdmanualRabia/medidascontrolanimalgrosor.html> (con acceso 15/09/2015).
15. VILLA R., B. 1976. Biología de los murciélagos hematófagos. Instituto de Biología UNAM. México. p.94-99. Disponible desde Internet en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CV1v1c04.pdf> (con acceso 15/07/2015).

Recibido: Agosto 20 de 2015

Aceptado: Enero 6 de 2016

Cómo citar:

Castro Castro, F.F.; Mateus Rodríguez, M.P. 2016. Rabia en un gato doméstico (*Felis silvestris catus*) en el municipio de Yumbo, Valle del Cauca, Colombia. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 19(1): 243-246.

ÍNDICE 2015

Volumen 18, números 1-2

A

absorción de agua (WAI) 397,445,447,448,452
ácidos carboxy 342,343,345,347,348
Acinetobacter 475,478,480
adolescente 311,315,321
aerobios mesófilos 3,4,5,6,7,8,458,460
aflatoxinas 3,4,7
aflatoxins 4
agricultura de precisión 373
agricultura sustentable 329
agricultural soils 373
agroecología 329,330,331,332,333,334
agroecosistemas 329,332,333,334,479
agroecosystems 329
aguas residuales 13,14,15,16,17,18,69,70,78,495
alginato 182,359,360,361,432
alimentación en infantes 3
Allium ampeloprasum 101
almacenamiento de carbono atmosférico 475
almidón 138,181,182,183,184,185,189,191,192,438,445,
446,447,448,449,452,456,458,565
almidón de maíz 445,446,447,448
almidón de yuca 181,182,183,184,185,445,446,447,448
Amazonia colombiana 365,367
Ames test 14
amphibians 503,505,507,508
análisis clúster 525
análisis de correlación canónica 543
análisis de correspondencias múltiples 525,526
análisis termogravimétrico 425,426,428,432
antrópico 47,478
apparent electrical conductivity 373
área foliar 83,91,93,94,95,97,104,105,367,380,382,393,394,
395,396,397
aritméticas 553,554,555,557,559
arreglos agroforestales 365,366,367,368,369,370
arritmias cardiacas 301
athletes 321
atletas 321
atmospheric oscillations 543
auxinas 342,343,345,347,348,396

B

Bacillus 208,475,478,480
Bacillus cereus 63
Bacillus firmus 63
Bacillus mycoide 63

Bacillus pumilus 63
Bacillus sp. 207,210
Bacillus subtilis 63
Bacillus thuringiensis 59,64
Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* 63
bacterias heterotrofas 475,476,477,478,480
bacterias oligotróficas 475,476,477,478,480
Benzimidazol 259
betabloqueadores 301
biodegradabilidad de biorresiduos 485
biomasa 81,82,83,84,85,86,87,104,106,148,247,331,361,
367,369,393,394,395,396,397,398,417,476,485,487,490,
491,493
biopolímeros 242,259,260
biopolymer 259
biosólidos 69,70,71,72,73,74,75,76
bocadillo 435,436,437,439,440,441
Boltzmann Gibbs 301
bovinos 163,164,165,166,168,171,172,176,401,402,403,
404,405,409,410,411,413
Bradyrhizobium japonicum 60,359,360,361,362

C

caboximetilcelulosa 445
cacao 40,365,366,367,368
café 45,46,208,351,352,355,356,366,369,563
Calendula officinalis 119,122,123
calidad de vida 21,24,102,332,513
canopy 366
caña de azúcar 69,70,71,72,74,75,76,242
capacidad calorífica 425,426,428
caracterización reológica 465
Carbendazim® 359,360,361
carbono orgánico oxidable 342,343,345,347,348,375,486,
488
caucho 365,366,367,369,370
Caulobacter 475,477,480
cebolla puerro 101,102,103,104,105,106,107
celiac disease 445
celiaquía 445
Cerdocyon thous 503,504,507,508
cereales 4,5,6,59,62,207,217,218,220,373,446
cereals 59,373
Cerro de Juaica 127,129,133
ciencias ambientales 329,33
citoquininas 342,343,345,347,348,395
cítricos 339,340,347,436
citrus 181,251,254,339

climate variability 543
Clorotalonil 342,343,347,348
coeficiente Kappa 301,305,308
Colciencias 26,76,117,299,300,370,433,480,493,550,578,
580,582
colección de frijol andino 109
Coleoptera 127,128,130,351,352
Columba livia domestica 497,498
Columbiformes 497,498
comet assay 14
comportamiento empresarial 533
compostaje 207,208,210,212,213,217,218,221,222,223,
224,485,486,487,488,493
conductividad eléctrica aparente 373,374,375,382
conejos 147,148,149,150,151,152,153,410
consumidores de drogas 311
consumo de drogas 311,312,313,314,316
contexto escolar 553,554,555,557
control test 321
copoazú 365,367
correlación canónica 543,544,545,
cromatos de zinc 13,15
cromo 13,14,15,18
Curculionidae 131,132,134,351,352,356
curtición 13

D

dairy cattle 163,409
Daucus carota 81,82
deoxinivalenol 3,4,5,7
deportistas escolares 321,324,325
desarrollo rural 329,331,333,513,521,522
determinantes sociales de la salud 311
detoxificación de los alimentos 3
Didelphis marsupialis 503,504,507,508
difusividad 425,426,428,432,433
Dimetomorf 340,342,343,345,347,348
distribución espacial 365,368,369,374
d-limoneno 251,425,426,427,428,429,430,431,432,433
docencia básica y media 1
domestic pigeons 497
dosel 82,84,85,87,104,365,366,367,370,395,396,397,398
drogas ilícitas 311,314,316,
drug users 311
dry forest 503
dulce de piña 435,437

E

economía campesina 365,366,514,517,563
El Niño Oscilación Cuasibienal (QBO) 543,544
El Niño Oscilación del Atlántico Norte (NAO) 543,544
El Niño Oscilación Sur (ENSO) 543,544

elastic modulus 465
ELISA 163,164,165,166,167,409,410,411,412
embutido 190,455
encuestas nacionales de innovación 525,527
enfermedad crónica no transmisible (ECNT) 21,26
enfermedades zoonóticas 497
ensayo cometa 13,14,17
entalpia 426,445,447,448,449
enthalpy 257,445
entrenamiento deportivo 321,322,323,324,325
Environmental management 513
Epicrates cenchria 503,506
Escherichia coli 3,437,439,458,460,461
estrés hídrico 84,113,393
ethnomathematics 553
etnomatemáticas 553

F

Fenilpirrol 259,26
financiación de la investigación 299
finca "El Cuervo" 339, 340
fish industry 455
Fludioxonil® 359,360,361
food sovereignty 329
formación deportiva 321,322,324
fosetil 339,340,342,343,344,345,346,347,348
Fosetil aluminio 342,343,344,346,347,348
fósforo bioactivado 342,343,345,347,348
fungicidas 339,340,346,347,359,360,361
fungicidas peletizados 359
fungicidas 339,359

G

ganado de leche 163,402,404,409
gas de efecto invernadero 417
gestión ambiental 513
gestión de innovación 525
glass transition temperature 253,257,425
greenhouse gases 417

H

harina de arroz 445,446,447,448,449
harina integral de zapallo 137,138,139
heavy metals 14
hembras bovinas 176,401,402,403,404,405
Hevea brasiliensis 365,367,369
hidrocoloide 181,445,446,449,452
higo 435,436,437,438,439,441
hipoxia 393,394,395,396,397,398
Holter 301,303,305,306,307,308
hongos toxicogénicos 3
hydrocolloid 181,445

Hyphomicrobium 475,477,480
Hypothenemus hampei 62,351,352,353,355

I

Iguana iguana 503,506
illicit drugs 311
índice de solubilidad de agua (WSI) 445,447,448
índices macroclimáticos 543,544,550
Industria de bioinsumos 59,61
industria pesquera 455
industrias cárnica 455
infant food 4
Iodocitrato de cobre 342,343,345,348
isotermas de sorción 425,426,429
IV Juegos Deportivos Escolares Centroamericanos y del Caribe 321,322

K

Kinosternon scorpioides 503
Klebsiella 475,478,480

L

Lactobacillus 475,478,480
Lactobacillus acidophilus 63
land management 513
leguminosas taníferas 417,419,420,421
Leptodactylus bolivianus 503,505,506,508
Leptodeira septentrionalis 503,506
levaduras 3,4,5,6,7,8,62,63
Licenciatura en Ciencias Naturales y Educación Ambiental 1
Listeriosis 163,164,166,409,410,411,412,413,498

M

maíz 5,6,7,40,60,64,78,79,80,81,85,109,137,138,139,140,142,150,152,153,155,156,159,160,209,213,219,268,285,296,297,298,299,332,352,355,356,373,374,375,376,380,382,395,401,429,430,431,432,445,446,447,448,451,452,501,505,511,563,577
management innovation 525
manejo específico por sitio 373,374
marigold plants 119,123,124
marmolina 351,352,353,354,355,356
mastitis subclínica 409,411
material imputrescible 13
material putrescible 13
measuring innovation 525
meat industry 455
medición de innovación 525
mermeladas 435,436,439
metabolitos tóxicos 3
metales pesados 13,17,18,208,242,246

metano entérico 417,418,419,420,421
metodología de Superficie de Respuesta (MSR) 251,445,448
Metoprolol 301,302,303,305,306,308
metoxilo 426,435,438,441
micotoxinas 3,4,5,6,7,8,10,405
mineralización ósea 155,156,159,160
modelo de Maxwell 465,467,470,471
modelo rural 513
módulo elástico 465,469
mohos 3,4,5,6,7,8
multiple correspondence analyses 525

N

naranja 'Salustiana' 339,341,343,344,348
national surveys of innovation 525
natural rubber 366
Neospora caninum 401,402,403,404,405
neosporosis 401,402,403,404
número de hojas 93,94,95,395,396,398

O

Oomycetes 339
Opuntia ficus indica 435,436,437,438,440,441
ordenamiento agroambiental 513,514,518,521,522
oscilaciones atmosféricas 543
Oxyrhopus petola 503,506

P

pan libre de gluten 445,446,447,451,452
páramo de La Cortadera 475,476,477,478,479,480,481
Páramo de la Cortadera 475,476,477,478,479,480,481
pensamiento estratégico 534,535,536,539,540
Phaseolus vulgaris 109
Phenylpyrrole 259
Physalis peruviana 91
Phytophthora spp. 339,340,341,343,344,345,346,347,348
piña 435,436,437,439,440,441
plantaciones cítricas 339
plantas medicinales 39,40,42,43,44,46,47,48,49,50
plomo 13,18,208,218
pollitas comerciales 155
pollos de engorde 138,140,142,156,158
portainjerto Sunki 339,341,343,344,348
poscosecha 181,182,435
potato 217,261,262,385,386,387,388,389,390
precision agriculture 373
prickly pear 435,436
producción tubérculos 385
programa SPSS 321,322,376
propamocarb 339,340,342,343,344,345,346,347,348

propiedades reológicas 465,469,471
propiedades viscoelásticas 446,465,466
pruebas de control 321,322,323,324,325,326
Pseudoboaa neuwiedii 503,506
Pseudomonas 208,475,478,480
Pseudomona sp. 207,21
Pseudonoma fluoescens 63,361
public market 497,499,500,501
pudrición radical 339
pymes 525,526,527
pymes manufactureras 525,526,527,528,529,530,538

Q

queso doble crema artesanal 29,31,34,35

R

R12 Diacol Capiro 385
radiación fotosintéticamente activa 365,366,367
radiación fotosintéticamente activa absorbida 104
radiación fotosintéticamente activa interceptada (fPARi) 104, 366,370
radiación fotosintéticamente activa transmitida (fPARt) 365, 366,367,370
rainfall 121,198,385
residuos sólidos 207,208,217,218,224,228,485,486,493,
Rhinella marina 503,505,506,508
Rhodopseudomonas palustres 63
root rot 339
rural development 329,513
rural model 513

S

salchichas elaboradas con inclusión de quitosano 455
Salmonella typhimurium 13,14,16,18
sarcocystina 401,402,403,404,405
sausages 189,455
school sport 321
Scinax sp. 503,506
Senecio vulgaris 81,82
sensor de inducción electromagnética 373,376
sensory evaluation 455
servicios ambientales 475
shade 119,120,121,122,123,124,365
simulador forestal SEXi - FS 365,367
sistemas pastoriles 417,418,419,421
soberanía alimentaria 329,332
social determinants of health 311
Solanum tuberosum 385,476,477
sombra 119,209,365,367,369,370
sorption heat 425
sostenibilidad 329,330,331,332,333,334,517,572

soya 31,40,60,137,138,155,156,159,160,283,285,359,360, 361,446,447,448,452,475,477
sport training 321
Staphylococcus aureus 29,30,35,36,37,191,195,239,412
starch 181,189,445
stevia 393,394,395,396,397,398
Stevia rebaudiana 393,395,396,397,398
sustainable agriculture 329
sustancias extensoras 455

T

Tamandua mexicana 503,507,508
Tamarindus indica: 465
teenager 311
temperatura de transición vítrea 425,426,427,431,432
teoría agroecológica 329,331,333
test de Ames 13,15
test de trastornos relacionados con el consumo de alcohol (AUDIT) 311,314
Theobroma cacao 365,367,368
Theobroma grandiflorum 365,367
thermogravimetric analysis 425
Trachemys callisrostris 503
traditional sweet 436
Trichoderma 5,61,62,63,93,217,218,221,339,340,342,343, 344,345
Trichoderma harzianum 63,340,344,346,347
Trichoderma stromaticum 340
Trichoderma viride 61
tuber production 385,390

U

U.D.C.A 1,26,53,130,168,264,269,279,299,300,311,313, 317,552,
universidad colombiana 299,390
universities 311
urban environment 497,498,500

V

variabilidad climática 543
variables meteorológicas de superficie 543,544
viscoelastic properties 465
viscosidad compleja 465,466,467,469,470
vitamina 1 α -OH-D3 155,156,157,158,159,160
vitamina 25-OH-D3 155,156,157,158,159,160
wild fauna 503,504,505,506,507

Y

yield 69,70,81,82,83,91,109,120,122,137,373,385,386,387, 390,391,435,445

Z

zearalenona 3,4,5,7
zearalenone 4
zonas áridas 435
zonas homogéneas 373,374
zonas semiáridas 435
zoonotic diseases 497,498

El Consejo Editorial y el Comité Científico desean expresar sus agradecimientos a todas las personas que colaboraron en la evaluación de los artículos publicados en este fascículo. Nuestra gratitud a su invaluable gestión. En reconocimiento publicamos a continuación sus nombres:

- Ph.D. Angélica Santos Rabelo de Souza Bahia, U.E. de São Paulo, Brasil
Ph.D. Ronny Sobreira Barbosa, U.F de Piauí, Brasil
Ph.D. Fernando Vicente Barraza Álvarez, U. de Córdoba, Montería
M.V. Fernando Javier Beltrán, Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Buenos Aires, Argentina
Ph.D. Efraín Benavides Ortiz, U. de la Salle, Bogotá
M.Sc. Cintia Chagas Bernardo, U.F. de Goiás, Brasil
Ph.D. Carlos Blanco, Aphis, U.S D.A. Washington, EE.UU.
Ph.D. Alisson Carraro Borges, U.F. Viçosa, Brasil
M.Sc. Yeis Miguel Borré Ortiz, U. Libre, Seccional Barranquilla
M.Sc. Eduardo Cesar Brugnara, Epagri, Brasil
Ph.D. Rodrigo Orlando Campo Arana, U. de Córdoba, Montería
Ph.D. Milton César Costa Campos, U.F. do Amazonas, Brasil
Ph.D. José Régulo Cartagena Valenzuela, U.N. Medellín
Ph.D. Fanor Casierra-Posada, UPTC, Tunja
Ph.D. Leandro Dalcin Castilha, U.E. Maringá, Brasil
M.Sc. Arlex Chaves Guerrero, UIS, Bucaramang
M.Sc. Elizabeth Fajardo Ramos, U. del Tolima, Ibagué
M.Sc. Paulo César De Faria, U. do Vale do Paraíba, Brasil
Ph.D. Natalia Fuentes Molina, U. de la Guajira, Riohacha
Ph.D. Fabiola Bono Fukushima, U.F. do Paraná, Brasil
Ph.D. José Luis Gualdrón Duarte, UNAGA, Bogotá
Ph.D. Alfredo Jarma Orozco, U. de Córdoba, Montería
Ph.D. Cecilia Lara Mantilla, U. de Córdoba, Montería
Ph.D. Vera Akiko Maihara, IPEN, U.E. de São Paulo, Brasil
Ph.D. Diego Manyoma Velásquez, U. del Valle, Cali
Ph.D. Carlos Manrique Perdomo, U.N. Bogotá
Ph.D. Isabella V.F. Martins, U. F. do Espírito Santo, Brasil
Ph.D. Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura, U.F. de Goiás, Brasil
M.Sc. Antônio Dionísio Feitosa Noronha Filho, U.F. de Goiás, Brasil
Ph.D. Omar Ocampo Jiménez, UdeA, Medellín
Ph.D. Leonardo Luiz Okumura, U.F. Viçosa, Brasil
Ph.D. Reyner Pérez Campdesuñer, U. Tecnológica Equinoccial, Santo Domingo, Ecuador
Ph.D. Henrique Belmonte Petry, Epagri, Brasil
Ph.D. María Carolina Pire Sierra, U. Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela
Ph.D. Raúl Hernando Posada Almanza, U. de Boyacá, Tunja
Ph.D. Marcelo Giroto Rebelato, U. Estatal Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Brasil
Ph.D. Rafael Vilhena Reis Neto, U.E. de São Paulo, Brasil
Ph.D. Ricardo Pereira Ribeiro, U.E. Maringá, Brasil
Ph.D. Diego Rodrigo-Mocholi, U. de Ghent, Bélgica
Ph.D. Milton Rojas Gamarra, U. Técnica del Estado, Santiago, Chile
Ph.D. Julian Ruiz Sáenz, U. Cooperativa de Colombia, Bogotá
c. Ph.D. Tadeo Humberto Sanabria Artunduaga, Fundación Universitaria de América, Bogotá
c. Ph.D. Iván Andrés Sánchez, U. de Nariño, Pasto
Ph.D. Gilmar Schafer, U.F. do Rio Grande do Sul, Brasil
Ph.D. Angela B. Sifontes Palomo, Inst. Venezolano de Investigaciones Científicas, San Antonio de los Altos, Venezuela.

Ph.D. Luiz Antônio Franco da Silva, U.F. de Goiás, Brasil
Ph.D. Marcela Fernandes Silva, U.E. Maringá, Brasil
Ph.D. Francisco de Assis Leite Souza, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
c. Ph.D. Carolina Tamayo Osorio, U.E. de Campinas, Brasil
Ph.D. Ana María Vélez Arango, U. of Nebraska, Lincoln. EE.UU.

NORMAS PARA LA ELABORACIÓN DE ARTÍCULOS E INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

MISIÓN: La Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica tiene como propósito fomentar y difundir el conocimiento científico, a través de la publicación de resultados de las investigaciones llevadas a cabo por los docentes-investigadores de las diversas facultades de la Universidad y de los hallazgos proporcionados por otros investigadores de instituciones nacionales o internacionales e informar a la sociedad en general, sobre la gestión institucional en la docencia, la investigación, la proyección social, el bienestar social universitario y los aspectos administrativos. Es una revista de orden multidisciplinario, lo que le permite abarcar temáticas concernientes con Ciencias de la Salud, Ciencias del Sector Agropecuario, incluyendo Ciencias y Tecnología de Alimentos, Ciencias Biológicas, Ciencias Sociales Aplicadas, Ingenierías, Ciencias Exactas y de la Tierra y Ciencias Humanas. Participa de la iniciativa open access (acceso abierto), que busca suprimir las barreras de acceso a la literatura científica, facilitando su disponibilidad gratuita, por medio de la red Internet.

PÚBLICO OBJETIVO: Está dirigida, principalmente, a docentes, investigadores y profesionales en las diferentes áreas del conocimiento. Publica dos fascículos anuales, cuyo contenido comprende artículos científicos, artículos técnicos o de revisión y artículos de reflexión, evaluados por árbitros especialistas, tanto internos como externos a la Universidad y del ámbito nacional e internacional.

Para la publicación, se aceptan los siguientes tipos de artículos, en idiomas español e inglés:

1. **Artículos científicos y de desarrollo tecnológico:** Inéditos, basados en resultados originales, derivados de proyectos científicos o de desarrollo tecnológico finalizados.
2. **Artículos técnicos o de actualización o de revisión:** Estudios realizados para proporcionar una perspectiva general del estado de un tema específico de la ciencia y de la tecnología, de su evolución a través del tiempo y donde se señalan las perspectivas futuras. Los autores demostrarán autoría, conocimiento y dominio del tema, discutiendo los hallazgos de los autores citados, conjuntamente con los propios. Este artículo, se caracteriza por tener por lo menos 50 referencias bibliográficas; por fascículo, se publican máximo tres artículos de esta tipología.
3. **Artículos de reflexiones originales sobre un problema o tópico particular:** Documentos inéditos, que reflejan

los resultados de los estudios y el análisis sobre un problema teórico o práctico y que recurren a fuentes originales.

4. **Reporte de caso:** Texto que describe un caso específico, no reportado, de una situación particular encontrada en el quehacer profesional del autor. Incluye una breve introducción, en la que se indica el dónde, cómo y cuándo de la presentación del caso; el resultado, que corresponde a la descripción clara de la situación y una revisión de literatura comentada sobre casos análogos. Los reportes de caso pueden hacer referencia a: efectos adversos de medicamentos y de insumos agrícolas; ocurrencia no esperada de enfermedades o plagas; asociación imprevista entre síntomas y enfermedades; presentación, diagnóstico o manejo de problemas sanitarios nuevos o emergentes; eventos no esperados en tratamientos de animales o controles de plagas, entre otros.
5. **Nota Técnica:** corresponde a un reporte de un método, de una técnica o de un procedimiento nuevo, comparado con las técnicas previamente empleadas en investigaciones y mostrando resultados de estas evaluaciones, estadísticamente analizados. Incluye la discusión de las ventajas o las desventajas de la nueva tecnología.

Por fascículo, se reciben máximo dos artículos tipo 4 y 5. Los procesos de revisión, tanto para el Reporte de Caso como para la Nota Técnica serán los mismos que para los otros tres tipos de artículos, que acepta la revista.

Los manuscritos, elaborados en tercera persona, deben ser entregados al Editor de la Revista (Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, Calle 222 No. 55-37, Bogotá, D.C., rev.udca@udca.edu.co), en físico, en original y copia y en medio magnético; letra Arial 12, espacio entre caracteres normal, indicando el procesador de texto y fuente. Se exige tamaño carta, doble espacio entre líneas y entre párrafos, exceptuando Resumen, Summary y Bibliografía; márgenes 4x3x3x3cm (izquierda, derecha, arriba, abajo, respectivamente); la sangría y el espaciado -en Diseño de página, sección párrafo-, todos con valor cero (0). Los Reportes de Caso y la Nota Técnica no presentarán ni Resumen ni Summary, pero sí los demás capítulos; el número de páginas permitido es de máximo 12, con dos ilustraciones únicamente. Los escritos correspondientes a los tipos 1, 2 y 3 no deben exceder de 25 páginas, incluyendo bibliografía, tablas, figuras e imágenes. Se recomienda no exceder de 30 las referencias bibliográficas actualizadas en los artículos tipo 1 y 3. Para

artículos técnicos o de revisión, se aceptan, excepcionalmente, hasta 30 páginas. El número máximo del conjunto de ilustraciones (tablas, cuadros, figuras, gráficas, imágenes), para los manuscritos de tipología 1, 2 y 3 es de seis; cada una se coloca en página aparte, al final del texto, después de la Bibliografía.

La estructura del manuscrito debe seguir los pasos del método científico, es decir, la organización en: **TÍTULO PRINCIPAL-**. En mayúsculas, conciso y sin abreviaturas, sin exceder los 140 caracteres, incluyendo espacios, signos de puntuación y nombres científicos; además, se debe colocar el título en idioma inglés; los autores deben sugerir un **TÍTULO BREVE-**, de máximo 40 caracteres, incluyendo los espacios, que será incluido en las páginas impares de la revista, junto con el apellido del (los) autor (es); **Autores-**. Se indica el nombre y apellido(s), en orden de contribución al artículo, indicando el título académico y una única filiación institucional, la dirección de correspondencia completa, que comprenda la ciudad, el departamento y el país y la dirección electrónica institucional, preferiblemente; estos datos, se ubican debajo de los títulos (español e inglés); **RESUMEN-**. Un máximo de 250 palabras, en un sólo párrafo, a espacio sencillo; debe ser claro y conciso, despertar el interés del lector y dar información sobre el problema, la justificación del estudio, los objetivos, la metodología y los resultados obtenidos; **PALABRAS CLAVE-**. Máximo cinco y se recomienda utilizar palabras clave normalizadas, incluidas en descriptores, reseñadas en, por ejemplo, www.nlm.nih.gov/mesh/, www.decs.bvs.br, CAB Thesaurus, lo que permitirá mayor visibilidad del artículo y, al final de ellas, indicar de qué Thesaurus fueron seleccionadas; **SUMMARY-**. Traducción del resumen en idioma inglés. **KEY WORDS-**. Traducción de las palabras clave al idioma inglés.

El texto contiene, fundamentalmente, los siguientes capítulos: **INTRODUCCIÓN**, que comprende la revisión de literatura pertinente; **MATERIALES Y MÉTODOS**, **RESULTADOS Y DISCUSIÓN** y, finalmente, **BIBLIOGRAFÍA**. Las conclusiones y, si se justifica recomendaciones, se incluyen bajo resultados y discusión. Si se decide dar **Agradecimientos**, se colocan antes de la bibliografía. Los autores deben incluir, además: Conflictos de intereses (subtítulo), por ejemplo: “El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados” y Financiación (subtítulo), es decir, destacar la fuente, como por ejemplo: “Este estudio

fue financiado por Colciencias y la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A)”.

Las citas bibliográficas en el texto deben contener los apellidos del autor y entre paréntesis al año de publicación; cuando los autores son más de dos, se utiliza la expresión en latín *et al.* en cursiva. Si la cita se coloca al final de una frase, tanto el autor como el año de publicación, van entre paréntesis. La **BIBLIOGRAFÍA** citada, se coloca en orden alfabético y numerado, evitando numeración automática; la segunda línea de cada referencia se inicia a 1,5cm. **Nota:** Los resúmenes de congresos y comunicaciones personales que reposan en archivos de oficinas, así como los trabajos de grado, de tesis y de disertaciones doctorales no se aceptan como referencias. Las referencias de un artículo publicado en una revista deben contener: autor(es) en mayúscula, año de publicación, título del artículo, nombre de la revista, país de origen de la revista, siempre y cuando no se incluya en el título. Volumen, número y páginas (p.). Ejemplo: CABEZAS, M. 1998. Papel de calcio en la relación fuente demanda de asimilados en la respuesta de las plantas al stress. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. (Colombia). 1(1):38-48. La referencia de un libro debe contener: Autor(es) en mayúscula, año de publicación. Título, Editorial. Lugar de impresión. Páginas. Ejemplo: MARGALEFF, R. 1988. Ecología. Ed. Omega (España). 951p. Al citar autores que participaron con un capítulo en un libro, se procede de la siguiente manera: Autor(es) del capítulo. Año de publicación. Título del capítulo. Editores del Libro. Título del libro. Editorial. Lugar de impresión. Páginas del capítulo. Ejemplo: ARÉVALO, J. 1999. Organoclorados en la agricultura. En: Posada, J.G.; Bermúdez, F.G. (eds). Actualidad y futuro de los pesticidas de uso agrícola. Ed. McGraw Hill (New York). p.28-53. Para citas de recursos electrónicos (revistas), se debe consultar: ISO.1998. International Standard ISO 690-2. Information and Documentation – Bibliographic References – Part 2: Electronic documents or parts thereof. International Organization for Standardization. Ottawa. Canada. Disponible desde Internet en: <http://www.nlc-bnc.ca/iso/tc46sc9/standard/690-2e.htm> [con acceso el 01/01/1999]. En general, se sigue la norma de citación de un artículo tomado de una revista seriada, seguido de: Disponible desde Internet en: [http://\(con acceso fecha exacta consulta\)](http://(con acceso fecha exacta consulta)).

Los artículos que cumplen estas condiciones, se someten a la evaluación, tanto del Comité Editorial de la Revista como de referís externos, anónimos, nacionales e internacionales, especialistas en el tópico tratado.

NORMAS PARA A ELABORAÇÃO DE ARTIGOS E INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

MISIÓN: A Revista U.D.C.A Actualidade & Divulgação Científica tem como objetivo principal divulgar o conhecimento científico, através da publicação de resultados das pesquisas desenvolvidas por professores- pesquisadores dos diferentes departamentos da universidade de pesquisadores de outros organismos nacionais e internacionais, bem como a de atualizar à comunidade universitária e em general à sociedade, sobre a gestão institucional na docência, a investigação, a extensão, bem-estar social universitário e aspectos administrativos. É uma revista de ordem multidisciplinar, o que lhe permite publicar temáticas relacionadas com o setor saúde, o setor agropecuário, o setor social-humanístico, o setor econômico e todos os estudos básicos afins. Participa da iniciativa open access (acesso aberto), que procura suprimir as barreiras de acesso à literatura científica, facilitando sua disponibilidade gratuita através da rede Internet.

PÚBLICO OBJETIVO: Está dirigida, principalmente, a professores, pesquisadores e profissionais, nas diferentes áreas do conhecimento. Publica dois volumes anuais, cujo conteúdo compreende artigos técnicos ou de revisão, artigos de reflexão e artigos científicos, avaliados por especialistas, tanto internos como externos à Universidade e do âmbito nacional e internacional.

Para a publicação, aceitam-se os seguintes tipos de artigos:

1. **Artigos científicos e de desenvolvimento tecnológico:** inéditos, baseados em resultados originais derivados de projetos científicos e/ou desenvolvimento tecnológico concluídos.
2. **Artigos técnicos ou de atualização ou de revisão:** estudos realizados para proporcionar uma perspectiva geral do estado de um tema específico da ciência e da tecnologia, da sua evolução através do tempo e onde se assinalam as perspectivas futuras. Os autores demonstrarão autoria, conhecimento e domínio do tema, discutindo os descobrimentos dos autores citados, conjuntamente com os próprios. Este artigo, caracteriza-se por ter pelo menos 50 referências bibliográficas. Por fascículo, publicam-se máximo três artigos deste tipo.
3. **Artigos de reflexões originais sobre um problema ou tópico particular:** documentos inéditos que refletem os resultados dos estudos e a análise sobre um problematológico ou prático e que recorrem a fontes originais.

4. **Reporte:** texto que descreve um caso específico, não reportado, de uma situação particular encontrada no dia a dia profissional do autor. Inclui uma breve introdução, na que se indica aonde, como e quando se apresentou o caso, o resultado, que corresponde à descrição clara da situação, junto com uma revisão de literatura comentada sobre casos idênticos. Podem fazer referência a: efeitos adversos de medicamentos e de insumos agrícolas, ocorrência não esperada de doenças ou pragas, associação imprevista entre sintomas e doenças, apresentação, diagnóstico e/ou manejo de problemas sanitários novos ou emergentes, episódios não esperados em tratamentos de animais ou controles de pragas, entre outros.
5. **Nota Técnica:** corresponde a um reporte de um método, de uma técnica ou de um procedimento novo, comparado com as técnicas previamente empregadas em pesquisas, e mostrando resultados destas avaliações, estatisticamente analisados. Inclui a discussão das vantagens ou desvantagens da nova tecnologia.

Por fascículo se recebem máximo dois artigos tipo 4 e 5. Os procedimentos de revisão, tanto para o Reporte como para a Nota Técnica serão os mesmos que para os outros três tipos de artigos que recebe a revista.

Os manuscritos elaborados na terceira pessoa devem ser entregados em físico, em original e cópia e em meio digital; letra Arial 12, espaço entre caracteres normal, indicando o processador de texto e fonte à Editor da Revista (Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, Calle 222 No. 55-37, Bogotá, D.C., rev.udca@udca.edu.co). Exige-se tamanho carta, espaço duplo, excetuado Resumo, Summary e Bibliografía; margens 4x3x3x3cm (esquerda, direita, acima, abaixo, respectivamente); a sangria e o espaçamento (em Desenho de página, seção parágrafo, todos com valor zero) (0). Reportes não apresentarão nem resumo nem summary, mas sim os demais capítulos; o número de páginas permitido é de máximo 12 com máximo duas ilustrações, tanto para um Reporte como para a Nota Técnica, que sim contém todos os capítulos de um artigo. O escrito, tipo 1, 2 y 3, não deve exceder de 25 páginas, incluindo bibliografía, tabelas, figuras e imagens. Para artigos técnicos ou de revisão, aceitam-se, excepcionalmente, até 30 páginas. O número máximo do conjunto de tabelas, de figuras e de imagens para artigos tipo 1, 2 y 3 é de seis.

A estrutura do texto deve seguir os passos do método científico, isto é, a organização em **TÍTULO PRINCIPAL**: em maiúsculas, preciso e sem abreviaturas, sem exceder os 140 caracteres, incluindo espaços, sinais de pontuação e nomes científicos; ademais, deve-se colocar o título em idioma inglês. Os autores devem sugerir um **TÍTULO BREVE**, de máximo 40 caracteres, incluindo os espaços, que será incluso nas páginas ímpares da revista, junto com o sobrenome do (os) autor (é). **AUTORES**: indica-se o nome e somente o primeiro sobrenome, em ordem de contribuição ao artigo, indicando o título acadêmico e uma só instituição à qual pertencem, a direção de correspondência completa, que compreenda a cidade, o estado ou departamento e o país, e a direção eletrônica institucional, preferivelmente. Estes dados, localizam-se embaixo dos títulos (espanhol e inglês). **RESUMO**: um máximo de 250 palavras, num só parágrafo, a espaço simples; deve ser claro e preciso, lembrar o interesse do leitor e dar informação sobre a justificativa, os objetivos, a metodologia e os resultados obtidos.

PALAVRAS CHAVES: máximo cinco. Recomenda-se utilizar palavras chaves normatizadas, incluídas em descritores, descritas em, por exemplo, www.nlm.nih.gov/mesh/, www.decs.bvs.br, CAB Thesaurus; isto, permitirá maior visibilidade do artigo e ao final delas, indicar de que Thesaurus foram selecionadas. **SUMMARY**: Tradução do resumo em idioma inglês. **KEY WORDS**: Tradução das palavras chaves ao idioma inglês

O texto contém, fundamentalmente, os seguintes capítulos: **INTRODUÇÃO**, que compreende a revisão de literatura relacionada, **MATERIAIS E MÉTODOS**, **RESULTADOS E DISCUSSÃO** e, finalmente, **BIBLIOGRAFIA**. As conclusões e, se justifica, recomendações, incluem-se sob resultados e discussão. Se se decide dar **AGRADECIMENTOS**, colocam-se antes da bibliografia. Os autores devem incluir ademais: Conflitos de interesses (subtítulo), por exemplo: "O manuscrito foi preparado e revisado com a participação de todos os autores, quem declaramos que não existe nenhum conflito de interesses que ponha em risco a validade dos resultados apresentados" e Financiamento (subtítulo), isto é, destacar a fonte, como por exemplo: "Este estudo foi financiado por Colciencias e a Universidade de Ciências Aplicadas e Ambientais U.D.C.A."

As citações bibliográficas no texto devem conter os sobrenomes do autor e entre parêntese o ano de publicação; quando os autores são mais de dois, utiliza-se a expressão em latim et al. Se a citação se coloca ao final de uma frase, tanto o autor como o ano de publicação, vão entre parêntese. A **BIBLIOGRAFIA** citada se coloca em ordem alfabética e numerada. **Nota**: os resumos de congressos e comunicações pessoais que descansam em arquivos de escritórios, bem como os trabalhos de graduação e de tese, não se aceitam como referências.. As referências de um artigo publicado numa revista devem conter: Autor (es) em maiúscula, ano de publicação, título do artigo, nome da revista, país de origem da revista, desde que não esteja incluso no título. Volume, número e páginas (p.). Exemplo: CABEZAS G., M. 1998. Papel do cálcio na relação fonte demanda de assimilados na resposta das plantas ao stress. Revista U.D.C.A Atualidade & Divulgação Científica (Colômbia) 1(1):38-48. A referência de um livro deve incluir: Autor (es) em maiúscula, ano de publicação. Título, Editorial. Lugar de impressão. Páginas. Exemplo: MARGALEFF, R. 1988. Ecología. Edit. Omega (Espanha). 951p. Se citam autores que participaram com um capítulo num livro, procede-se da seguinte maneira: Autor(es) do capítulo. Ano de publicação. Título do capítulo. Editores do Livro. Título do livro. Editorial. Lugar de impressão. Páginas do capítulo. Exemplo: ARÉVALO, J. 1999. Organoclorados na agricultura. Em: Posado J. G.; Bermúdez, F.G. eds. Atualidade e futuro dos pesticidas de uso agrícola. Edit. McGraw Hill (New York). p.28-53. Para citações de recursos eletrônicos (revistas), deve-se conferir: ISO.1998. International Standard ISO 690-2. Information and Documentation – Bibliographic References – Part 2: Electronic documents or parts thereof. International Organization for Standardization. Ottawa. Canada. Disponível desde Internet em <http://www.nlc-bnc.ca/iso/tc46sc9/standard/690-2e.htm> [com acesso 01/01/1999] ou <http://www.entomología.rediris.é/aracnet/num1/estilo.htm>. Em general se segue a norma de citação de um artigo tomado de uma revista seriada, seguido de: Disponível desde Internet em <http://> (com acesso data exata consulta).

Os artigos que cumprem estas condições, submetem-se à avaliação, tanto do Comitê Editorial da Revista como de árbitros externos, anônimos, especialistas no tópico tratado.

GUIDELINES FOR MANUSCRIPT PREPARATION AND INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

MISSION: The main purpose of the U.D.C.A Actuality & Divulcation Journal is to promote scientific knowledge through the publication of research results, achieved by the academic personnel of the diverse faculties of the University as well as the discoveries made by researchers of other national and international institutions, and to inform the society about institutional education management, research, social impact, the university well-being and its administrative aspects. This is a multi-disciplinary journal that allows the inclusion of topics related mainly to the health sciences, agropecuarian sciences, including food technologies, biological sciences, the social-humanistic sector and economics. This is an open-access initiative, seeking to abolish the access barriers to scientific literature, permitting its free availability through Internet.

TARGET PUBLIC: It is geared towards professors, researchers and professionals in the diverse areas of knowledge. It is published twice a year; containing technical or review papers, original papers of reflection and scientific papers, which are peer-reviewed by external, national or foreign referees, specialist in the treated topic.

The journal accepts for publication three types of manuscripts:

1. **Scientific and technological developmental papers:** unpublished, based on original results derived from scientific projects and/or finished research regarding a technological development.
2. **Technical, actualization or review papers:** studies undertaken to provide a general perspective of a specific topic in science or technology, its evolution through time, pointing out the future perspectives. Authors will demonstrate authority, knowledge and dominion of the topic, discussing the findings of the cited authors, together with proper results. This paper is characterized by containing at least 50 bibliographical references. Per issue a maximum of three review papers are published.
3. **Reflection about a problem or particular topic:** unpublished documents which reflect results of studies and the analysis of a theoretical or practical problem and relay on original sources.
4. **Case report:** text that describes a specific, non-reported case, of a particular situation found during the professional work of the author. It includes a brief

introduction, presenting the situation; the result corresponds to a clear description of the situation, together with an annotated literature review of analogous cases. Case reports can make reference to the adverse effects of drugs, agrochemicals, unexpected occurrence of diseases or pests, unforeseeable association between symptoms and diseases, presentation, diagnosis and/or management of new or emergent phytosanitary problems, and unexpected events in animal treatments, or pest control, among others.

5. **Technical Note:** it is a report of a method, a technique, or a new procedure, that is compared with previously employed research techniques, showing the results that have been statistically analyzed. It includes a discussion of the pros and cons of the new technique.

For every issue, only two articles type 4 and 5 are accepted. The review process for Case Reports and Technical Notes is the same as for the other three types of articles that the journal receives.

Manuscripts, written using the third-person, are submitted in a printed version, original and copy and a magnetic form; Arial 12, normal space between characters, mentioning its text processor (Word), to the editor (Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, Calle 222 No. 55-37, Bogotá, DC.; rev.udca@udca.edu.co). Page size is 21.59 X 27.94cm, double spaced, excepting resúmenes, summary and bibliography. Margins are 4x3x3x3cm (left, right, top, bottom, respectively); paragraph indents and spaces (for page design, section paragraph, all should have a zero value). Case reports won't include summary nor resúmenes, but they include the rest of the chapters. The maximum number of pages is 12, with a maximum of two illustrations. This applies to case reports and technical notes, the latter once do include all the parts of an article. The manuscripts type 1, 2 and 3, including bibliography, tables, graphs and photos, should not exceed 25 pages. It is recommended not to exceed 30 actualized references for manuscripts type 1 and 3. For technical, actualization or review papers, under an exception, up to 30 pages can be accepted. The maximum number of tables, graphs and photos permitted for manuscripts type 1, 2 and 3, is six; each organized in a separate page after the bibliography.

The manuscript structure should follow the steps of the scientific method, organized as: **MAIN TITLE:** in capital letters, concise without abbreviations, not exceeding 140

characters, including spaces, puncture signs and scientific names. Furthermore, the title in English is mandatory. Authors should suggest a **SHORT TITLE** of maximum 40 characters, including spaces, which will be included within the odd pages of the journal, together with the last name(s) of the author(s). **AUTHORS:** the name and only the first last name is indicated in order of contribution, also the academic title and only one institutional affiliation, the complete address, which comprises city, state or department and country and the e-mail, preferentially the institutional one. This information is to be placed below the titles (Spanish and English). **SUMMARY:** Maximum 250 words, one paragraph, single-spaced. It must be clear and concise, written to capture the reader's interest and presenting information about the justification, objectives, methodology and results obtained. **KEY WORDS:** maximum of five. The use of normalized key words, included in descriptors, as for example in www.nlm.nih.gov/mesh/, www.decs.bvs.br, CAB Thesaurus, is recommended; this allows a higher visibility of the articles; next to them the selected Thesaurus has to be mentioned. **RESUMEN:** translation of summary. **PALABRAS CLAVE:** translation of key words.

Basically the manuscript should include the following chapters: **INTRODUCTION**, which includes the literature revision and antecedents, **MATERIALS AND METHODS**, **RESULTS AND DISCUSSION**, and finally **BIBLIOGRAPHY**. Conclusions and, if relevant, recommendations, form part of results and discussion. If **Acknowledgments** are given, they are posted below results and discussion. Authors have to include the statement of Conflicts of interest (subtitle), for example: "The manuscript was prepared and revised by all authors, who declare the absence of any conflict which can put the validity of the presented results in risk", if necessary, and Finantial support (subtitle), which means to give credit, as for example: "This study was financed by Colciencias and the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A".

Cited references: citations in the text should be by last name of the author(s), followed by the publication year within

parenthesis. When there are more than two authors, the Latin expression et al. is employed. If the reference is mentioned at the end of a sentence, both, author(s) and year are placed in parenthesis, separated by a coma. In the **BIBLIOGRAPHY** the references are numbered and listed alphabetically by author. **Note:** summaries presented at scientific meetings and personal communications, archived in offices, as well as thesis are not accepted as references. Reference of a cited article published in a journal should contain: author(s) in capital letters, publication year, title of the article, journal name, country of journal's origin, if not included in the journals name. Volume, number and pages. Example: CABEZAS G., M. 1998. Papel del calcio en la relación fuente demanda de asimilados en la respuesta de las plantas al stress. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. (Colombia). 1(1):38-48. Reference of a book has to include: Author(s) in capital letters, publication year, title, editorial, place of impression and pages. Example: MARGALEFF, R. 1988. Ecología. Ed. Omega (España). 951p. If authors of a chapter published in a book are cited, report as follows: Author(s) of the chapter. Publication year. Title of the chapter. Editors of the book. Title of the book. Editorial. Place of impression. Pages of the chapter. Example: ARÉVALO, J. 1999. Organoclorados en la agricultura. En: Posada, J.G.; Bermúdez, F.G. eds. Actualidad y futuro de los pesticidas de uso agrícola. Ed. McGraw Hill (New Cork), p.28-53. For references of electronic sources consult: ISO. 1998. INTERNACIONAL Standard ISO 690-2. Information and Documentation – Bibliographic References – Part 2: Electronic documents of parts thereof. International Organization for Standardization. Ottawa. Canada. Available from Internet at: <http://www.nlc-bnc.ca/iso/tc46sc9/standard/690-2e.htm> [accessed 01/01/1999] or <http://www.entomologia.rediris.es/aracnet/num1/estilo.htm>. In general, the citation is made in the same manner as with journal article, followed by: Available from Internet in: <http://> (accessed exact date).

Manuscripts which fulfill these conditions are submitted to the evaluation of the journals editorial committee and reviewed by external referees, anonymous, specialist in the treated topic.

REVISTA

U.D.C.A

ACTUALIDAD & DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

Procedimiento para pedido: Comunicarse con la Editora de la Revista, teléfono: 6688400 ext. 168 – 177 y solicitar remisión del ejemplar requerido. Una vez se registren los datos de envío, debe hacer la consignación respectiva. A vuelta de correo certificado, le llegará el pedido.

Cupón de Suscripción (diligenciar con letra legible)

Nombres y Apellidos: _____

Institución: _____

Dirección: _____

Teléfonos: _____ Ciudad: _____

País: _____

Valor suscripción:

NÚMERO	AÑO	PRECIO
1	2015	\$30.000
2	2015	\$30.000
1	2016	\$35.000

Forma de pago: Consignar a nombre de U.D.C.A, Cuenta Nacional Banco de Bogotá No. 08500697-1, el valor respectivo y enviar comprobante de consignación escaneado, al correo electrónico de la revista, anexando cupón de suscripción diligenciado. Mayores informes o reclamaciones en el teléfono (57-1) 6684700 ext. 177 - 168 o rev.udca@udca.edu.co.

Disposición para canje: Solicitar directamente a la Biblioteca – SIDRE, con el Licenciado Rodrigo Gómez Fernández – Director, al teléfono 6684700 ext. 126 o al correo electrónico: bibliote@udca.edu.co.

Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A
Calle 222 No. 55-30, Bogotá, D.C. – Colombia
P.B.X.: 6684700

www.udca.edu.co



Confía en 4-72, el servicio de envíos de Colombia

Línea de atención al cliente:
(57 - 1) 472 2000 en Bogotá
01 8000 111 210 a nivel Nacional

.....

www.4-72.com.co